

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

Andressa de Lurdes Telma

Ação de óleos essenciais de plantas: inibição do crescimento micelial e germinação de escleródios do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary.

Curitibanos

2022

Andressa de Lurdes Telma

Ação de óleos essenciais de plantas: inibição do crescimento micelial e germinação de escleródios do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary.

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em Agronomia do Centro de Ciências Rurais, da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Terumi Itako.
Coorientador: Prof. Dr. João B. Tolentino Jr.

Curitibanos

2022

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

Telma, Andressa de Lurdes

Ação de óleos essenciais de plantas: inibição do crescimento micelial e germinação de escleródios do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. / Andressa de Lurdes Telma ; orientador, Adriana Terumi Itako, coorientador, João Batista Tolentino Júnior, 2022.

62 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Curitibanos, Graduação em Agronomia, Curitibanos, 2022.

Inclui referências.

1. Agronomia. 2. Controle Alternativo. 3. Mofo Branco. 4. Óleos Essenciais. I. Itako, Adriana Terumi. II. Tolentino Júnior, João Batista . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Agronomia. IV. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
Coordenação do Curso de Graduação em Agronomia
Rodovia Ulysses Gaboardi km3
CP: 101 CEP: 89520-000 - Curitibanos - SC
TELEFONE (048) 3721-4174 E-mail: agronomia.cbs@contato.ufsc.br.

ANDRESSA DE LURDES TELMA

Ação de óleos essenciais de plantas: inibição do crescimento micelial e germinação de escleródios do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary.

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

Curitibanos, 10 de novembro de 2022.



Documento assinado digitalmente
Douglas Adams Weiler
Data: 28/11/2022 11:36:36-0300
CPF: ***.111.820-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. Douglas Adams Weiler
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:



Documento assinado digitalmente
Adriana Terumi Itako
Data: 28/11/2022 10:41:57-0300
CPF: ***.130.099-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

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



Documento assinado digitalmente
Lirio Luiz Dal Vesco
Data: 28/11/2022 10:53:52-0300
CPF: ***.824.919-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. Lirio Luiz Dal Vesco
Avaliador
Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente
DANIELLE CRISTINA ORTIZ
Data: 28/11/2022 11:24:42-0300
CPF: ***.345.749-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Ma. Danielle Cristina Ortiz
Avaliadora
Universidade do Estado de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado à minha mãe Leni, e aos meus amados orientadores, Adriana e João.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus e a intercessão de Nossa Senhora de Lourdes e Nossa Senhora Aparecida, o qual recorri em todos os momentos difíceis da minha vida.

Minha mãe Leni Telma, pelo amor, carinho, compreensão e por sempre apoiar e incentivar os meus sonhos.

Meu pai Josnei Telma (*in memorian*), por ser a principal inspiração do caminho que decidi seguir, e por ainda fazer tanto por mim mesmo não estando aqui fisicamente.

Meu namorado Leonardo Nentwig, por todo amor, carinho, companheirismo e por sempre acreditar no meu potencial.

Minha tia Maria Inês Senn e prima Vanessa Carvalho (Dadá), por sempre me apoiarem nos meus sonhos e decisões.

Minha amada orientadora Profa. Dra Adriana Itako, por todo carinho, amizade, compreensão, ensinamentos e ajuda para realizar o presente trabalho, e por sempre acreditar em mim e ser como uma segunda mãe.

Meu amado orientador Prof. Dr. João Tolentino, pela amizade, companheirismo, por me deixar ganhar nos games, e por toda ajuda nos experimentos como também na análise estatística do trabalho.

A todos meus amigos, em especial a Aline Balão, Alysson Dalmas, Bruna Pereira, Caroline Gruber, Dalila Ascari, Nicolay Vargas e Sandy Dalla Rosa. Obrigada por estarem comigo nos momentos de alegria e tristeza, vocês são a família que a vida me permitiu escolher.

A todos os professores, por todos os ensinamentos adquiridos durante a graduação.

A toda equipe do Grupo de Estudos em Fitopatologia e Análise de Imagens (GEFAI), técnicos e servidores, pelo auxílio na realização do presente trabalho.

RESUMO

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* é causador da doença popularmente conhecida como mofo branco que afeta cerca de 650 espécies de plantas. As plantas, de modo geral, apresentam em sua composição metabólitos secundários, denominados de biocompostos que atuam na sua proteção. Os óleos essenciais apresentam característica lipofílica, o que permite maior permeabilidade na membrana celular, maior seletividade, são biodegradáveis e apresentam compostos com inúmeros modos de ação. Com isso, o presente trabalho tem como objetivo, avaliar os óleos essenciais das plantas de alho (*Allium sativum*), cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), lavanda (*Lavandula angustifolia*) e melaleuca (*Melaleuca* spp.) sobre a inibição do crescimento micelial e germinação dos escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. Para avaliar o potencial de inibição de crescimento micelial, foi utilizado alíquotas do óleo essencial de alho (0, 50, 150 e 300 ppm), cravo-da-índia (0, 150, 300 e 500 ppm), lavanda e melaleuca (0; 250, 500 e 1.000 ppm) que foram adicionadas em meio fundente de BDA autoclavado, acrescido de antibiótico (Estreptomicina e Penicillina) 500 mg/L⁻¹, Tween20® a 0,5 %. Posteriormente foi adicionado um disco de micélio do patógeno de 5 mm de diâmetro no centro das placas. Os dados foram avaliados utilizando análise de regressão, a 5% de significância pelo software R. O potencial inibitório da germinação dos escleródios foi avaliado através do método de imersão e por meio da volatilização dos escleródios nos óleos essenciais. No ensaio de imersão, foram utilizadas as concentrações de 2.000 e 5.000 ppm de cada óleo essencial em alíquotas de 4 mL, juntamente com água e Tween20®, o qual foi depositado em meio AA (ágar-água) já solidificado, e posterior adição de cinco escleródios de forma equidistante. O efeito da volatilização foi avaliado na concentração de 100 µL de cada óleo essencial, com deposição em um chumaço de algodão fixado na tampa da placa de Petri com meio AA (ágar-água). Posteriormente efetuou-se a deposição de cinco escleródios de forma equidistante. O parâmetro de avaliação foi a ocorrência ou não da germinação dos escleródios. Os dados foram submetidos ao Teste G-rho de Harrington e Fleming (1982) e às curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier, no software R. Os tratamentos que não apresentaram germinação foram submetidos ao Teste de Trifenil Cloreto de Tetrazólio (TCT), com finalidade de avaliar a viabilidade dos escleródios. O ensaio de crescimento micelial resultou na inibição total em todas as concentrações com alho, lavanda e melaleuca com uso de 1000 ppm. O tratamento com cravo-da-índia apresentou crescimento nas diferentes concentrações. A imersão dos escleródios inibiu a germinação em 100% no tratamento com alho na concentração de 2000 ppm e 5000 ppm e de cravo-da-índia em 5000 ppm. O efeito da volatilização impediu a germinação dos escleródios dos tratamentos de alho, cravo-da-índia e melaleuca. Os escleródios não germinados apresentaram viabilidade parcial (60%), quando submetidos ao TCT, observados no tratamento de imersão com óleo essencial de alho (2000 ppm). Os resultados do presente trabalho, constatarem o potencial antifúngico dos óleos essenciais como forma de controle alternativo *in vitro* do patógeno *S. sclerotiorum*.

Palavras-chave: Controle alternativo; Mofo branco; Óleos essenciais.

ABSTRACT

The fungus *Sclerotinia sclerotiorum* causes the disease popularly known as white mold that affects about 650 species of plants. Plants, in general, have secondary metabolites in their composition, called biocompounds that act in their protection. Essential oils have a lipophilic characteristic, which allows greater permeability in the cell membrane, greater selectivity, they are biodegradable and contain compounds with numerous modes of action. Thus, the present work aims to evaluate the essential oils of garlic (*Allium sativum*), clove (*Syzygium aromaticum*), lavender (*Lavandula angustifolia*) and melaleuca (*Melaleuca spp.*) plants on growth inhibition. mycelial growth and germination of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia. To evaluate the mycelial growth inhibition potential, aliquots of garlic essential oil (0, 50, 150 and 300 ppm), cloves (0, 150, 300 and 500 ppm), lavender and tea tree (0 ; 250, 500 and 1,000 ppm) which were added in autoclaved PDA melting medium, plus antibiotic (Streptomycin and Penicillin) 500 mg/L-1, 0.5% Tween20®. Subsequently, a 5 mm diameter pathogen mycelium disc was added in the center of the plates. The data were evaluated using regression analysis, at 5% significance by the R software. The inhibitory potential of sclerotia germination was evaluated through the immersion method and through the volatilization of the sclerotia in essential oils. In the immersion test, concentrations of 2,000 and 5,000 ppm of each essential oil were used in 4 mL aliquots, along with water and Tween20®. of five sclerotia in an equidistant way. The effect of volatilization was evaluated at a concentration of 100 µL of each essential oil, with deposition on a cotton swab attached to the lid of the Petri dish with AA medium (agar-water). Subsequently, five sclerotia were placed equidistantly. The evaluation parameter was the occurrence or not of sclerotia germination. The data were submitted to the G-rho Test by Harrington and Fleming (1982) and to the Kaplan-Meier survival curves, in the R software. The treatments that did not show germination were submitted to the Test of Triphenyl Tetrazolium Chloride (TCT), with purpose of evaluating the viability of the sclerotia. The mycelial growth assay resulted in total inhibition at all concentrations with garlic, lavender and tea tree using 1000 ppm. The treatment with cloves showed growth in different concentrations. The immersion of sclerotia inhibited germination by 100% in the treatment with garlic at concentrations of 2.000 ppm and 5.000 ppm and clove at 5.000 ppm. The volatilization effect prevented the germination of the sclerotia from the garlic, clove and tea tree treatments. Non-germinated sclerotia showed partial viability (60%) when submitted to TCT, observed in the immersion treatment with garlic essential oil (2.000 ppm). The results of this work confirmed the antifungal potential of essential oils as an alternative in vitro control of the pathogen *S. sclerotiorum*.

Keywords: Alternative control; White mold; Essential oils.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sintomas típicos do mofo branco causado por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em plantas de soja.....	17
Figura 2. Escleródios do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> associados com sementes de soja... 18	18
Figura 3. Ciclo de vida do patógeno <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	19
Figura 4. Planta de alho (<i>Allium sativum</i>).	23
Figura 5. Botões florais secos de cravo-da-índia (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	24
Figura 6. Imagem representativa da planta de lavanda (<i>Lavandula sp</i>). Curitiba, SC.....	26
Figura 7 .Inflorescência de <i>Melaleuca spp</i>	27
Figura 8 .Meio de cultura BDA sendo adicionado em Placas de Petri (A); isolamento do fungo (B), fungo obtido do isolamento com formação de escleródios (C e D).	29
Figura 9. Deposição dos discos de micélio do patógeno <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> sobre meio de cultura BDA com alíquotas dos respectivos óleos essenciais.	30
Figura 10. Medições dos diâmetros verticais e horizontais do crescimento micelial do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	31
Figura 11. Produção de escleródios (A); Desinfecção superficial dos escleródios (B e C); Deposição dos escleródios (D).	33
Figura 12. Deposição da alíquota de óleo essencial no chumaço de algodão.	34
Figura 13. Deposição dos escleródios em meio AA (ágar-água) no ensaio de volatilização...34	34
Figura 14. Escleródios germinados e não germinados do ensaio de imersão.....	35
Figura 15. Secagem dos escleródios com papel filtro (A); Corte com estilete para observação interna.	36
Figura 16. Crescimento micelial do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> com crescimento em 10 dias em meio BDA (à esquerda) e crescimento micelial em 25 dias com a presença de escleródios (à direita).....	37
Figura 17. Análise de regressão para avaliação potencial dos óleos essenciais de alho (A), cravo-da-índia (B), lavanda (C) e melaleuca (D) na inibição do crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	39

Figura 18. Crescimento micelial do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> no tratamento com óleo essencial de alho.	40
Figura 19. Crescimento micelial do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> no tratamento com óleo essencial de cravo-da- índia.....	40
Figura 20. Crescimento micelial do fungo <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> no tratamento com óleo essencial de lavanda.....	41
Figura 21. Crescimento micelial de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> com tratamento com óleo essencial de melaleuca.	42
Figura 22. Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier e porcentagem de inibição da germinação de escleródios do patógeno <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , no tratamento testemunha (0 ppm) (A), alho (B); cravo-da-índia (C), lavanda (D) e melaleuca (E) imersos na concentração de 2.000 ppm.	45
Figura 23. Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier e porcentagem de inibição da germinação de escleródios do patógeno <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , no tramento testemunha (0 ppm) (A), alho (B); cravo-da-índia (C), lavanda (D) e melaleuca (E) imersos na concentração de 5.000 ppm.	46
Figura 24. Escleródios viáveis e inviáveis vistos em microscópio estereoscópio.....	48
Figura 25. Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier e porcentagem de inibição da germinação de escleródios do patógeno <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , através do efeito de volatilização dos óleos essenciais de alho (A), cravo-da-índia (B); lavanda (C), melaleuca (D) na concentração de 100 µL e testemunha (E) com 0 µL.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Viabilidade dos escleródios (porcentagem) após Teste de Trifenil Cloreto de Tetrazólio (TCT) dos tratamentos de imersão com óleos essenciais nas concentrações de 2000 ppm e 5000 ppm.	47
Tabela 2. Viabilidade dos escleródios (porcentagem) após Teste de Trifenil Cloreto de Tetrazólio (TCT) dos tratamentos com efeito da volatilização na concentração de 100 µL....	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA: Meio ágar água

AACCM: Área Abaixo da Curva de Crescimento Micelial

IVCM: Índice de Velocidade de Crescimento Micelial

BDA: Batata Dextrose Ágar

BOD: Câmara de Crescimento

DIC: Delineamento Inteiramente Casualizado

ppm- partes por milhão

R: software estatístico

TCT: Teste de Trifenil Cloreto de Tetrazólio

µL: Microlitro

LISTA DE SÍMBOLOS

® Marca Registrada

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	OBJETIVOS.....	15
1.1.1	Objetivo Geral	15
1.1.2	Objetivos Específicos.....	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	CARACTERIZAÇÃO DO MOFO BRANCO.....	16
2.2	IMPORTÂNCIA DO FUNGO <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	19
2.3	MANEJO DO MOFO BRANCO CAUSADO PELO FUNGO <i>S. sclerotiorum</i>	20
2.4	CONTROLE ALTERNATIVO COM USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS	21
2.4.1	Óleo essencial de alho.....	22
2.4.2	Óleo essencial de cravo-da-índia.....	24
2.4.3	Óleo essencial de Lavanda.....	25
2.4.4	Óleo essencial de melaleuca	26
3	MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1	OBTENÇÃO DO FUNGO <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	28
3.2	OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	29
3.3	AValiação <i>in vitro</i> DO CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>S. sclerotiorum</i>	29
3.4	ANÁLISE DE INIBIÇÃO DA GERMINAÇÃO DE ESCLERÓDIOS	32
3.5	TESTE DE Viabilidade por TRIFENIL CLORETO DE TETRAZÓLIO (TCT)	35
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1	ISOLAMENTO DO PATÓGENO POR MEIO DOS ESCLERÓDIOS.....	37
4.2	POTENCIAL ANTIFÚNGICO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL.....	38
4.3	ANÁLISE DA INIBIÇÃO DA GERMINAÇÃO DE ESCLERÓDIOS.....	43
4.3.1	Avaliação da germinação dos escleródios pelo método de imersão	43
4.3.2	Avaliação da germinação dos escleródios pelo método de volatilização	49
5	CONCLUSÃO	53
	REFERÊNCIAS	54

1 INTRODUÇÃO

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary é causador da doença popularmente conhecida como mofo branco e existem relatos que cerca de 650 espécies de plantas sejam afetadas por essa doença, destacando culturas de interesse econômico como algodão, feijão, soja e o girassol (BOLTON *et al.*, 2006; FELLER *et al.*, 2021; TUPICH *et al.*, 2017).

Os métodos comumente utilizados para diminuir os impactos causados pela doença mofo branco está relacionado ao uso de controle químico e cultural. Porém, mesmo aplicando esses métodos se tem dificuldade no controle, pois o patógeno possui estruturas de resistência denominadas de escleródios. Os escleródios podem permanecer no solo cerca de dez anos, e ainda serem capazes de causar a doença (CAMOCHENA *et al.*, 2020; MEYER *et al.*, 2012; MEYER *et al.*, 2014; VENTUROSO *et al.*, 2013).

Buscando a redução do uso de controle químico e diminuição dos gastos de produção, sem o declínio na produtividade, estudos vêm sendo realizados com novas alternativas de controle. Dentre estes, destaca-se a utilização de óleos essenciais provenientes de plantas que apresentam ação antifúngica/antimicrobiana sobre as doenças (ARRUDA, 2014; SILVA *et al.*, 2009).

As plantas de modo geral apresentam em sua composição metabólitos secundários, denominados de biocompostos, tais como, alcalóides, cumarinas, flavonóides e sesquiterpenos que atuam na proteção vegetal das plantas. Os óleos essenciais apresentaram característica lipofílica, o que permite maior permeabilidade na membrana celular apresentando maior conturbação na estrutura celular. Além de apresentarem maior seletividade e serem biodegradáveis, a grande diversidade de compostos com inúmeros modos de ação, atuam de forma sinérgica aos patógenos e minimizam a sua resistência (ANJOS, *et al.*, 2022; MORAIS, 2009; ZHANG, GE; YU *et al.*, 2017).

O uso de óleos essenciais no controle de doenças em plantas, promove a sustentabilidade, pois preservam o meio ambiente e os recursos naturais, e não trazem problemas significativos ao homem quando comparados aos riscos causados pela utilização de químicos (QUEIROZ *et al.*, 2020). Neste contexto, diversos estudos apontam a eficiência dos óleos essenciais de plantas, como forma alternativa do controle de doenças fitopatogênicas (ANJOS, *et al.*, 2022; FONSECA, *et al.*, 2015; SANTOS, 2016; SEIGA *et al.* 2020). Enfatizando, portanto, a importância de novos trabalhos que demonstrem a eficiência o uso dos óleos essenciais para o controle de fungos fitopatogênicos na agricultura.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar o uso dos óleos essenciais das plantas de alho (*Allium sativum*), cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), lavanda (*Lavandula angustifolia*) e melaleuca (*Melaleuca* spp.) na inibição do crescimento micelial e germinação dos escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*.

1.1.2 Objetivos Específicos

Isolar o fungo *Sclerotinia S. sclerotiorum* através das estruturas de resistências (escleródios);

Avaliar em condições *in vitro* a ação inibitória dos óleos essenciais de alho, cravo-da-índia, lavanda e melaleuca, sobre o crescimento micelial do fungo *Sclerotinia S. sclerotiorum*;

Analisar o potencial dos óleos essenciais no processo de germinação dos escleródios do fungo *Sclerotinia S. sclerotiorum*, por meio da imersão e efeito da volatilização, e estimar a sua viabilidade por meio do teste de Trifenil Cloreto de Tetrazólio (TCT).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CARACTERIZAÇÃO DO MOFO BRANCO

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Pertence ao filo Ascomycota, classe Discomiceto, ordem Helotiales e família Sclerotiniaceae, sendo denominado como um organismo necrotrófico e polífago. Possuindo disseminação a nível mundial, esse fungo já vem sendo estudado a cerca de 150 anos, e na literatura existem um grande número de nomes comuns referindo-se ao mesmo (BOLAND; HALL; 1994; PURDY, 1979).

Segundo Boland e Hall (1994), o crescimento do patógeno é favorável em temperaturas na faixa de 15 a 25°C e em locais de alta umidade, com isso, temperaturas inferiores a 0°C e superiores a 32°C são desfavoráveis para o seu crescimento.

Os sintomas da presença da doença, são comumente observados nos ramos laterais das plantas, e nas axilas das folhas. Inicialmente é observado uma lesão de coloração escura no local, em seguida a presença de micélio que varia de coloração esbranquiçada a amarelada, possuindo um aspecto cotonoso (Figura 1). Além da presença do micélio, surgem também estruturas de resistência do patógeno, chamadas de escleródios. Os escleródios possuem uma coloração de tonalidade preta, e apresentam forma alongada e achatada (AGRIOS, 2005; ALMEIDA *et al.*, 2005).

Figura 1. Sintomas típicos do mofo branco causado por *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de soja.



Fonte: Batista *et al.* (2019)

Os escleródios são importantes para o fungo *S. sclerotiorum*, pois são as estruturas de sobrevivência do fungo. No solo, podem sobreviver por cerca de dez anos e ainda serem viáveis para provocar a doença. Além disso, estas estruturas de resistência atuam na disseminação do patógeno, pois em casos de colheita em áreas contaminadas, os escleródios associam-se com sementes (Figura 2) e podem contaminar novas áreas, caso não ocorra o manejo correto (CUNHA, 2010; LEITE; HELLING, 2008).

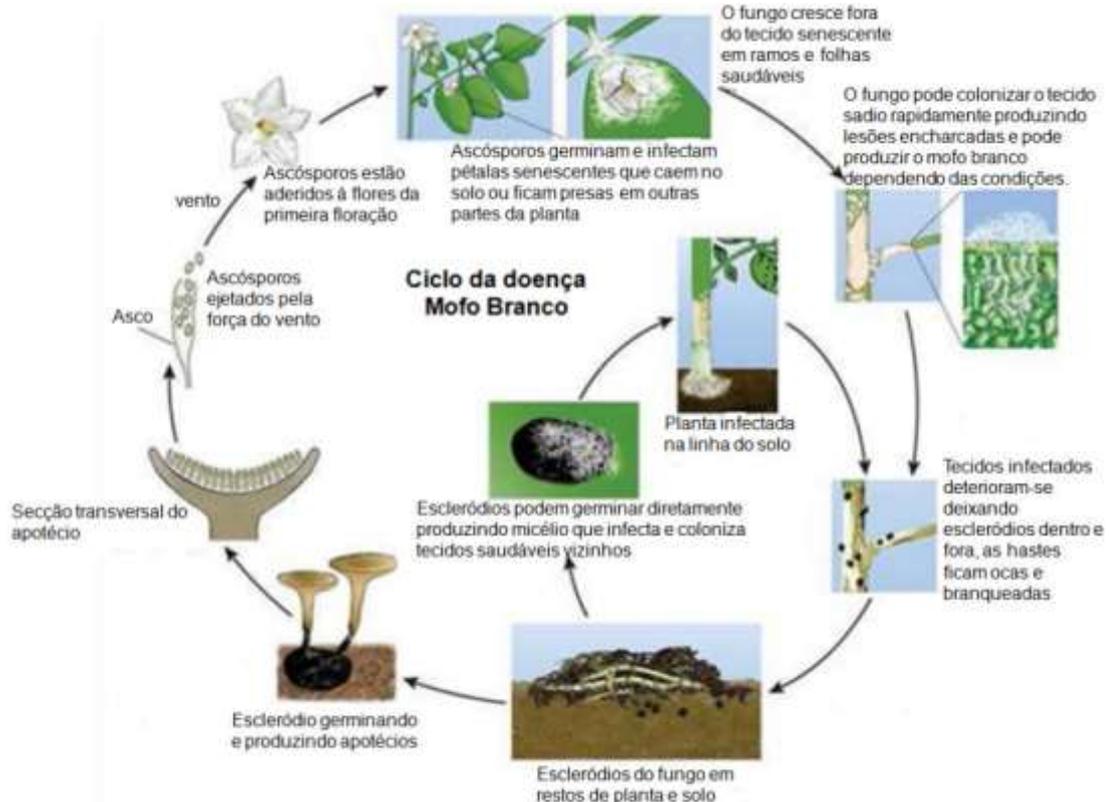
Figura 2. Escleródios do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* associados com sementes de soja.



Fonte: Autora (2022)

A germinação da *S. sclerotiorum* pode ocorrer de duas formas: a carpogênica ou apotecial, por meio do corpo de frutificação denominado de apotécio (Figura 3). Os apotécios surgem dos escleródios presentes no solo, e imergem na superfície do solo. Estas estruturas produzem ascósporos, o qual vão atingir as plantas por meio do vento e promovem a dispersão do patógeno. A forma miceliogênica ou hifal, ocorre por meio das hifas oriundas de escleródios que germinaram pelo estímulo de exsudatos da planta que é hospedeira do patógeno (CUNHA, 2010; LINK; JOHNSON, 2007).

Figura 3. Ciclo de vida do patógeno *Sclerotinia sclerotiorum*



Fonte: Agrios (2005) adaptado Walton e Kirk (2007).

2.2 IMPORTÂNCIA DO FUNGO *Sclerotinia sclerotiorum*

Os danos causados às plantas e consequentemente a produtividade, é variável de acordo com a cultura, variedade, clima, região e a ocorrência da doença (CUNHA, 2010). Segundo Schwartz e Singh (2013) existem relatos de perdas de produção de 100% na cultura do feijão em condições propícias para a disseminação do patógeno, visto que o mesmo pode atacar diversas partes das plantas, em diferentes estádios de desenvolvimento da planta. Olerícolas como cenoura e alface também são atacadas pelo fungo, trazendo danos durante o cultivo e também disseminação pós-colheita em armazenamento (YOUNG *et al.*, 2004; FOSTER *et al.*, 2008; JENSEN *et al.*, 2008). De acordo com Young *et al.* (2004) na cultura da cenoura produzidas no Reino Unido há descrição de perdas de 50% de produtividade.

No Brasil a disseminação ocorre nas regiões nordeste, centro-oeste, sudeste e sul do país, afetando principalmente culturas como feijão irrigado, em especial os cultivados em locais com temperatura por volta dos 20°C. São relatados problemas também no cultivo de tomate

rasteiro e na cultura da soja (JULIATTI; JULIATTI, 2010; JULIATTI *et al.*, 2011). No caso da cultura da soja, a doença pode provocar perdas de até 70% de produtividade (MEYER *et al.*, 2014). De acordo com Meyer *et al.* (2018) estima-se que desde 2008 cerca de 10 milhões de hectares foram contaminados pelo mofo branco.

No que se refere a Santa Catarina, o estado se encontra na lista dos mais afetados pela doença, com áreas de aproximadamente 0,5 milhões de hectares contaminados pelo fungo, de acordo com dados do ano de 2016. Das áreas com cultivo de soja dos três estados da região sul, cerca de 21,6% têm a presença do mofo branco (MEYER, 2014; MEYER; GODOY, 2016).

Os custos relacionados às perdas de produtividade com a presença de mofo branco, ultrapassam US\$ 200 milhões nos EUA anualmente (BOLTON *et al.*, 2006). Segundo Ricardo *et al.* (2008) em lavouras com cultivo de feijão no estado de Goiás, estimou-se que os custos com controle mais os impactos na produtividade, foi em torno de R\$675,57 por hectare na safra de 2008. Na cultura da soja foi observado a redução de 24% da produtividade na safra de 2020/2021, de acordo com os experimentos cooperativos de Meyer *et al.* (2021), realizados em 13 locais distribuídos nos Estados do Rio Grande do Sul, Paraná, Mato Grosso, Goiás, Minas Gerais, Bahia e Distrito Federal.

2.3 MANEJO DO MOFO BRANCO CAUSADO PELO FUNGO *S. sclerotiorum*

Para evitar a presença do mofo branco, deve-se utilizar algumas medidas de prevenção como o uso de sementes sadias/certificadas, higienização de maquinários e implementos agrícolas que foram utilizadas por áreas já infectadas, e o tráfico de pessoas nas áreas (BIANCHINI, *et al.*, 1997; FERRAZ, *et al.* 1999; VENTUROSO *et al.*, 2013).

Em relação às áreas já infectadas, o manejo do mofo branco é complexo devido aos escleródios. Além disso, não existem cultivares que sejam resistentes a esse patógeno, sendo necessário adotar técnicas relacionadas a diminuição destas estruturas de resistência, além de promover condições ambientais desfavoráveis para a sua disseminação (GORGEN *et al.*, 2008; LOBO JÚNIOR *et al.*, 2009; VENTUROSO *et al.*, 2013).

O uso do controle químico por meio de fungicidas, é uma das alternativas de manejo mais utilizada, mas são poucas as moléculas disponíveis no mercado com registro para esse fungo. Além disso, a aplicação na parte aérea por meio da pulverização, pode influenciar na eficácia do fungicida (BERGER NETO, 2015; MEYER *et al.*, 2017).

Os fungicidas a base de fluazinam e procimidone mostraram serem eficientes no controle da doença a campo, também existem moléculas do grupo dos benzimidazóis, mas segundo os autores Li e Zhou (2004) observaram patógenos resistentes ao uso destes fungicidas. No entanto, não é todos os casos que o controle químico é vantajoso, pois apresenta altos custos, e não se tem uma cobertura uniforme e completa da planta durante a aplicação (GORGEN *et al.*, 2009).

O manejo cultural também é uma estratégia de controle, onde a adoção do sistema de plantio direto, promove uma barreira física no desenvolvimento dos apotécios (FERGUSON; SHEW, 2001; FERRAZ *et al.*, 1999). Da mesma forma, Gorgen *et al.* (2008) também observaram que o uso da palhada de *Brachiaria* spp. proporcionou um controle satisfatório dos apotécios. O mesmo foi observado com palhada de girassol no trabalho de Venturoso *et al.* (2013). O uso de palhadas de gramíneas é uma boa estratégia, pois esse grupo não é hospedeiro da doença. Feller *et al.* (2014) ao utilizarem palhada de centeio e triticale, observaram o controle do mofo branco na cultura da soja. Além de agirem como uma barreira física, as gramíneas apresentam substâncias que são liberadas na decomposição, que inibem o patógeno (VENTUROSOSO *et al.*, 2013).

Outras estratégias podem ser adotadas no manejo do mofo branco, tais como, o controle da irrigação e a solarização. Quando se tem saturação do solo, favorece o desenvolvimento dos apotécios, deste modo, deve-se reduzir a quantidade de água durante a irrigação. A solarização é uma técnica que já vem sendo utilizada a muito tempo, é viável em casos da presença de escleródios próximos à superfície do solo (FERRAZ *et al.*, 1999). No estudo de Ferreira (2000) com alface americana, a adoção da solarização promoveu a redução do mofo branco na cultura.

O controle deve ser de modo integrado para um melhor manejo da doença (MEYER *et al.*, 2014). Gorgen (2009) ao utilizar em conjunto a palhada de *Brachiaria ruziziensis* e *Trichoderma harzianum* como forma de manejo do mofo branco, notou o maior parasitismo dos escleródios pelo *Trichoderma*.

2.4 CONTROLE ALTERNATIVO COM USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

O uso intensivo de agrotóxicos provoca sérios danos ao meio ambiente, além disso, promovem a seleção de patógenos resistentes às moléculas dos fungicidas, como observado por Zhou *et al.* (2021) ao constatarem resistência cruzada positiva aos fungicidas fludioxonil, dimetaclona, e procimidona em análises do mecanismo bioquímico de *S. sclerotiorum*. Devido

a tais problemas novas estratégias estão sendo tomadas por meio do controle alternativo, onde se tem um cultivo mais sustentável, e sem há necessidade do uso excessivo de agrotóxicos (BRUM, 2012).

Os óleos essenciais de alguns condimentos, plantas medicinais ou aromáticas fazem parte do controle alternativo, apresentando em sua composição propriedades que são antibacterianas, antifúngicas e inseticidas, que não causam sérios problemas ao homem e ao meio ambiente (SILVA *et al.*, 2009; TOMAZONI *et al.*, 2013).

Sendo considerados hidrofóbicos, os óleos essenciais apresentam muita facilidade para atravessar tanto a parede celular, como também a membrana plasmática dos organismos. Com isso, desarranjam as estruturas (polissacarídeos, fosfolipídios, ácidos graxos) provocando lise celular. Além de causar as células a fitotoxicidade, citotoxicidade, carcinogenicidade, mutagenicidade citoplasmática e nuclear, e ação antimutagênica (MARQUES, 2014; SILVA, 2020).

Vários estudos apontam o uso de óleos essenciais no controle de doenças fitopatogênicas. Amorim *et al.* (2011) identificaram que o uso de extrato e óleo essencial de gengibre, citronela e cravo-da-índia, proporcionaram o manejo do moko-da-bananeira causado pela bactéria *Ralstonia solanacearum*. Borges *et al.* (2013) observaram a redução da germinação dos urediniósporos de ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) da soja com o uso de óleos essenciais de citronela, nim, tomilho e eucalipto citriodora.

No trabalho de Ramos *et al.* (2014) utilizando o óleo essencial de eucalipto na concentração de 3,2%, verificaram a inibição do crescimento do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. O mesmo foi observado com o uso de óleo essencial de gengibre na concentração de 50%.

O uso de óleos essenciais como inibidores do fungo *S. sclerotiorum*, Queiroz *et al.* 2020 ao utilizarem extratos e óleos essenciais de cidreira, citronela e melissa, observaram a inibição do crescimento micelial tanto do fungo *S. sclerotiorum* como o de *Sclerotium rolfsii*.

Óleos essenciais de capim de limão, carqueja e sálvia, também apresentaram resultados satisfatórios no controle do mofo branco em condições *in vitro*, alterando a morfologia da colônia e inibindo a formação dos escleródios (PANSERA *et al.*, 2012).

2.4.1 Óleo essencial de alho

O *Allium sativum* L. está presente na família Liliaceae o qual é originária da Ásia Central. A planta apresenta cerca de 50 cm de altura com a presença de folhas estreitas e longas e de aspecto ceroso, como mostra a Figura 4. A bainhas das folhas constituem um pseudocaulo curto, onde abaixo apresenta um bulbo, composto por bulbilhos (ARRUDA, 2016; FILGUEIRA, 2017).

Figura 4. Planta de alho (*Allium sativum*).



Fonte: Dreamstime (2022)

O alho é mundialmente utilizado na culinária como condimento, também apresenta propriedades nutricionais e terapêuticas, além de ação antimicrobiana e antioxidante que são benéficas à saúde (ARRUDA, 2016).

Segundo Silva (2009), o óleo essencial oriundo dos bulbilhos é majoritariamente composto por alila, alicina, metil-dissulfeto de alila e sulfona de alila. Os bulbos do alho apresentam ação antimicrobiana, fungicida, vermífugo, antiviral e antiprotozoário contra fitopatógenos, principalmente, pela presença da substância alicina que é responsável pelo odor característico do alho. Além disso, o seu extrato possui flavonoides, alcaloides, metabólitos secundários e taninos, encontrados principalmente em seus bulbilhos que também apresentam essa característica antimicrobiana (FELIX *et al.*, 2018; SOUZA; SOARES, 2013).

Ao utilizar o óleo essencial de alho, Viegas *et al.*, (2005) verificaram que o uso de extrato dos bulbilhos promoveu a inibição do crescimento micelial de fungos do grupo *Aspergillus flavus*. Também foi relatado que o extrato bruto e óleo vegetal, diminuíram o

crescimento do micélio e germinação da antracnose da videira (*Elsinoe ampelina*) por Leite *et al.* (2012).

2.4.2 Óleo essencial de cravo-da-índia

O cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. L. M. Perry) pertence à família Myrtaceae e é originário da Índia. A sua planta pode atingir até 10 m de altura, sendo uma árvore com a presença de folhas verdes, botões florais, flores pequenas, aromáticas e hermafroditas, com longo-pedunculadas (LORENZI; MATOS 2008).

Os botões florais secos, o qual tem a presença do cálice e uma massa globulada na extremidade (“cabeça do cravo”) como ilustra a Figura 5, são popularmente chamados de cravos (GRANDI, 2014).

Figura 5. Botões florais secos de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*).



Fonte: Adobe Stock (2022)

Os cravos são altamente utilizados na culinária para produção de doces e também no tempero de carnes. Além disso, apresenta ação antifúngico, anti-inflamatório, analgésico, antioxidante, antitrombótico, antipirético, anticonvulsivante, inseticida, antimutagênico, antiulcerogênico, antiviral, antisséptico e antibacteriana (CORTÉS-ROJAS, SOUZA, OLIVEIRA, 2014; SANTOS, 2014).

O óleo essencial extraído dos botões florais, tem como compostos químicos o eugenol, eugenol acetato, β -cariofileno, ácido oleânico, triterpeno, benzaldeído, ceras vegetais, cetona, chavicol, resinas, taninos, ácido gálico, esteróis, esteróis glicosídicos, kaempferol e quercetina. O eugenol é o composto presente em maiores concentrações, e é responsável pela ação

nematicida, bactericida e fungicida do óleo essencial (MAZZAFERA, 2003; SANTOS, 2014; SILVEIRA *et al.*, 2021).

Costa *et al.* (2011) ao analisarem “*in vitro*” a atividade antifúngica do óleo essencial de *S. aromaticum*, sobre o crescimento micelial e alterações nas hifas dos fungos *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina* e *Rhizoctonia solani*, observaram resultados satisfatórios ao utilizar a concentração de 0,15% para os fungos *F. oxysporum*, *F. solani* e *R. solani*.

2.4.3 Óleo essencial de Lavanda

A lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill.) tem como centro de origem a região do mediterrâneo e está inserida na família Lamiaceae. É um arbusto de cerca 60 cm de altura, e como demonstra a Figura 6, apresenta folhas estreitas e com a presença de flores de coloração azulada, medindo de 5 a 8 mm de comprimento e de 3 a 4 mm de diâmetro (ALVES, 2018).

As plantas do gênero *Lavandula* são fortemente utilizadas na indústria de cosméticos e terapêuticos. O óleo essencial de lavanda apresenta potenciais efeitos neurológicos, atuando contra depressão e o estresse, como também estudos apontam ação pesticida, antifúngica e antimicrobiana (SILVEIRA *et al.* 2012).

O óleo essencial é extraído de flores frescas da planta, o qual tem como compostos principais o linalol (20-50%) e acetato de linalila (30-40%), e secundários como cis-ocimento, terpine-4-ol, betacariofileno, acetato de lavandulila, lavandulol e alfa-terpineol (ALVES, 2018).

Soylu *et al.* (2010) ao utilizarem o óleo essencial de lavanda, orégano e alecrim obtiveram bons resultados de controle do fungo *B. cinerea* em tomateiro tanto o efeito da volatilização como em condições de casa-de-vegetação.

Figura 6. Imagem representativa da planta de lavanda (*Lavandula sp.*). Curitiba, SC.



Fonte: Autora (2022)

2.4.4 Óleo essencial de melaleuca

A *Melaleuca* spp. (Myrtaceae) é nativa da Austrália e Ilhas do oceano Índico, sendo conhecida popularmente como “árvore do chá” (*Tree Tea*). A planta pode atingir até 6 metros de altura, com folhas pontiagudas e longas, além disso possui a presença de inflorescência de coloração branca (Figura 7) (CASTELO *et al.*, 2012; CASTRO *et al.*, 2003).

O óleo essencial de *Tree Tea* extraído tanto das folhas, caule, e ramos terminais é fortemente utilizado na indústria farmacêutica, medicina e perfumaria, devido a sua ação acaricida, fungicida, antimicrobiana, antisséptica e anti-inflamatória (CORREIA, *et al.*, 2017; SILVA, 2007).

O óleo essencial tem como principais constituintes químicos o α -terpineno, γ -terpineno, p -cimeno, terpinen-4-ol e 1,8-cineol, onde o terpinen-4-ol é responsável pelas propriedades antimicrobianas da melaleuca (OLIVEIRA, *et al.*, 2015).

Figura 7 .Inflorescência de *Melaleuca* spp.



Fonte: eCycle (2022)

Martins *et al.*, (2010) ao fazerem uso do óleo essencial de melaleuca, como forma de controle alternativo *in vitro* dos fungos fitopatogênicos *Macrophomina phaseolina*, *S. sclerotiorum* e *Alternaria alternata* observaram a redução do desenvolvimento dos fungos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

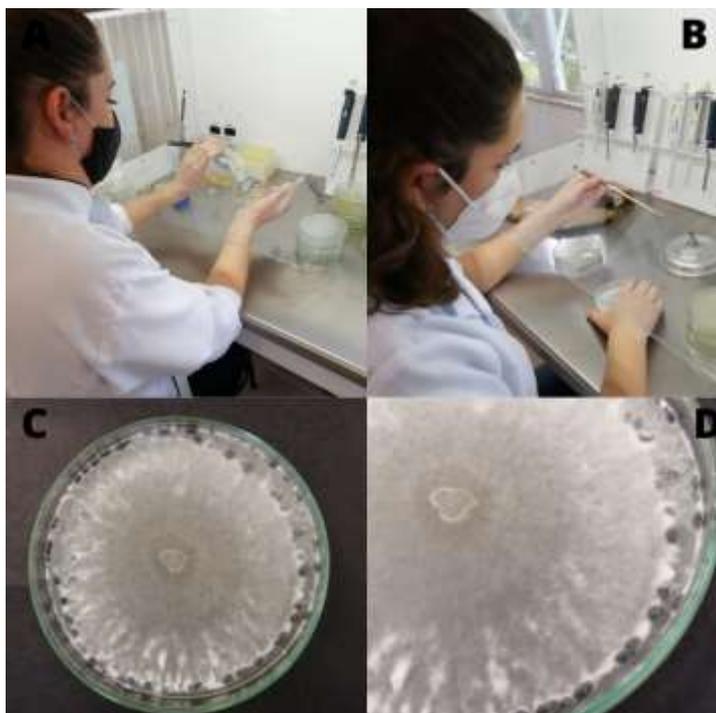
O experimento foi realizado no laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal de Santa Catarina, no Centro de Ciências Rurais, Campus de Curitibanos, em Curitibanos, SC, no período de janeiro a agosto de 2022.

3.1 OBTENÇÃO DO FUNGO *Sclerotinia sclerotiorum*

Foi utilizado, para o isolamento do fungo *S. sclerotiorum* plantas de feijão com sintomas típicos e com a presença de escleródios foram coletadas de uma propriedade rural localizada no município de Curitibanos, Santa Catarina. Após a coleta, as plantas doentes foram levadas ao laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal de Santa Catarina, campus de Curitibanos, onde foi realizado a desinfecção da superfície dos escleródios com álcool 70% (por 1 minuto), hipoclorito de sódio 2% (por 1 minuto), e foram enxaguados em água destilada (ALFENAS, 2007).

O isolamento foi realizado em placas de Petri sob o meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar), o qual foram depositados três escleródio de forma equidistante. Posteriormente as placas foram vedadas com plástico filme, e incubadas em BOD em temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas (Figura 8).

Figura 8 .Meio de cultura BDA sendo adicionado em Placas de Petri (A); isolamento do fungo (B), fungo obtido do isolamento com formação de escleródios (C e D).



Fonte: Autora (2022)

3.2 OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais de alho (*A. sativum* L.), cravo-da-índia (*S. aromaticum*), lavanda (*L. angustifolia*) e melaleuca (*Melaleuca* spp.) utilizados nos experimentos foram obtidos comercialmente, todos pertencentes a empresa Via Aroma®. Os frascos de volume de 10 mL foram armazenados em temperatura ambiente.

3.3 AVALIAÇÃO *in vitro* DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *S. sclerotiorum*

Para avaliar o efeito dos óleos essenciais, alíquotas do óleo essencial de alho (0, 50, 150 e 300 ppm), cravo-da-índia (0, 150, 300 e 500 ppm), lavanda e melaleuca (0, 250, 500 e 1000 ppm) foram adicionadas em meio fundente de BDA autoclavado, além do óleo foi adicionado antibiótico (Estreptomicina e Penicillina) 500 mg/L⁻¹ e Tween20® a 0,5 %. Após a solidificação do meio, um disco de micélio do fungo *S. sclerotiorum* (com 10 dias de idade) de aproximadamente 5 mm de diâmetro foi transferido no centro das nas placas de Petri (Figura 9). As placas foram vedadas com filme plástico, incubadas em câmara de crescimento a 25°C e fotoperíodo de 12 horas.

Figura 9. Deposição dos discos de micélio do patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* sobre meio de cultura BDA com alíquotas dos respectivos óleos essenciais.



Fonte: Autora (2022)

O crescimento micelial foi avaliado a partir de 24 horas da instalação do experimento, sendo avaliado diariamente no período matutino e vespertino, resultando em duas avaliações diárias que permaneceram sendo realizadas, até o micélio das testemunhas atingisse de 80-90% da área das placas de Petri. A avaliação foi realizada por medições dos diâmetros verticais e horizontais da colônia com o auxílio de uma régua, como representado na Figura 10.

Figura 10. Medições dos diâmetros verticais e horizontais do crescimento micelial do fungo *Sclerotinia sclerotiorum*.



Fonte: Autora (2022)

O delineamento foi inteiramente casualizado utilizando-se: testemunha (sem óleo essencial), 4 doses para os óleos essenciais de alho, lavanda e melaleuca e 5 doses para o de cravo-da-índia. Cada tratamento apresentou 5 repetições, sendo cada placa de Petri uma unidade experimental.

Após obtenção dos dados das avaliações referentes ao crescimento micelial, para avaliar a inibição do fungo foi aplicado o cálculo da Área Abaixo da Curva de Crescimento Micelial (AACCM):

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

Sendo y_i e y_{i+1} referente aos valores do crescimento micelial da colônia em duas avaliações consecutivas, e t_{i+1} com t_i o intervalo entre estas avaliações.

Os dados obtidos de AACCM foram convertidos em porcentagem de inibição do crescimento. Através dos dados gerados, foi realizada a análise de regressão com um nível de significância de 5% por meio do software R.

3.4 ANÁLISE DE INIBIÇÃO DA GERMINAÇÃO DE ESCLERÓDIOS

A produção de escleródios foi realizada em placas de Petri vertidas com meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar). Em câmara de fluxo laminar foram repicados no centro de cada placa, um disco de micélio do fungo *S. sclerotiorum* (com 10 dias de idade) de aproximadamente 5 mm de diâmetro. Posteriormente as placas foram vedadas com filme plástico, incubadas em câmara de crescimento a 25°C e fotoperíodo de 12 horas em um período de 20 dias, para a produção dos escleródios (Figura 11A). O potencial inibidor dos óleos essenciais na germinação dos escleródios, foi analisado através da imersão dos mesmos nos óleos essenciais, e por meio do efeito da volatilização.

Pelo método de imersão, foram utilizadas as dosagens de 2.000 e 5.000 ppm de cada óleo essencial (alho, cravo-da-índia, lavanda e melaleuca). As alíquotas dos óleos foram preparadas, separadamente, em água e Tween20®. Após a agitação desta solução foi adicionado 4 mL sobre placas de Petri contendo o meio AA (ágar-água) já solidificado.

Os escleródios obtidos após o período de 20 dias de incubação, foram desinfetados em álcool 70% durante 1 minuto, em seguida em hipoclorito de sódio 2% também por 1 minuto. Após esse processo foram enxaguados em água destilada, e colocado sobre papel filtro autoclavado, para a retirada do excesso de água destilada, como apresentado na Figura 11 B e Figura 11C.

Após este processo, com o auxílio de uma pinça, foram depositados cinco escleródios em cada placa de Petri sobre o meio AA (ágar-água) de forma circular e equidistantes (Figura 11 D). Posteriormente as placas foram vedadas com filme plástico, e incubadas em câmara de crescimento a uma temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas

Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado (DIC), o qual era composto por cinco tratamentos (testemunha (somente água), alho, cravo-da-índia, lavanda e melaleuca) com seis repetições cada.

Figura 11. Produção de escleródios (A); Desinfecção superficial dos escleródios (B e C); Deposição dos escleródios (D).



Fonte: Autora (2022)

Para avaliar o efeito da volatilização foi utilizado a dosagem de 100 μL de cada óleo essencial, o qual a respectiva alíquota foi depositada em um chumaço de algodão fixado na tampa da placa de Petri, como representado na Figura 12.

Em meio AA (ágar-água) solidificado com o auxílio de uma pinça foram depositados cinco escleródios de forma circular e equidistante (Figura 13). Antes da inoculação os escleródios foram desinfetados em álcool 70% durante 1 min., em seguida em hipoclorito de sódio 2% também por 1 min. e após esse processo foram enxaguados em água destilada, e enxugados em papel filtro para a retirada do excesso de água destilada. Em seguida as placas foram vedadas com filme plástico, e incubadas em câmara de crescimento a uma temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas.

Figura 12. Deposição da alíquota de óleo essencial no chumaço de algodão.



Fonte: Autora (2022)

Figura 13. Deposição dos escleródios em meio AA (ágar-água) no ensaio de volatilização.



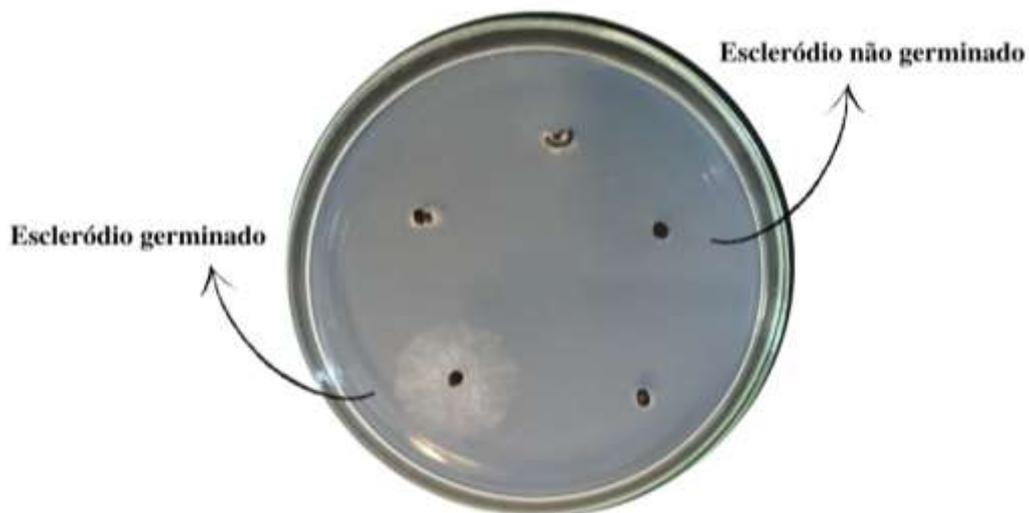
Fonte: Autora (2022).

O desenho experimental utilizado foi um delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos: uma testemunha (somente água) e quatro tipos de óleos essenciais: alho; cravo-da-índia; lavanda e; melaleuca), cada tratamento com seis repetições.

Após 24 horas de instalação do experimento, iniciou-se a avaliação do potencial inibidor dos óleos essenciais, realizadas diariamente durante 22 dias consecutivos, tendo como parâmetro de avaliação a observação de escleródios germinados e não germinados (Figura 14) através de um microscópio estereoscópio.

Posteriormente os dados foram submetidos ao Teste G-rho de Harrington e Fleming (1982), para equiparar os dados de cada óleo essencial em relação à testemunha e também foi realizada a análise de sobrevivência através das curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier, ambas utilizando o software R.

Figura 14. Escleródios germinados e não germinados do ensaio de imersão.



Fonte: Autora (2022)

3.5 TESTE DE Viabilidade por TRIFENIL CLORETO DE TETRAZÓLIO (TCT)

O Teste de Trifenil Cloreto de Tetrazólio (TCT) foi realizado com a finalidade de avaliar a viabilidade dos escleródios dos testes de inibição de germinação. Após 22 dias de avaliação, todos os escleródios que não apresentaram germinação de cada unidade experimental foram imersos em 2 mL de solução TCT 0,5% em vidros âmbar, e incubados em câmara de crescimento a uma temperatura 30°C por 24 horas.

Após às 24 horas, os escleródios foram lavados com água destilada e secados com papel filtro, e com um auxílio de um estilete como apresentado na Figura 15. Todos foram abertos para observar a sua coloração interna, sendo essa característica o parâmetro de avaliação de viabilidade.

Os escleródios que apresentaram coloração intensa avermelhada foram considerados viáveis, devido a ocorrência de respiração celular dos tecidos. Os escleródios que apresentaram coloração intensa amarelada foram considerados inviáveis, devido a não ocorrência de respiração celular, e conseqüentemente a não atividade enzimática celular, de acordo com a metodologia de França Neto e Krzyzanowski (2018).

Figura 15. Secagem dos escleródios com papel filtro (A); Corte com estilete para observação interna.



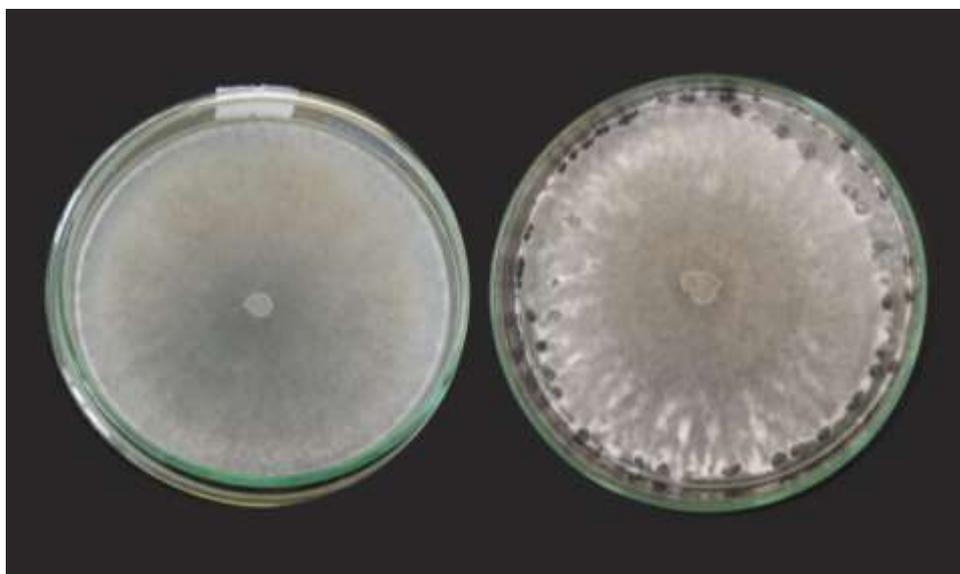
Fonte: Elaborada pela autora (2022)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ISOLAMENTO DO PATÓGENO POR MEIO DOS ESCLERÓDIOS

O isolado fúngico foi obtido com sucesso, onde foi utilizado nos ensaios do presente trabalho (Figura 16), como também foi armazenado para o enriquecimento da micoteca do laboratório de Fitopatologia, da Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Curitibanos.

Figura 16. Crescimento micelial do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* com crescimento em 10 dias em meio BDA (à esquerda) e crescimento micelial em 25 dias com a presença de escleródios (à direita).



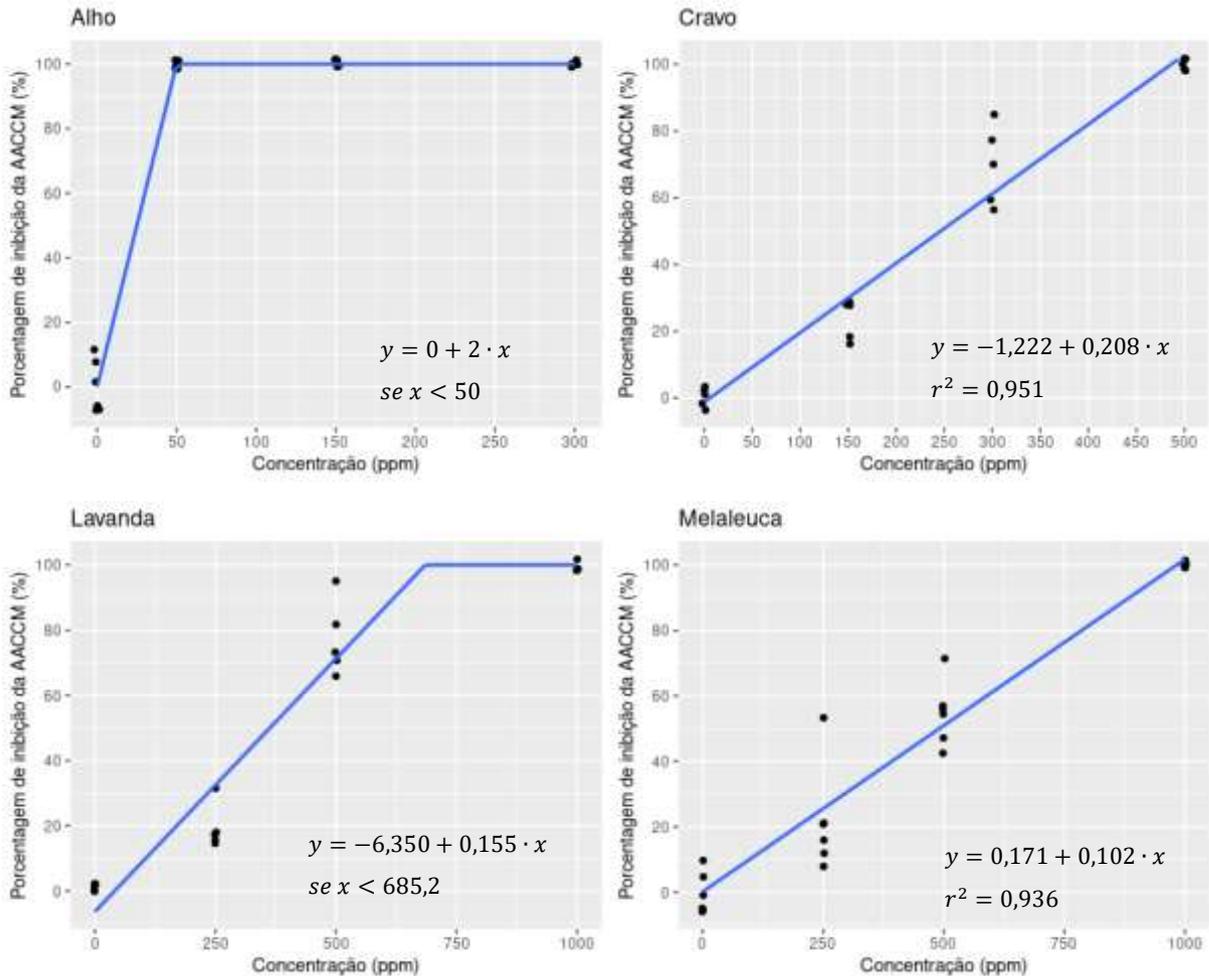
Fonte: Elaborada pela autora (2022)

No presente trabalho e após três dias de cultivo em meio BDA, observou-se que o crescimento fúngico cobrindo a totalidade da placa (Figura 16). Após esse período, além da presença do micélio, também surgiram as estruturas de resistência do patógeno, conhecidas como escleródios. De acordo AGRIOS, 2005, o crescimento fúngico de *S. sclerotiorum* é iniciado com a presença de micélio de coloração esbranquiçada possuindo um aspecto cottonoso. Já os escleródios possuem uma coloração de tonalidade preta, e apresentam forma alongada e achatada (ALMEIDA *et al.*, 2005) e, neste trabalho, observou-se que estas estruturas completaram a formação por volta de 15 dias incubação.

4.2 POTENCIAL ANTIFÚNGICO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL

A partir do cálculo da Área Abaixo da Curva de Crescimento Micelial (AACCM) e suas respectivas porcentagens de inibição do crescimento micelial, foi possível observar o potencial antifúngico dos óleos essenciais, após o 5º dia da inoculação (Figura 17). Em relação ao tratamento com o óleo essencial de alho, houve inibição total a partir da concentração de 50 ppm, como pode ser observado pelo ajuste da regressão platô (Figura 17 A). Para o óleo de lavanda o ajuste também foi para a equação platô e concentração de inibição total foi a partir de 685 ppm (Figura 17 C). Para o tratamento com óleo de cravo-da-índia o ajuste foi linear sendo observado um aumento na inibição do fungo conforme o aumento da concentração. A inibição total ocorreu na concentração de 500 ppm (Figura 17 B). O mesmo comportamento foi observado no tratamento com melaleuca. No entanto, a inibição total ocorreu na concentração de 1000 ppm (Figura 17 D).

Figura 17. Análise de regressão para avaliação potencial dos óleos essenciais de alho (A), cravo-da-índia (B), lavanda (C) e melaleuca (D) na inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*.

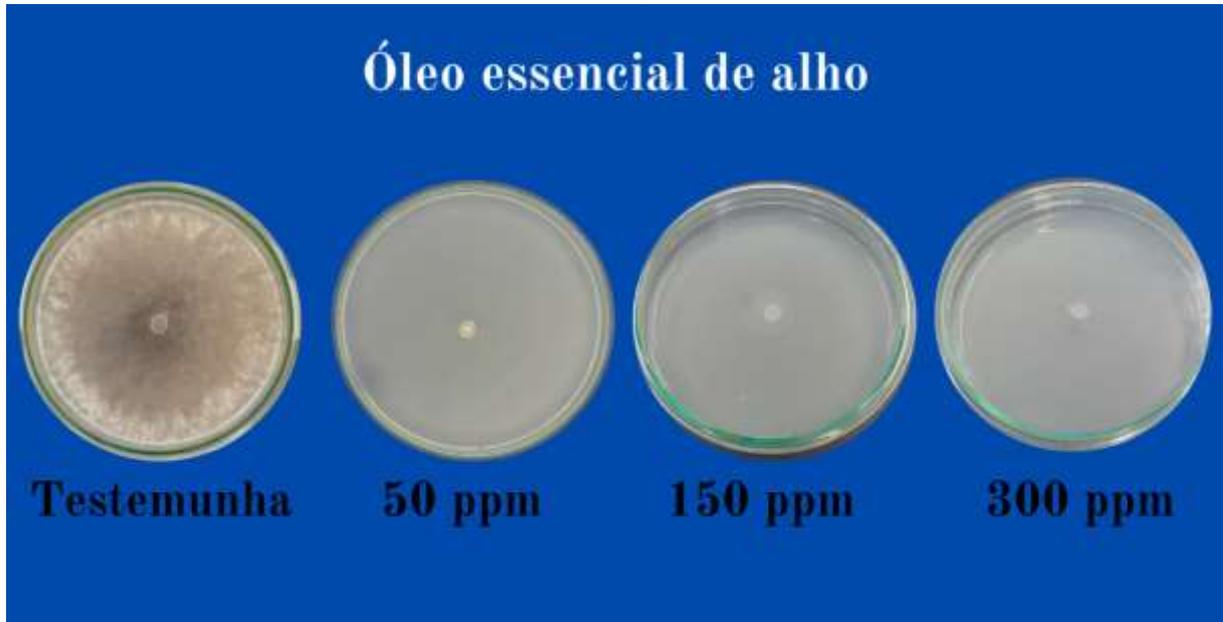


Fonte: Elaborada pela autora (2022)

Na Figura 18, constam as imagens das placas do experimento no último dia de avaliação com o tratamento com óleo essencial de alho. Foi observado a inibição total em todas as concentrações utilizadas nos ensaios.

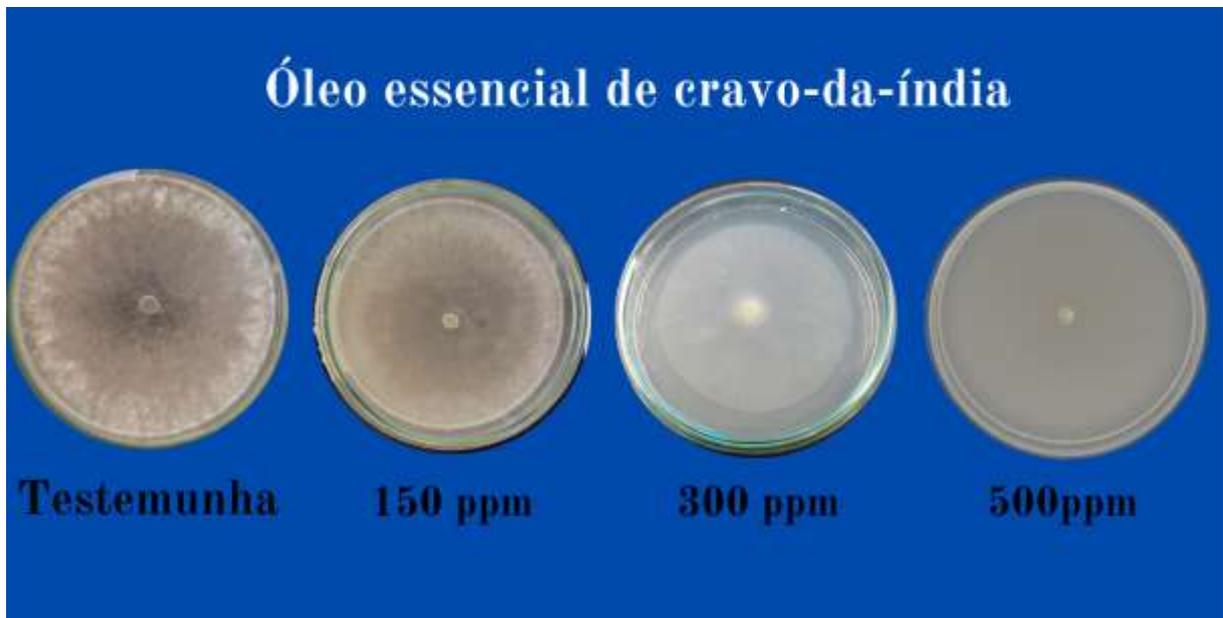
Já no tratamento com óleo essencial de cravo-da-índia nas concentrações de 150, 300 e 500 ppm apresentaram uma inibição de crescimento de 23,7 %, 69,1% e 100 % respectivamente (Figura 19).

Figura 18. Crescimento micelial do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* no tratamento com óleo essencial de alho.



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

Figura 19. Crescimento micelial do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* no tratamento com óleo essencial de cravo-da-índia.



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

Em relação ao óleo essencial de lavanda, o tratamento com concentração de 1.000 ppm apresentou inibição total do crescimento micelial do patógeno (Figura 20). Além disso, a

concentração de 500 ppm mostrou inibição parcial de 77,6%, e o tratamento com 250 ppm de óleo essencial com 19,8%.

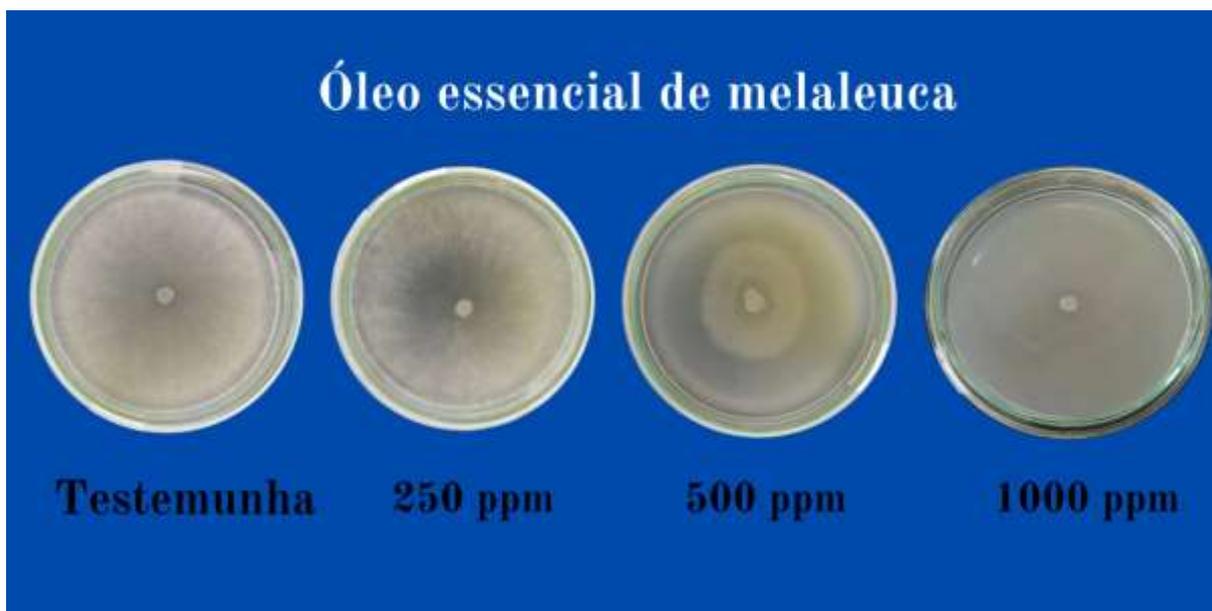
Figura 20. Crescimento micelial do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* no tratamento com óleo essencial de lavanda.



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

Os resultados obtidos pelo tratamento com o uso do óleo essencial de melaleuca se assemelhou com os resultados com o óleo de lavanda, o qual também obteve 100% de inibição na concentração de 1000 ppm (Figura 21). E nas concentrações de 250 e 500 ppm apresentaram uma inibição de 22,4% e 56,1%, respectivamente (Figura 21 D).

Figura 21. Crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* com tratamento com óleo essencial de melaleuca.



Fonte: Autora (2022)

Através dos resultados obtidos neste trabalho, é possível constatar que os óleos essenciais apresentam potencial antifúngico, corroborando com diversos autores que também observaram estes resultados. Portella *et al.* (2021), ao utilizarem óleos essenciais de alho e melaleuca para avaliar o crescimento micelial do fungo *S. sclerotiorum*, observaram que o uso de 5 mL de cada óleo essencial em 95 mL do meio de cultura BDA verificaram uma inibição de 71,76% para o alho, e 100% para melaleuca. Também Steffen *et al.* (2019) verificaram uma inibição completa do crescimento micelial dos patógenos *S. sclerotiorum* e *Fusarium* sp, ao utilizarem a concentração de 0,5% do óleo essencial de melaleuca. É notória os diferentes resultados mesmo com a utilização de óleos essenciais de mesmas espécies de plantas, o qual pode ser decorrente das condições edafoclimáticas do local onde as plantas estão presentes, como também em qual época/estação do ano as mesmas foram coletadas para realizar a extração. Além disso, os princípios ativos apresentam concentrações variáveis durante o ciclo da planta, cultivo, colheita e a extração (VENTUROSOSO *et al.*, 2011).

No estudo de Hendges *et al.* (2021) as concentrações de 2.500, 2.000, 1.500 e 500 $\mu\text{L/L}$ do óleo essencial de melaleuca inibiram o crescimento micelial, do patógeno alternaria (*Alternaria solani*) do tomateiro, em 55,89%; 44,71%; 33,53% e 22,36%, respectivamente. Apontando que, maiores concentrações inibem em maiores percentagens o desenvolvimento e crescimento do patógeno.

Araújo *et al.* (2019) testaram a ação antifúngica de óleos essenciais de diferentes espécies de plantas, utilizando a concentração 1000 µg/mL obtiveram a inibição de 100% do crescimento micelial dos fungos *R. solani*, *S. sclerotiorum* e *F. Solani* com a utilização do óleo essencial de alho e cravo-da-índia, como também a inibição total dos patógenos *Pestalotiopsis guepinii* e *Phytophthora* spp., através do óleo essencial de cravo-da-índia.

Souza *et al.* (2004) ao avaliarem a ação de óleos essenciais de condimentos sobre o desenvolvimento micelial de fungos associados a produtos de panificação, observaram que o uso do óleo essencial de alho promoveu o controle do desenvolvimento micelial dos fungos *A. niger* nas concentrações de 500, 1000, 1500 e 2000 ppm, e *Rhizopus* sp. na concentração de 2000 ppm. Ao utilizarem o óleo essencial de cravo-da-índia, notou-se também a inibição do crescimento micelial do fungo *Eurotium repens* nas concentrações de 600 e 800 ppm, mostrando com isso que a eficiência de inibição do crescimento micelial, é maximizada em maiores concentrações.

O óleo essencial do cravo-da-índia ao ser utilizado como controle *in vitro* contra isolados de *S. sclerotiorum* do feijoeiro, foi satisfatório contra o crescimento micelial nas concentrações de 80 e 160 µL/L inibindo totalmente o desenvolvimento, segundo o trabalho de Neves e Vieira (2017).

No que se refere ao óleo essencial de lavanda, Rashad *et al.* (2022) constataram a inibição do crescimento micelial de *Fusarium solani* em 97,6% na concentração de 1,5%, como também a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração inibitória de 50% (IC50), nas concentrações de 1,6% e 0,65% respectivamente. Ojaghian *et al.* (2019) ao testarem a eficácia inibitória de diferentes óleos essenciais contra *S. sclerotiorum* em cenoura, obtiveram inibição 85,6% ao utilizarem a dosagem de 1 µl/ml do óleo essencial de lavanda.

4.3 ANÁLISE DA INIBIÇÃO DA GERMINAÇÃO DE ESCLERÓDIOS

4.3.1 Avaliação da germinação dos escleródios pelo método de imersão

O ensaio de análise de inibição da germinação de escleródios ocorreu até o 22º dia após a instalação do experimento para ambas as concentrações utilizadas (2.000 e 5.000 ppm). De acordo com a curva de sobrevivência (Figura 22) para a concentração de 2.000 ppm, o tratamento testemunha (0 ppm) apresentou o início da germinação dos seus escleródios no 4º dia de instalação do experimento, apresentando a germinação completa dos mesmos no 7º dia como representa a Figura 22 A. A germinação dos escleródios tratados com o óleo de lavanda

tive o mesmo comportamento que a testemunha, com germinação total também no 7º dia de avaliação (Figura 22 D).

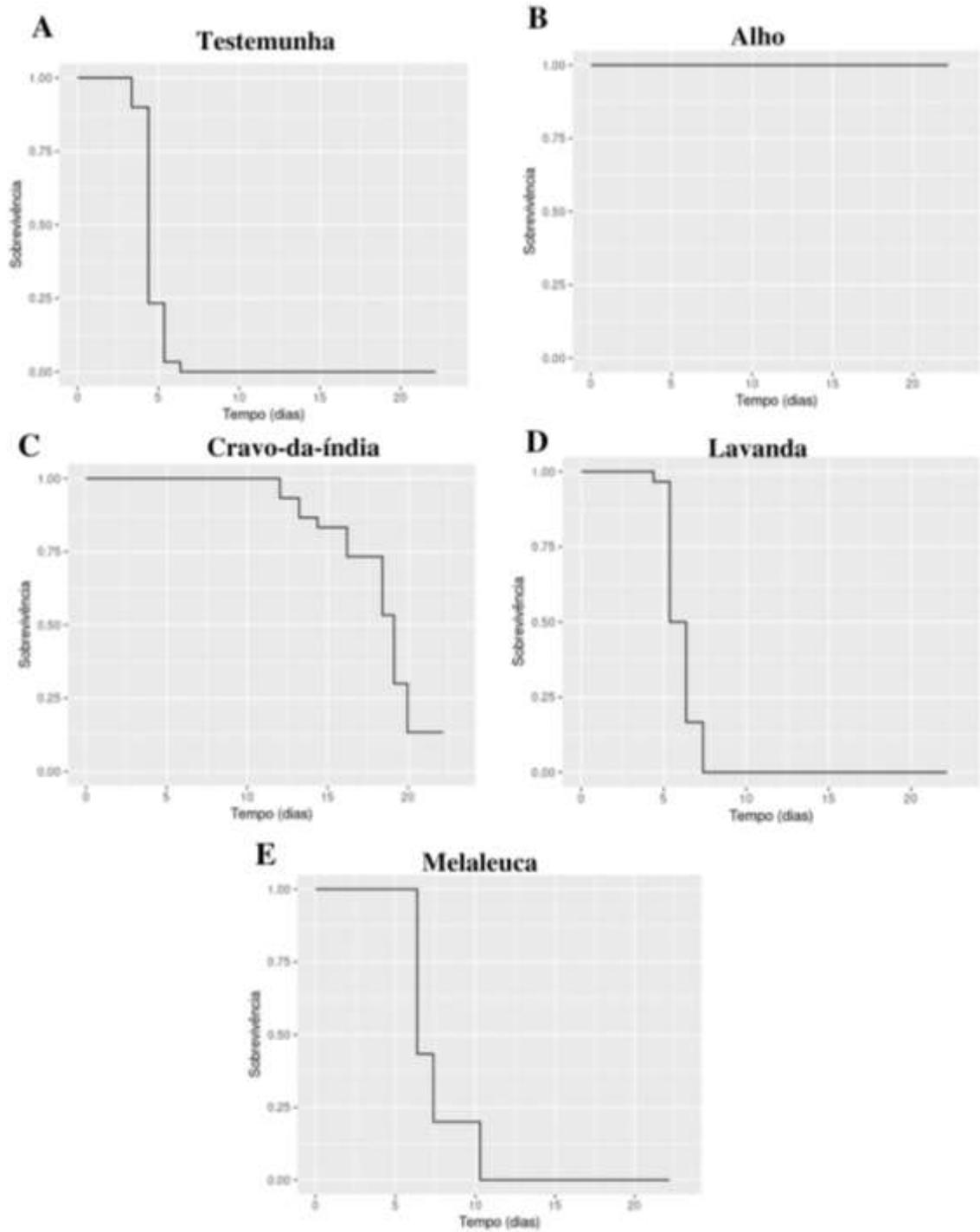
O tratamento com óleo essencial de alho não apresentou a germinação de nenhum escleródio durante todo o período de avaliação (Figura 22 B). Em relação ao tratamento com óleo essencial de cravo-da-índia (Figura 22 C), o mesmo apresentou todos os escleródios germinados somente após 22 dias de instalação do experimento com início da germinação no 13º dia. Já o tratamento com o óleo de melaleuca a germinação iniciou-se no 7º dia e com germinação de todos os escleródios no 11º dia (Figura 22 E).

Conforme a curva de sobrevivência para a concentração de 5.000 ppm (Figura 23), o tratamento testemunha (0 ppm) iniciou a germinação dos seus escleródios no terceiro dia após a instalação do experimento, apresentando todos os escleródios germinados no 7º dia de avaliação como apresenta a Figura 23 A.

Os tratamentos com óleos essenciais de lavanda e melaleuca, tiveram todos os escleródios germinados no 13 e 18 dia respectivamente (Figura 23 D e Figura 23 E), mostrando o intervalo inibição entre ambos de 5 dias. Os óleos essenciais de alho e cravo-da-índia proporcionaram a inibição total da germinação dos escleródios, onde em ambos os tratamentos não ocorreu a germinação de nenhum escleródio, como representa a Figura 23 B e Figura 23 C.

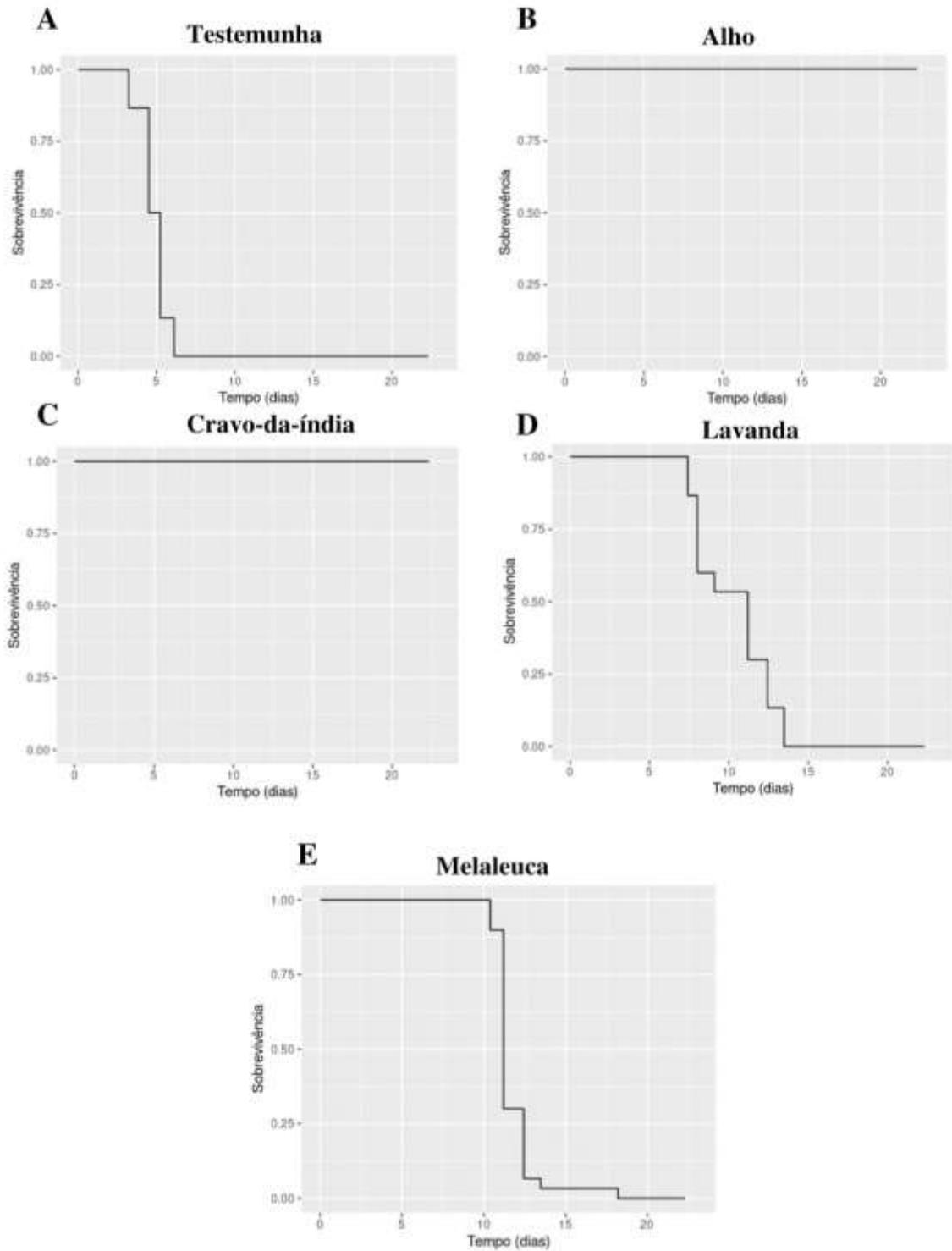
É possível observar que o aumento da concentração de 2.000 ppm para 5.000 ppm, promoveu melhor inibição da germinação dos escleródios. No tratamento com o óleo essencial de lavanda com o aumento da concentração proporcionou a inibição de mais 4 dias, como também para melaleuca que passou de 11 dias para 18 dias, promovendo a inibição da germinação por mais 7 dias ao comparar ao tratamento testemunha. Em relação ao tratamento com óleo essencial de cravo-da-índia, o aumento de concentração promoveu a inibição completa da germinação dos escleródios, observando que maiores concentrações do uso do óleo o tornam mais eficiente no seu uso.

Figura 22. Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier e porcentagem de inibição da germinação de escleródios do patógeno *Sclerotinia sclerotiorum*, no tratamento testemunha (0 ppm) (A), alho (B); cravo-da-índia (C), lavanda (D) e melaleuca (E) imersos na concentração de 2.000 ppm.



Fonte: Autora (2022)

Figura 23. Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier e porcentagem de inibição da germinação de escleródios do patógeno *Sclerotinia sclerotiorum*, no tratamento testemunha (0 ppm) (A), alho (B); cravo-da-índia (C), lavanda (D) e melaleuca (E) imersos na concentração de 5.000 ppm.



Fonte: Autora (2022)

Após os 22 dias de avaliação do ensaio, o tratamento que não apresentou germinação juntamente com as testemunhas, foram submetidos ao Teste de Trifenil Cloreto de Tetrazólio (TCT), onde os resultados qualitativos obtidos se encontram na Tabela 1.

Tabela 1. Viabilidade dos escleródios (porcentagem) após Teste de Trifenil Cloreto de Tetrazólio (TCT) dos tratamentos de imersão com óleos essenciais nas concentrações de 2.000 ppm e 5.000 ppm.

Tratamento	Viáveis (%)	Inviáveis (%)
Testemunhas (0 ppm)	100%	0%
Alho (2.000 ppm)	60%	40%
Alho (5.000 ppm)	0%	100%
Cravo-da-índia (5.000 ppm)	0%	100%

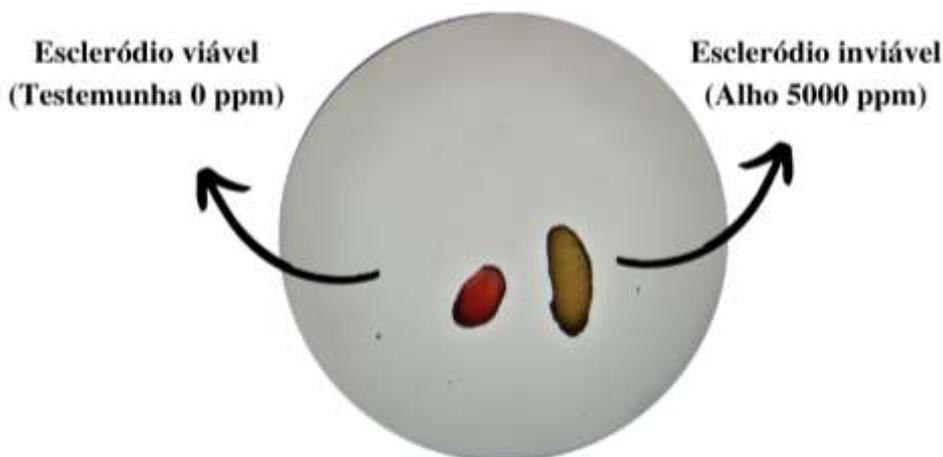
Fonte: Autora (2022)

Ao observar a coloração interna dos escleródios do tratamento com óleo essencial de alho nas concentrações de 2.000 e 5.000 ppm, e cravo-da-índia em 5.000 ppm, foi possível constatar a não ocorrência de respiração celular devido a coloração amarelada como mostra a Figura 24. Deste modo, é possível constatar que os óleos essenciais além de inibirem a germinação do escleródio, também o torna inviável para seu desenvolvimento.

O tratamento com óleo essencial de alho com 2.000 ppm apresentou viabilidade parcial (60%) com a presença de escleródios viáveis, verificando que nesta concentração utilizada ocorreu a inibição da germinação, mas não a atividade celular, o que ainda pode possibilitar o patógeno a ocasionar a doença.

O efeito inibitório do óleo essencial do cravo-da-índia e alho podem estar relacionados com a alta concentração dos compostos alicina (alho) e eugenol (cravo-da-índia), o qual é responsável pela ação antifúngica (MAZZAFERA, 2003; SANTOS, 2014; SILVEIRA *et al.*, 2021). Além disso, os óleos essenciais são hidrofóbicos, o que facilita a sua aderência na parede do escleródio, como também a interação com a membrana celular, lipídeos e a mitocôndria, podendo causar distúrbios nos mesmos devido a facilidade na permeabilidade, favorecendo a ligação de íons e outras moléculas de outras células (COSTA *et al.*, 2011; VENTUROSOSO *et al.*, 2011).

Figura 24. Escleródios viáveis e inviáveis vistos em microscópio estereoscópio.



Fonte: Autora (2022)

São escassos os trabalhos publicados presentes na literatura que apresentam a avaliação da inibição da germinação dos escleródios de *S. sclerotiorum* por meio da imersão dos mesmos em óleos essenciais. Entre estes, há o relato de Graf Júnior (2018) que avaliou o efeito dos óleos essenciais alecrim (*R. officinalis*), capim-limão (*C. citratus*), cravo-da-índia (*S. aromaticum*), eucalipto (*Eucalyptus globulus*), gengibre (*Zingiber officinalis* Roscoe) e hortelã (*Mentha arvensis*) na inibição do crescimento micelial e germinação de escleródios de *S. sclerotiorum*. Este autor observou que, a imersão de escleródios a uma concentração de 5.000 ppm, proporcionou resultados satisfatórios com a inibição total da germinação para o tratamento com óleo essencial de cravo-da-índia, e inibição de 94% para com a presença do óleo essencial de capim-limão até o 42º dia de avaliação, assemelhando-se com os resultados obtidos neste presente trabalho.

Resultados semelhantes foram encontrados no trabalho descrito por Coser (2018), porém, em outro fungo, o *S. rolfsii* que também produz escleródios. A autora avaliou o potencial inibitório dos óleos essenciais de capim-limão e cravo-da-índia na germinação de escleródios em concentrações crescentes (1.000, 2.000, 3.000 e 5.000 ppm) no ensaio de imersão e obteve inibição de 100% da germinação na concentração de 5.000 ppm do óleo essencial de capim-limão, e nas concentrações de 3.000 e 5.000 ppm com óleo essencial de cravo-da-índia até o 40º dia de avaliação.

Os óleos essenciais utilizados também apresentaram efeitos inibitórios para outros patógenos. Fialho e Papa (2015) avaliaram a atividade antifúngica *in vitro* de dez óleos essenciais de uva (*Vitis vinifera*), tangerina (*Citrus reticulata*), laranja doce (*Citrus aurantium*), citronela (*Cymbopogon winterianus*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*), eucalipto (*Eucalyptus staigeriana*), anis estrelado (*Illicium verum*), alecrim (*R. officinalis*), cravo-da-índia (*S. aromaticum*) e tomilho branco (*T. vulgaris*) contra o fungo *Sphaceloma ampelinum* através da análise do crescimento e da germinação de esporos. Para determinar a inibição de germinação dos esporos, foram utilizadas as concentrações de 0,3 e 1% em placas Elisa, utilizando microscópio ótico para observar os esporos germinados e não germinados, constataram que o óleo essencial de cravo-da-índia apresentou potencial inibitório na germinação dos esporos em ambas as concentrações.

Marcondes *et al.*, (2014) buscavam avaliar em seu trabalho a influência dos extratos aquosos de alecrim, cravo-da-índia, sálvia, capim-limão, orégano e pimenta-do-reino, na inibição do crescimento micelial e germinação de esporos dos fungos *C. gloeosporioides* e de *Fusarium moniliforme*, constataram que ao utilizar uma alíquota de 40 μL da suspensão 10^6 conídios mL^{-1} , juntamente com 40 μL de cada extrato nas concentrações de 0; 5; 10 e 20% em placas Elisa, a germinação de conídios de *C. gloeosporioides* foi inibida em 100% na concentração de 20% dos extratos de alho e cravo-da-índia, como também na concentração de 10% do extrato de cravo-da-índia. Em relação ao *F. moniliforme*, a concentração de 20% do extrato de alho inibiu a germinação dos conídios.

Itako *et al.* (2021) ao analisar o efeitos dos óleos essenciais de *S. aromaticum* (cravo-da-índia), *C. citratus* (capim-limão), *E. citriodora* (eucalipto) e *R. officinalis* (alecrim) no desenvolvimento do patógeno *Colletotrichum* sp. em fragmentos dos frutos de *Feijoa sellowiana* (goiaba-serrana), constataram que imergir fragmentos dos frutos com a presença do patógeno em cada óleo essencial em uma concentração de 5.000 ppm durante 2; 4; 8; 12 e 24 horas, o qual o óleo essencial de cravo-da-índia apresentou maior potencial inibitório, onde inibiu totalmente a formação de hifas dos fragmentos durante 12 e 24 horas de imersão.

4.3.2 Avaliação da germinação dos escleródios pelo método de volatilização

A avaliação do efeito da volatilização sobre a germinação dos escleródios ocorreu durante 22 dias, onde o tratamento testemunha (0 μL) teve início de germinação após 3 dias de instalação do experimento, apresentando todos os escleródios germinados no 5º dia (Figura 25

A). O óleo essencial de lavanda apresentou potencial inibitório na germinação dos escleródios até o último dia de avaliação, onde no 22º dia todos os escleródios se mostraram germinados (Figura 25D).

Os demais tratamentos (alho, cravo-da-índia e melaleuca) não apresentaram germinação de nenhum dos seus escleródios apresentando potencial inibitório da germinação dos mesmos por meio da liberação de compostos voláteis dos óleos essenciais (Figura 25 B, C e E).

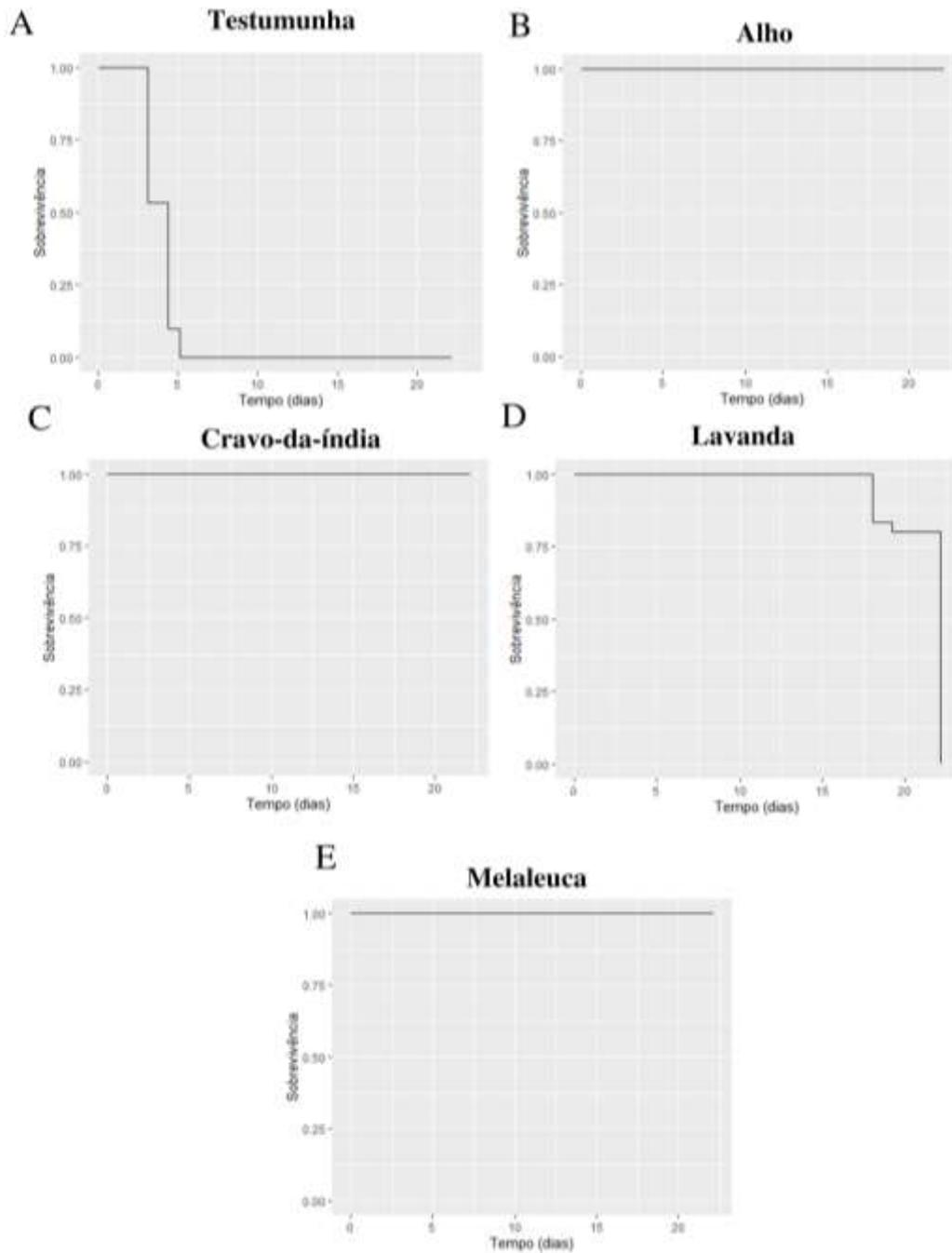
Também foi realizado no 22º de avaliação o teste TCT nos tratamentos (óleo essencial de alho, cravo-da-índia e melaleuca) que não apresentaram germinação até este dia de avaliação. Os dados qualitativos obtidos constam na Tabela 2. Foi verificado a não-coloração dos escleródios após a abertura dos mesmos em todos os tratamentos, indicando a inviabilidade dos escleródios. Com estes resultados sugere-se que os compostos voláteis dos óleos essenciais além de inibir a germinação dos escleródios podem afetar a sua atividade celular.

Tabela 2. Viabilidade dos escleródios (porcentagem) após Teste de Trifenil Cloreto de Tetrazólio (TCT) dos tratamentos com efeito da volatilização na concentração de 100 µL

Tratamento	Viáveis (%)	Inviáveis (%)
Testemunha (0 µL)	100%	0%
Alho (100 µL)	0%	100%
Cravo-da-índia (100µL)	0%	100%
Melaleuca (100µL)	0%	100%

Fonte: Autora (2022)

Figura 25. Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier e porcentagem de inibição da germinação de escleródios do patógeno *Sclerotinia sclerotiorum*, através do efeito de volatilização dos óleos essenciais de alho (A), cravo-da-índia (B); lavanda (C), melaleuca (D) na concentração de 100 μ L e testemunha (E) com 0 μ L.



Fonte: Autora (2022).

Seiga *et al.*, (2020) avaliaram o efeito dos óleos essenciais de *Casearia sylvestris*, *Eugenia uniflora* e *Melaleuca latifolia* na inibição do desenvolvimento de *S. sclerotiorum*. No trabalho foi utilizado a concentração de 15 µL aplicados em papel filtro e fixados na tampa das placas de Petri. Foi observado que a concentração utilizada não inibiu o crescimento micelial do patógeno, mas que apenas a testemunha apresentou formação de escleródios, sugerindo que maiores concentrações podem atuar de forma mais eficiente no controle do patógeno, como foi observado neste ensaio ao utilizar a concentração de 100 µL. Em contrapartida, Baseggio *et al.* (2019) avaliaram o efeito volátil dos óleos essenciais de alho (*A. sativum*), arruda (*Ruta graveolens*), carqueja (*Baccharis trimera*) e nim (*Azadirachta indica*) e observaram que a concentração de 20 µL de óleo essencial de alho inibiu totalmente o crescimento micelial e produção de conídios de *Monilinia fructicola*, demonstrando que menores concentrações também podem ser inibitórias do desenvolvimento de outros fungos fitopatogênicos.

O trabalho de Lorini, Bolando e Mendes (2016) com intuito de avaliar o efeito volátil dos óleos essenciais de alecrim, canela, cravo-da-índia e eucalipto no desenvolvimento de patógenos em amêndoas de castanha-do-Brasil, obtiveram resultados satisfatórios ao utilizarem também a dosagem de 100 µL. Houve inibição do desenvolvimento de *Penicillium* sp. com o uso do óleo essencial de eucalipto, já o de cravo-da-índia teve maior inibição do patógeno *Rhizopus* sp., e o de canela foram *A. niger*, *A. flavus* e *Rhizopus* sp.

Por meio dos resultados, é possível observar que o ensaio de volatilização apresentou mais eficiência ao equiparar com os ensaios de crescimento micelial e da imersão dos escleródios nos óleos essenciais. O mesmo foi observado por Soylu, Kurt e Soylu *et al.* (2010) ao avaliar o uso dos óleos essenciais de origanum (*Origanum syriacum* L. var. *bevanii*), lavanda (*Lavandula stoechas* L. var. *stoechas*) e alecrim (*R. officinalis*) no controle alternativo *in vitro* de *B. cinerea*, onde obtiveram o maior controle por meio do efeito volátil em relação ao de contato com óleos essenciais.

Esses resultados podem estar relacionados ao fato dos compostos voláteis na forma de vapor, apresentam maior facilidade de penetração nas estruturas fúngicas dos patógenos, possibilitando maior facilidade na inibição do crescimento, interferência da atividade enzimática, divisão celular e permeabilidade da membrana em comparação com o estado líquido (ROSADO *et al.*, 2009).

5 CONCLUSÃO

Os óleos essenciais de alho e cravo-da-índia mostraram-se promissores na inibição do crescimento micelial e germinação de escleródios, como também o óleo essencial de melaleuca com efeito volátil inibitório.

Os resultados do presente trabalho, constataram o potencial antifúngico dos óleos essenciais como forma de controle alternativo *in vitro* do patógeno *S. sclerotiorum*.

Ensaio a nível de campo são necessários para avaliar o potencial dos óleos essenciais aplicados em plantas. A partir disto, pode-se analisar como os óleos essenciais irão responder às condições climáticas do local e qual a melhor forma de aplicação. O efeito volátil dos óleos essenciais foi o que se mostrou mais promissor, podendo ser uma ótima estratégia de controle utilizada em conjunto com a solarização, por exemplo.

Além disso, os resultados adquiridos no presente trabalho irão auxiliar nos futuros estudos do uso de óleos essenciais no controle de doenças fitopatogênicas.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, N.G. **Plant Pathology**. 5 th ed. Florida: Elsevier, p. 546-550, 2005.
- ALFENAS, A.C *et al.* Isolamento de fungos fitopatogênicos. *In:* ALFENAS, A.C; MAFIA, R.G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: UFV, 2007. p. 53-90.
- ALMEIDA, A.M.R. *et al.* (Ed.) **Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v.2. p.569-588
- AMORIM, *et al.* Atividade antibacteriana de óleos essenciais e extratos vegetais sobre o desenvolvimento de *Ralstonia solanacearum* em mudas de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [S.L.], v. 33, n. 1, p. 392-398, out. 2011.
- ANJOS, R.C.L. dos .; CORTES, B.A.G.; ALVES, E.M.; FARIAS, L.H.M. de .; CAZAL, C. de M.; PEREIRA, P.; CHRISTOFOLI, M. Composição química e atividade antifúngica do óleo essencial de *Bauhinia forficata* (Link) e suas propriedades na germinação de sementes de *Cucurbita maxima* (Duchesne). **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento** , [S. l.] , v. 11, n. 2, pág. 1-15, 2022.
- ARAÚJO, A. S. Q.; CORDEIRO, C. B.; ARAÚJO, E. V. B.; AMORIM, R. dos S.; FALLER, B.V.; PAES, V. L. de A.; JARDIM, I. N.; DOMINGOS, D. G.; ALVES JÚNIOR, M. Bioprospecting of bioactive essential oils against phytopathogenic fungi. **Amazonian Journal of Plant Research**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 298-304, 2019.
- ARRUDA, J. H. **Ação de agroquímicos no controle de mofo branco em soja**. 2014. 58 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2014.
- ARRUDA, R. S. **Desenvolvimento do alho comum (cateto roxo) submetido a diferentes doses de biofertilizante**. 2016. 52f. Trabalho de conclusão de curso (curso de agronomia). Universidade da integração internacional da lusofonia afro-brasileira, Instituto de desenvolvimento rural, Redenção, CE, 2016.
- ALVES, B. **Óleo essencial de Lavanda (*Lavandula angustifolia*) no tratamento da ansiedade**. 2018. 27 f. TCC (Graduação) - Curso de Química, Universidade Federal de São João Del-Rei, São João Del-Rei , 2018.
- BASEGGIO, E. R.; GIACOBBO, C. L.; GALON, L.; MILANESI, P. M. COMPOSTOS VOLÁTEIS DE ÓLEOS ESSENCIAIS NA INIBIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE *Monilinia fructicola* IN VITRO. **Revista de Ciências Agrárias**, [S.L.], p. 761-766, 13 ago. 2019.
- BERGER NETO, A. **Controle do mofo branco: efeito de pontas e volumes de pulverização em soja e produtos biológicos em soja e canola**. 2015. 103 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2015.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, B. S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro: mofo branco. In: KIMATI, H. *et al.* (ed.). **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1997. p. 370-371.

BOLAND, G.J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, [S.L.], v. 16, n. 2, p. 93-108, jun. 1994.

BOLTON, M. D.; THOMMA, B. P. H. J.; NELSON, B. D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, [S.L.], v.11, p.1-16, 2006.

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

BORGES, D. I. *et al.* Efeito de extratos e óleos essenciais de plantas na germinação de uredinósporos de *Phakopsora pachyrhizi*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [S.L.], v. 15, n. 3, p. 325-331, 2013.

CAMOCHENA, R. C. *et al.* Ação de fosfitos de potássio no manejo de mofo branco em soja. **Summa Phytopathologica**, [S.L.], v. 46, n. 3, p. 260-266, set. 2020.

CASTELO, A.V.M.; AFONSO, S.R.; MELO, R.R.; MENEZZI, C.H.s. del; CAMILLO, J.; VIEIRA, R.F. Rendimento e composição química do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Chell, na região do Distrito Federal. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 143-147, 28 mar. 2013.

CASTRO, C de. **Análise técnico-econômica do cultivo e extração do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel**. 2003. 66 f. Tese (Doutorado) - Curso de *Magister Scientiae*., Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

CORREIA, A. M.; PEDRAZZANI, A. S.; MENDONÇA, R. C.; MASSUCATTO, A.; OZÓRIO, R. A.; TSUZUKI, M. Y.. Basil, tea tree and clove essential oils as analgesics and anaesthetics in *Amphiprion clarkii* (Bennett, 1830). **Brazilian Journal of Biology**, [S.L.], v. 78, n. 3, p. 436-442, 27 nov. 2017.

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

COSTA, A. R. T.; AMARAL, M. F. Z. J.; MARTINS, P. M.; PAULA, J. A. M.; FIUZA, T. S.; TRESVENZOL, L. M. F.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [S.L.], v. 13, n. 2, p. 240-245, 2011.

CORTÉS-ROJAS, D. F.; SOUZA, C. R. F. de.; OLIVEIRA, W. P. C. (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 90-96, fev. 2014.

CUNHA, W. G. **Resistência a *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de soja geneticamente modificadas para expressar o gene oxalato descarboxilase de *Flammulina velutipes***. 2010. 96 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biologia Molecular, Universidade de Brasília, Distrito Federal, 2010.

FELIX, A. L. M.; MEDEIROS, I. L.; MEDEIROS, F. D. *Allium sativum*: uma nova abordagem frente a resistência microbiana - uma revisão. **Brazilian Journal Of Health Review**, Curitiba, v. 1, n. 1, p. 201-207, jul./set. 2018.

FELLER, L. A. **Manejo da palhada de cereais de inverno no controle do mofo branco da soja**. 2014. 59 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2014.

FELLER, L. A. *et al.* Management of white mold of soybean using winter cereal straw. **Ciência Rural**, [S.L.], v. 51, n. 2, p. 1-7, 2021.

FERGUSON, L.M.; SHEW, B.B. Wheat straw mulch and its impacts on three soilborne pathogens of peanuts in microplots. **Plant Disease**, v.85, p.661-667, 2001.

FERRAZ, L. C. L. *et al.* Effects of soil moisture, organic matter and grass mulching on the carpogenic germination of sclerotia and infection of bean by *Sclerotinia sclerotiorum* **Plant Pathology**, v.48, p.77-82, 1999.

FERREIRA, A. A. **Efeito da Solarização no controle da podridão de esclerotinia (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) em alface americana (*Lactuca sativa* L.)**. 2000. 60 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

FIALHO, R. de O.; PAPA, M. de F. S. Atividade antifúngica *in vitro* de óleos essenciais sobre *Sphaceloma ampelinum*. **Cultura Agrônômica: Revista de Ciências Agrônômicas**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 63-70, 2 jan. 2015.

FILGUEIRA, Fernando Antonio Reis. Aliáceas: Cebola e outros condimentos. In: FILGUEIRA, Fernando Antonio Reis. **Novo Manual de Olericultura**. 3. ed. Viçosa-MG: UFV, 2007. Cap. 15. p. 255-279.

FONSECA, M.C.M.; LEHNER, M.S.; GONÇALVES, M.G.; PAULA JÚNIOR, T.J.; SILVA, A.F.; BONFIM, F.P.G.; PRADO, A.L. Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatógenos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 45-50, mar. 2015.

FOSTER, A. J.; MCDONALD, M. R.; BOLAND, G. J. Disease progression of sclerotinia rot of carrot, caused by *Sclerotinia sclerotiorum*, from shoot to root before and after harvest. **Canadian Journal of Plant Pathology**, [S.L.], v. 30, n. 2, p. 206-213, abr. 2008.

FRANÇA-NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2018. 109 p. (ISSN 2176-2937).

GRANDI, T. S. M. **Tratado das Plantas Mediciniais**: Mineiras, Nativas e Cultivadas. Belo Horizonte: Adequatio Estúdio, 2014. 1204 p.

GRAF JÚNIOR, A. **Uso de óleos essenciais como controle alternativo do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2018.

GORGEN, C. A. *et al.* **Controle de *Sclerotinia sclerotiorum* com o Manejo de *Brachiaria ruziziensis* e Aplicação de *Trichoderma harzianum***. Goiás: Embrapa, 2008. 4 p. (Circular Técnica 81).

GORGEN, C. A. *et al.* Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [S.L.], v. 44, n. 12, p. 1583-1590, dez. 2009.

HENDGES, C.; STANGARLIN, J. R.; ZAMBAN, V. C.; MASCARO, M. de H. N.; CARMELO, D. B. Antifungal activity and control of the early blight in tomato through tea tree essential oil. **Crop Protection**, [S.L.], v. 148, p. 105728, out. 2021.

ITAKO, A. T. TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; RADUAN, J. L. F. P.; MATTOS, A. do P.; SANTOS, K. L. dos; CIOTTA, M. N. Effect of essential oils on the development of *Colletotrichum sp.* fungus in fragments of *Feijoa sellowiana* fruits. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, PR, v. 43, p. 53055-2, 23 mar. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.4025/actascibiolsci.v43i1.53055>.

JENSEN, B. D. *et al.* Susceptibility of wild carrot (*Daucus carota* spp. *carota*) to *Sclerotinia sclerotiorum*. **European Journal of Plant Pathology**, [S. l.], v. 122, n. 3, p. 359-367, 14 abr. 2008.

JULIATTI, F. C.; JULIATTI, F. C. **Podridão branca da haste da soja: Manejo e uso de fungicidas em busca da sustentabilidade nos sistemas de produção**. Uberlândia: Composer, 2010. 35p.

JULIATTI, F. C. *et al.* Manejo sustentável. **Cultivar- Grandes Culturas**, Pelotas, v. 147. p. 12-18, ago. 2011.

LEITE, R. M. V. B. C; HENNING, A. S. **Ocorrência de doenças causadas por *Sclerotinia sclerotiorum* em girassol e culturas em sucessão**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 41, Londrina, PR, (?). Anais [...]. Londrina: Editora Embrapa, 2008.

LEITE, C. D. *et al.* Extrato de alho no controle *in vitro* e *in vivo* da antracnose da videira. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [S.L.], v. 14, n. 3, p. 556-562, 2012.

LI, H.; ZHOU, M. Rapid Identification of Carbendazim Resistant Strains of *Sclerotinia sclerotiorum* Using Allele-Specific Oligonucleotide (ASO)-PCR. **Scientia Agricultura Sinica**, [S. l.], v. 37, n. 9, p. 1396-1399, 2004.

LINK, H. F.; JOHNSON, K. B. White mold (*Sclerotinia*). **American Phytopathological Society**, 2012. LINK, H. F.; JOHNSON, K. B. White mold (*Sclerotinia*). **American Phytopathological Society**, 2012. Disponível em:
<<https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/fungalasco/pdlessons/Pages/WhiteMold.aspx>>

LOBO JUNIOR, M. *et al.* **Uso de Braquiárias para o Manejo de Doenças Causadas por Patógenos Habitantes do Solo**. Goiás: Embrapa, 2009. 8 p. (Comunicado Técnico 183).

LORINI, A.; BONALDO, S.M.; MENDES, B.L. Efeito Volátil de Óleos Essenciais no Desenvolvimento de Patógenos em Amêndoas de Castanhas-do-Brasil. **Scientia Agraria Paranaensis**, [S. l.], v. 15, n. 2, p. 121-126, 30 jun. 2016.

MARCONDES, M. M.; MARCONDES, M. M.; BALDIN, I.; MAIA, A.J.; LEITE, C. D.; FARIA, C. M. D. R. Influência de diferentes extratos aquosos de plantas medicinais no desenvolvimento de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Fusarium moniliforme*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [S. l.], v. 16, n. 4, p. 896-904, dez. 2014.

MARQUES, J. S. **Composição química e atividade antifúngica do óleo essencial das folhas de *Psidium guajava* no controle de *Sclerotinia sclerotiorum***. 2014. 96 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biologia., Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, Goiânia-Go, 2014.

MARTINS, J. A. S.; SAGATA, E.; ARAÚJO SANTOS, V.; CÉSAR JULIATTI, F. Avaliação do efeito do óleo de melaleuca sobre o crescimento micelial in vitro de fungos fitopatogênicos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, MG, v. 27, n. 1, p. 49–51, 2011.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasileira de Botânica**, [S. l.], v. 26, n. 2, p. 231-238, jun. 2003.

MEYER, M. C. **Ensaio cooperativo de controle químico de mofo-branco em soja**: Relatório Técnico Final. Londrina: EMBRAPA. 2012. 3 p.

MEYER, M. C. *et al.* (ed.). **Ensaio cooperativo de controle químico de mofo branco na cultura da soja**: safras 2009 a 2012. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 100 p. (Documento 345).

MEYER, M. C.; GODOY, C. V. Combate ao mofo-branco na lavoura de soja. **A Granja**, v. 809, p. 49-51, 2016.

MEYER, M. C. *et al.* **Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2016/17**: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina: Embrapa Soja, 2017. 5 p. (Circular Técnica 133).

MEYER, M. C. *et al.* **Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2017/18**: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. Londrina: Embrapa, 2018. 6 p. (Circular Técnica 140).

MEYER, M. C. *et al.* **Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2020/2021: resultados sumarizados dos experimentos cooperativos.** Londrina: Embrapa, 2021. 10 p. (Circular Técnica 173).

MORAIS, L. A. S. de. Óleos Essenciais no Controle Fitossanitário. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A. B. (ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: usos e perspectivas.** Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 139-150. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/17182/1/livro_biocontrole.pdf.

NEVES, L. M.; VIEIRA, G. H. C. Efeito de óleos essenciais isolados de feijão sobre *Sclerotinia sclerotiorum* e determinação dessas substâncias na qualidade fisiológica e sanitária das sementes. **Rev. Bras. Pl. Med.**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 197-204, nov. 2017.

OJAGHIAN, S.; WANG, L.; XIE, G.; ZHANG, J. Inhibitory efficacy of different essential oils against storage carrot rot with antifungal and resistance-inducing potential. **Journal of Phytopathology**, [S.L.], v. 167, n. 9, p. 490-500, 4 jun. 2019.

OLIVEIRA, M. I.; SCHNEIDER, M.; DA ROSA, M. B.; DA SILVA, C. M.; MORAES, M. S. A.; SCHNEIDER, R. DE C. DE S.; KIST, L. T. Extração e caracterização do óleo essencial de melaleuca e desenvolvimento de uma formulação semi-sólida de uso tópico. **Revista Jovens Pesquisadores**, v. 5, n. 1, 3 jun. 2015.

PANSERA, M. R. *et al.* Controle alternativo do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary causador da podridão de *Sclerotinia*, com óleos essenciais e extratos vegetais. **Rev. Bras. de Agroecologia.**, [S.L.], v. 3, n. 7, p. 126-133, 2012.

PORTELLA, J.; CORBELLINI ORLANDI, R.; ALMEIDA, J.; KOEFENDER, J. .; SCHOFFEL, A.; NICOLODI CAMERA, J. Óleos essenciais no controle *in vitro* de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Revista Thema**, [S. L.], v. 19, n. 3, p. 615–622, 2021.

PURDY, L. H. *Sclerotinia sclerotiorum*: History, diseases and pathology of symptoms, host range, geographic distribution, and impact. **Phytopathology** **69**, Gainesville, v. 69, n. 08, p. 875-880, 1979.

QUEIROZ, T. N. *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**, [S.L.], v. 13, n. 2, p. 737-753, 11 abr. 2020.

RAMOS, K. **Óleos essenciais no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*.** 2014. 52 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Ambientais, Universidade Camilo Castelo Branco, Fernandópolis, 2014.

RASHAD, Y. M.; RAZIK, E. S. A.; DARWISH, D. B. Essential oil from *Lavandula angustifolia* elicits expression of three SbWRKY transcription factors and defense-related genes against sorghum damping-off. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 1-15, 17 jan. 2022.

RICARDO, T. R.; WANDER, A. E.; LOBO JUNIOR, M. **Custos associados ao mofo branco (*Sclerotinia esclerotiorum*) em feijoeiro comum de 3ª safra em Goiás**. Campinas: IAC, 2008. 4 p. (Documento 85).]

ROSADO, L.D.; RODRIGUES, H.C.A.; PINTO, J.B.P.; CUSTÓDIO, T.N.; PINTO, L.B.B.; BERTOLUCCI, S.K.V. Alelopatia do extrato aquoso e do óleo essencial de folhas do manjeriço. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [S.L.], v. 11, n. 4, p. 422-428, 2009.

SANTOS, T. A. F. dos. **Extração, caracterização e aplicações do óleo essencial do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*)**. 2014. 65 f. Monografia (Especialização) - Curso de Processos Químicos, Faculdade de Pindamonhangaba, Pindamonhangaba, 2014.

SANTOS, G. C. **Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais no controle do fungo *Sclerotium rolfii* na cultura do tomate**. 2016. 35 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitiba, 2016.

SCHWARTZ, H. F.; SINGH, S. P. Breeding Common Bean for Resistance to White Mold: a review. **Crop Science**, [S.L.], v. 53, n. 5, p. 1832-1844, set. 2013.

SIEGA, T. de C.; BERNARDI, C.; REY, M. dos S.; WAGNER JUNIOR, A. .; PIETROBOM, J. H. .; MAZARO, S. M. Control of mycelial and carpogenic germination of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with essential oils from 17 plant species. **Research, Society and Development**, [S. L.], v. 9, n. 12, p. e11991210844, 2020.

SIEGA, T. de C. .; BERNARDI, C. .; REY, M. dos S.; WAGNER JUNIOR, A. .; PIETROBOM, J. H. .; MAZARO, S. M. Produção de enzimas extracelulares de *Sclerotinia sclerotiorum* sob o efeito dos óleos essenciais de *Casearia sylvestris*, *Eugenia uniflora* e *Melaleuca latifolia*. **Brazilian Journal of Development**, [S.L.], v. 6, n. 8, p. 59481-59490, 2020.

SILVA, A. A. da. **Caracterização de organossulfurados em diferentes cultivares de alho (*Allium sativum* L.) e cebola (*Allium cepa* L.)**. 2009. 135 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.

SILVA, A. C. *et al.* Efeito *in vitro* de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz: isolado do maracujazeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, p. 1853-1860, 2009.

SILVA, G. L. da. **Avaliação da atividade antioxidante, anti-inflamatória e antinociceptiva do óleo essencial de lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill)**. 2009. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia Celular e Molecular., Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porta Alegre, 2009.

SILVA, E. A. J. da. **Composição química e atividade antifúngica do óleo essencial das folhas de *Psidium guajava* no controle de *Sclerotinia sclerotiorum***. 2020. 37 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Instituto Federal Goiano, Rio Verde, 2020.

- SILVA, C. J. da. **Morfoanatomia foliar e composição química dos óleos essenciais de sete espécies de *Melaleuca L.* (Myrtaceae).** 2007. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de *Magister Scientiae*, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.
- SILVEIRA S.M., CUNHA J. R. A.; SCHEUERMANN G.N.; SECCHI F.L.; VERRUCK S.; KROHN M.; VIEIRA, C. R.W. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (citronela), *Eucalyptus paniculata* (eucalipto) e *Lavandula angustifolia* (lavanda). **Rev Inst Adolfo Lutz.** São Paulo, 2012; 71(3):471-80.
- SOUZA, L. S. S.; SOARES, A. C. F. Extrato aquoso de alho (*Allium sativum L.*) no controle de *Aspergillus niger* causador da podridão vermelha em sisal: Santa Cruz do Sul. **Tecnológica**, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 124-128, jul/dez. 2013.
- SOUZA, S.M. C. de; PEREIRA, M. C.; ANGÉLICO, C. L.; PIMENTA, C. J. Avaliação de óleos essenciais de condimentos sobre o desenvolvimento micelial de fungos associados a produtos de panificação. **Ciência e Agrotecnologia**, [S.L.], v. 28, n. 3, p. 685-690, jun. 2004.
- SOYLU, E.M.; KURT, S.; SOYLU, S. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 143, p. 183-9, 2010.
- STEFFEN, G.; MALDANER, J.; STEFFEN, R.; MISSIO, E.; MEZZOMO, R. Controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium sp.* com óleo essencial de melaleuca. **Enciclopédia Biosfera**, [S.L.], v. 16, n. 30, p. 683-694, 15 dez. 2019.
- TUPICH, F. L. B. *et al.* Impacto do controle do mofo-branco com fluazinam na produtividade da soja no Sul do Paraná: metanálise. **Summa Phytopathologica**, [S.L.], v. 43, n. 2, p. 145-150, jun. 2017.
- TOMAZONI, E. Z. *et al.* Atividade antifúngica do óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum* Ness sobre fungos fitopatogênicos do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Cadernos de Agroecologia**, [S.L.], v. 8, n. 2, p. 1-5. dez. 2013.
- VENTUROSOS, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L.; CONUS, L.A.; PONTIM, B.C.A.; BERGAMIN, A.C. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, [S.L.], v. 37, n. 1, p. 18-23, mar. 2011.
- VENTUROSOS, L. R. *et al.* Produção de soja e germinação carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum* sob diferentes coberturas de solo. **Semina: Ciências Agrárias**, [S.L.], v. 34, n. 2, p. 615-626, 17 mai. 2013.
- VIEGAS, E. C.; SOARES, A.; CARMO, M. G. F.; ROSSETTO, C. A. V. Toxicidade de óleos essenciais de alho e casca de canela contra fungos do grupo *Aspergillus flavus*. **Horticultura Brasileira**, [S.L.], v. 23, n. 4, p. 915-919, dez. 2005.
- YOUNG, C. S. *et al.* Environmental conditions influencing *Sclerotinia sclerotiorum* infection and disease development in lettuce. **Plant Pathology**, [S.L.], v. 53, n. 4, p. 387-397, ago. 2004.

ZHANG, M.; GE, J.; YU, X. Transcriptome Analysis Reveals the Mechanism of Fungicidal of Thymol Against *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. **Current Microbiology**, [S.L.], v. 75, n. 4, p. 410-419, 17 nov. 2017.