

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL
CÂMPUS DOIS VIZINHOS

THAYLLANE DE CAMPOS

**EFEITO DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE A GERMINAÇÃO
MICELIOGÊNICA E CARPOGÊNICA DE *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.)
De Bary**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS
2015

THAYLLANE DE CAMPOS

**EFEITO DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE A GERMINAÇÃO
MICELIOGÊNICA E CARPOGÊNICA DE *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.)
De Bary**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Engenharia Florestal da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Florestal.

Orientador: Prof. Dr. Maristela dos Santos Rey Borin.

DOIS VIZINHOS
2015

C198e Campos, Thayllane.

Efeito de óleos essenciais sobre germinação miceliogênica e carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary / Thayllane de campos – Dois Vizinhos : [s.n], 2015.
55f.:il.

Orientadora: Maristela dos Santos Rey Borin
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) –
Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curso de Engenharia Florestal. Dois Vizinhos, 2015.
Bibliografia p.48-55

1. *Sclerotinia*. 2. Germinação 3. Pragas agrícolas- Controle I.Borin, Maristela dos Santos Rey, orient. II. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Dois Vizinhos.III.Título

CDD: 632.603

Ficha catalográfica elaborada por Rosana Oliveira da Silva CRB: 9/1745

Biblioteca da UTFPR-Dois Vizinhos



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Dois Vizinhos

Curso de Engenharia Florestal



TERMO DE APROVAÇÃO

Título do Trabalho de Conclusão de Curso

Efeito de óleos essenciais sobre a germinação miceliogênica e carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum* (lib.) De bary

por

Thayllane de Campos

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 25 de novembro de 2015 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal. O(a) candidato(a) foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Maristela dos Santos Rey Borin
Orientador(a)

Prof. Dr. Sérgio Miguel Mazaró
Membro titular (UTFPR)

Prof. Dr. Marciele Felippi
Membro titular (UTFPR)

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida e por ter me dado saúde e força para superar dificuldades.

Aos meus pais, Jurandir de Campos e Loana Mendes da Silva de Campos, sinônimos de sabedoria, humildade e dignidade, pelo amor incentivo e apoio incondicional.

Aos meus irmãos Thallana de Campos que foi de grande importância para amenizar a saudade da família, tela ao meu lado nesse tempo de graduação foi fundamental e Gabriel Athaur de Campos, por acreditarem em minha capacidade, assim como eu acredito na de vocês, e pela amizade de sempre.

A minha orientadora Maristela Rey Borin, pela experiência, suporte, orientação, correções, incentivos e amizade.

A minha colega de laboratório Caliandra Bernardi, por toda ajuda apoio e amizade durante o desenvolvimento desse trabalho.

Aos meus colegas Nean Locateli e Marco Machado, por toda ajuda e suporte.

A minha colega Jéssica Batista da Mata, pelos 5 anos de amizade e apoio.

Ao meu namorado, Emerson Luis Siega pelo companheirismo, compreensão, fidelidade, incentivo e amizade.

A família Siega, que foram muito importantes para que eu conseguisse chegar até aqui.

A esta universidade, seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram a janela que vislumbro um horizonte superior.

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

RESUMO

CAMPOS, Thayllane. **Efeito de óleos essenciais sobre a germinação miceliogênica e carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum* (lib.) de bary**. 2015. 42p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Florestal) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2015.

A *Sclerotinia sclerotiorum* é um fitopatógeno que causa a doença conhecida como podridão de esclerotinia, presente em inúmeras culturas. No Brasil, a lista de espécies hospedeiras é bastante extensa, incluindo culturas de grande expansão econômica como a soja, feijão, batata, tomate entre outros. Para um maior aprofundamento do conhecimento da biologia do fitopatógeno, uma ferramenta importante é a avaliação da viabilidade dos escleródios por meio das germinações miceliogênica e carpogênica. O objetivo do trabalho foi verificar o potencial de óleos essenciais sobre a germinação miceliogênica e carpogênica de *S. sclerotiorum*. Os tratamentos foram constituídos pelo tratamento por volatilização e imersão de 17 óleos essenciais aplicados nos escleródios. A viabilidade dos mesmos foi realizada através da indução das germinações miceliogênica e carpogênica. A germinação miceliogênica foi feita em meio BDA e a incubação foi realizada em câmara de crescimento do tipo BOD a 18 °C e fotoperíodo de 12 horas. As avaliações das germinações foram realizadas às 24, 48, 72 e 96 horas após o início da incubação. A germinação carpogênica foi induzida em solo esterilizado e a incubação foi realizada em câmara de crescimento com temperatura de 18 °C ± 2 oC, fotoperíodo de 12 horas e umidade do solo a 100 % da capacidade de campo. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições para os dois experimentos. Cada experimento constou de um fatorial duplo, sendo estes considerados qualitativos, com 19 níveis. Os dados obtidos foram submetidos à análise de médias pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade de erro. Os resultados demonstram que os óleos essenciais que obtiveram efeito fungicida inibindo a germinação miceliogênica dos escleródios no efeito tratado foram Atermisia e Melaleuca. E em ambos os efeitos tanto tratado quanto volátil foram o Louro, Capim limão, Canela e Guaçatonga. Para a germinação carpogênica dos escleródios na emissão de estipes os óleos de Tangerina, Gengibre e Priprioca inibiram totalmente a germinação de estipes no efeito tratado. Já a Canela, Pitanga e a Guaçatonga inibiram a germinação nos dois efeitos. Na emissão de apotécios os óleos de Tomilho e a Pimenta Rosa demonstram efeito fungicida no efeito Volátil. Os óleos de Louro, Tangerina cravo e o Gengibre também inibiram a emissão de apotécios, porém estes no efeito Tratado. Os óleos que foram fungicidas nos dois deferentes efeitos foram a Laranja Pêra, Cravo, Eucalipto, Goiaba, Capim limão, Priprioca, Canela, Pitanga e Guaçatonga. Os óleos essenciais em sua maioria foram mais eficazes que as testemunhas na inibição da germinação carpogênica dos escleródios.

Palavras-chave: Escleródios. Óleo essencial. Germinação miceliogênica e carpogênica. Controle alternativo.

ABSTRACT

CAMPOS, Thayllane . **Essential oils as an alternative control of the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* (lib .)** Of bary in carpogenic germination. 2015. 42p . Work Completion of course (Diploma in Forestry) - Federal Technological University of Paraná . Dois Vizinhos, 2015 .

The *Sclerotinia sclerotiorum* is a plant pathogen that causes the disease known as rot esclereotinia, present in many cultures. In Brazil, the list of host species is quite extensive, including crops of great economic expansion such as soy, beans, potatoes, tomatoes and more. For further development of knowledge of pathogen biology, an important tool is the evaluation of the viability of sclerotia through miceliogênica and carpogenic germination. The objective was to verify the potential of essential oils on the miceliogênica and carpogenic germination of *S. sclerotiorum*. The treatments were constituted by treatments of volatilization and immersion 17 essential oils applied to the sclerotia. The viability of the sclerotia was carried out by induction of miceliogênica carpogenic and germination. The miceliogênica germination was done on PDA medium and incubation was performed in a growth chamber the BOD to 18° C and 12 hour of photoperiod. The evaluations of germination were performed at 24, 48, 72 and 96 hours after the start of incubation. The carpogenic germination was induced in sterilized soil and incubation was conducted in a growth chamber with temperature of 18° C ± 2° C, 12 hours of photoperiod and soil moisture 100% of field capacity. The experimental design was completely randomized with four replicates for both experiments. Each experiment consisted of a double factor, which are considered qualitative, with 19 levels. The obtained data were submitted to analysis of average by Scott Knott test at 5% error probability. The results show that essential oils that had fungicidal effect by inhibiting the miceliogênica germination of sclerotia in the treated effect are atermisia and melaleuca. And both effects treated and volatile was the laurel, lemon grass, cinnamon and guacatonga. To the carpogenic germination of sclerotia in emission of stems the tangerine, ginger and priprioica oils inhibited completely the stems germination in the treated effect. Already cinnamon, surinam cherry and guacatonga inhibited the germination in two effects. In the apothecia emission, thyme and pink pepper oils show fungicidal effect in the volatile effect. The laurel, tangerine, clove and ginger oils also inhibited the issuance of apothecia, but these in the treated effect. Oils were fungicides in two different effects were the pear orange, clove, eucalyptus, guava, lemon grass, priprioica, cinnamon, surinam cherry and guacatonga. The most part of essential oils were more effective than the witnesses in inhibiting carpogenic germination of sclerotia.

Keywords: Sclerotia . Essential oil. Miceliogênica and carpogenic germination. Alternative control.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Fotografia 1: Imagem aérea da utfpr, Dois Vizinhos..... | 25 |
| Fotografia 2- A – Colônia pura de <i>S. sclerotiorum</i> ; B – Retirada de discos de micélio. C - Transferência de discos de micélio..... | 26 |
| Fotografia 3- A – Sacos de polipropileno com espessura de 30 micra; B - Autoclave a temperatura de 121°C..... | 27 |
| Fotografia 4- A – Padronização do tamanho dos escleródios com um escalimêtro variando entre 1 a 2 mm de diâmetro;B – Escleródios selecionados..... | 28 |
| Fotografia 5- A – Preparo do meio de cultura BDA, batata dextrose ágar; B – Meio sendo autoclavado; C– Meio de cultura sendo vertido; D– Escleródios dispostos na placa para efeito volátil com papel filtro na tampa..... | 29 |
| Fotografia 6- A – Efeito 01 escleródios Tratados; B – Efeito 02 Volátil..... | 30 |
| Fotografia 7: A: avaliação 96h, placa Testemunha; B: avaliação 96h placa Testemunha/Tuim; C: Avaliação 96h Canela Tratado; D: avaliação 96h Canela Volátil..... | 33 |
| Fotografia 8: A: presença de 1 estipe; B: presença de 11 estipes; C: presença de 3 apotécios; D; presença de 5 apotécios..... | 45 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | |
|--|----|
| Gráfico 1. Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de testemunha sob os efeitos volátil e ratado..... | 35 |
| Gráfico 2. Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de testemunha com tuim sob os efeitos volátil e tratado..... | 35 |
| Gráfico 3. Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de laranja pêra sob os efeitos volátil e tratado. | 35 |
| Gráfico 4 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de cravo sob os efeitos volátil e tratado. | 35 |
| Gráfico 5 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de eucalipto citriodora sob os efeitos volátil e tratado. | 36 |
| Gráfico 6 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de tomilho sob os efeitos volátil e tratado. | 36 |
| Gráfico 7 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de louro sob os efeitos volátil e tratado. | 36 |
| Gráfico 8 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de goiaba sob os efeitos volátil e tratado..... | 36 |
| Gráfico 9 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de limão tahiti sob os efeitos volátil e tratado. | 36 |
| Gráfico 10 – Regressão do óleo essencial de artemisia com tuim sob os efeitos volátil e tratado..... | 36 |
| Gráfico 11 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de pimenta rosa sob os efeitos volátil e tratado.. | 37 |
| Gráfico 12 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de melaleuca sob os efeitos volátil e tratado. | 37 |
| Gráfico 13 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de tangerina cravo sob os efeitos volátil e tratado. | 37 |

| | |
|--|----|
| Gráfico 14 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de gengibre sob os efeitos volátil e tratado. | 37 |
| Gráfico 15 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de capim limão sob os efeitos volátil e tratado. | 37 |
| Gráfico 16 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de priprioca sob os efeitos volátil e tratado. Volátil e tratado. | 37 |
| Gráfico 17 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de canela sob os efeitos volátil e tratado. Volátil e tratado. | 38 |
| Gráfico 18 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de pitanga sob os efeitos volátil e tratado. Volátil e tratado..... | 38 |
| Gráfico 19 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de guaçatonga sob os efeitos volátil e tratado. Volátil e tratado. | 38 |
| Gráfico 20 – Percentual de escleródios que emitiram apotécios nos diferentes tratamentos e nos diferentes efeitos, tratado e volátil. | 45 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Média percentual de germinação miceliogênica dos escleródios tratamentos em diferentes tempos..... | 33 |
| Tabela 2. Número médio de estipes germinados por escleródios nos diferentes efeitos..... | 39 |
| Tabela 3. Número médio de estipes germinados e apotécios formados por escleródios e estipes nos tratamentos em diferentes tempos..... | 40 |
| Tabela 4. Média percentual de escleródios viáveis na germinação de estipes e na formação de apotécios..... | 43 |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 12 |
| 1.1 OBJETIVOS | 13 |
| 1.1.1 Objetivo Geral | 13 |
| 1.1.2 Objetivos Específicos | 13 |
| 1.2 JUSTIFICATIVA | 14 |
| 2 REFERENCIAL TEÓRICO | 15 |
| 2.1 CARACTERIZAÇÃO DO FUNGO <i>S. sclerotiorum</i> | 15 |
| 2.2 CONTROLE ALTERNATIVO DE PATÓGENOS ATRAVÉS DE ÓLEOS ESSENCIAIS..... | 16 |
| 2.2.1 Óleo essencial de <i>Citrus sinensis</i> (Laranja pera) | 17 |
| 2.2.2 Óleo essencial de <i>Syzygium aromaticum</i> (Cravo)..... | 18 |
| 2.2.3 Óleo essencial de <i>Eucalyptus citriodora</i> (Eucalipto)..... | 18 |
| 2.2.4 Óleo essencial de <i>Thymus vulgaris</i> (Tomilho)..... | 19 |
| 2.2.5 Óleo essencial de <i>Cinnamomum canphora</i> (Louro) | 19 |
| 2.2.6 Óleo essencial de <i>Citrus reticulata</i> (Tangerina cravo)..... | 20 |
| 2.2.7 Óleo essencial de <i>Melaleuca alternifolia</i> (Melaleuca)..... | 20 |
| 2.2.8 Óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> (Capim limão)..... | 21 |
| 2.2.9 Óleo essencial de <i>Schinus terebenthifolia</i> Raddi (Pimenta rosa)..... | 21 |
| 2.2.10 Óleo essencial de <i>Psidium guajava</i> (Goiaba)..... | 22 |
| 2.2.11 Óleo essencial de <i>Eugenia uniflora</i> (Pitanga)..... | 22 |
| 2.2.12 Óleo essencial de <i>Casearia sylvestris</i> (Guaçatonga)..... | 23 |
| 2.2.13 Óleo essencial de <i>Artemisia camphorata</i> (Artemisia)..... | 23 |
| 2.2.14 Óleo essencial de <i>Citrus latifolia</i> (Limão Thaiti)..... | 24 |
| 2.2.15 Óleo essencial de <i>Cyperus articulatus</i> L. (Priprioca)..... | 24 |
| 2.2.16 Óleo essencial de <i>Cynnamomum zeylanicum</i> (Canela) | 24 |
| 2.2.17 Óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> (Gengibre)..... | 25 |
| 3 MATERIAIS E MÉTODOS | 26 |
| 3.1 LOCAL DO EXPERIMENTO | 26 |
| 3.2 OBTENÇÃO E PRODUÇÃO DE ESTRUTURAS DE RESISTÊNCIA | 26 |
| 3.3 AUTOCLAVAGEM DO SOLO | 27 |
| 3.4 TRATAMENTOS | 28 |
| 3.5 PADRONIZAÇÃO NO TAMANHO DOS ESCLERÓDIOS | 29 |
| 3.6 VIABILIDADE DOS ESCLERÓDIOS..... | 29 |
| 3.7 GERMINAÇÃO MICELIOGÊNICA | 29 |
| 3.8 GERMINAÇÃO CARPOGÊNICA | 31 |
| 3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS | 32 |
| 4 RESULTADOS E DISCUÇÃO | 33 |
| 4.1 EXPERIMENTO 1- GERMINAÇÃO MICELIOGÊNICA | 33 |
| 4.2 EXPERIMENTO 2- GERMINAÇÃO CARPOGÊNICA | 40 |
| 4.2.1 Germinação de estipes e apotécios | 40 |
| 4.2.2 Viabilidade de escleródios e estipes..... | 43 |
| 5 CONCLUSÕES | 47 |
| 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS | 48 |
| REFERÊNCIAS | 49 |

1 INTRODUÇÃO

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary é causador da doença conhecida por mofo-branco, que ataca inúmeras culturas. No Brasil, a lista de espécies hospedeiras é bastante extensa, incluindo um grande número de hortaliças, tais como cenoura, batata, tomate, pimentão, berinjela e algumas folhosas (MENDES et al., 1998 p. 569), causando perdas de até 100% (SAHARAN; MEHTA, 2008 p. 486).

Considerado um dos patógenos mais importantes no mundo, *S. sclereotiorum* está distribuído em todas as regiões produtoras, sejam elas temperadas, subtropicais ou tropicais (LEITE, 2005 p. 3). Tendo como sintomas a murcha, o tombamento, o escurecimento da região do colo da planta e a podridão de raízes, sendo que as partes afetadas podem exibir um micélio branco de aspecto cotonoso, junto à superfície do solo.

Com o avanço da doença, observa-se a formação dos escleródios no solo, responsáveis por sua disseminação, na qual são esféricos (2 mm de diâmetro), rígidos, inicialmente de coloração branca, e, posteriormente, tornam-se marrons (INSTITUTO BIOLÓGICO, 2015).

Os escleródios desempenham papel muito importante no ciclo de vida de *S. sclerotiorum*, visto que são precursores dos apotécios, onde são formados os ascósporos que, em condições ideais, podem infectar plantios e constituir um problema sério quando instalados em solos contaminados e sob condições de temperatura amena (15°C a 21°C) e alta umidade do solo (REIS; LOPES, 2007).

Vários fatores influenciam a germinação dos escleródios desse fungo, tais como: os nutrientes do substrato no qual o escleródio é formado, a idade dos escleródios, os fatores ambientais como umidade, temperatura, luz, pH do solo, aeração e a profundidade na qual o escleródio se encontra no solo (WILLETS & WONG 1980, PHILLIPS 1987 p. 102).

O estudo desses fatores, principalmente os relacionados com o solo, é de grande relevância, uma vez que aproximadamente 90% do ciclo de vida de *Sclerotinia spp.* ocorre no solo (ADAMS & AYERS, 1979 p. 896).

O controle de mofo-branco causado por *S. sclerotiorum* é muito difícil, devido à capacidade que o fungo tem de formar estruturas de resistência que permanecem no solo por mais de cinco anos (BARRETO, 1997 p. 77), sendo que o controle da doença é baseado no manejo cultural, de forma a reduzir o potencial de inóculo, uma vez que, por se tratar de um

patógeno de solo, o uso de fungicidas químicos, além de dispendioso, não apresenta resultados satisfatórios.

Para o controle desta doença, os agricultores vêm utilizando vários fungicidas, sendo que ocorreu um aumento no consumo de agrotóxicos de 700% nos últimos quarenta anos, enquanto a área agrícola aumentou 78% nesse período. Como consequências deste aumento, temos a contaminação do solo, da água, dos alimentos e dos ecossistemas (CAMPANHOLA, 2003 p. 279). Sendo assim uma alternativa para o manejo ecológico de doenças é a substituição dos agrotóxicos por compostos naturais obtidos de plantas (SCHWAN-ESTRADA, 2003 p. 556), sendo que os óleos essenciais e extratos vegetais atuam como fungicidas naturais inibindo a atividade fúngica (STANGARLIN, 1999 p.18; ATTI-SANTOS, 2010 p. 564).

Pesquisas relacionadas ao potencial fungitóxico de substâncias naturais são de extrema importância, o que poderia contribuir no controle de doenças nas plantas, não havendo relatos de controle de *Sclerotinia* com o uso de óleos essenciais.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

- Avaliar o efeito de óleos essenciais sobre a germinação miceliogênica e carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum* (lib.) De bary

1.1.2 Objetivos Específicos

- avaliar o efeito dos óleos essenciais de Artemisia; Canela; Capim limão; Cravo; Eucalipto citriodora; Gengibre; Goiaba; Guacatonga; Laranja peira; Limão tahiti; Louro; Melaleuca; Pimenta rosa; Pitanga; Pripioica; Tangerina cravo e Tomilho com possível potencial antifúngico, contra o patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary;

- avaliar o efeito de diferentes óleos essenciais sobre a germinação miceliogênica e carpogênica de *S. sclerotiorum*;
- eleger os melhores, ou melhor óleo essencial na inibição da germinação miceliogênica e carpogênica como potencial de utilização em manejo agroecológico de doenças.

1.2 JUSTIFICATIVA

O patógeno *S. sclerotiorum* é um fungo que sobrevive no solo, produz escleródios e causa a doença conhecida como mofo branco em diversas culturas, dessa forma tornam-se necessárias medidas de controle da doença.

Como *S. sclerotiorum* é um fungo de difícil controle, bem como o seu manejo é realizado através do controle químico, torna-se viável a sua inativação através do uso de óleos essenciais que surgem como opção para que sejam mais eficientes e que não provoquem fitotoxidez.

O objetivo final desse trabalho é obter, através de diferentes óleos essenciais, uma tecnologia que possa ser repassada para pequenos produtores rurais, ou aqueles interessados no "cultivo orgânico", onde formas alternativas de controle de doenças são necessárias. Por outro lado, além desses benefícios no controle fitossanitário, o produtor rural teria a sua disposição um novo produto para comercialização, ou seja as próprias plantas medicinais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CARACTERIZAÇÃO DO FUNGO *S. sclerotiorum*

Segundo Purdy (1979 p. 875) o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* foi descrito pela primeira vez por De Bary, em 1884, porém o primeiro registro de ocorrência deste patógeno no Brasil foi feito em 1921, na cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.), no estado de São Paulo (CHAVES, 1964 p. 64; JULIATTI, 2010 p. 31). A *S. sclerotiorum* é o agente etiológico do mofo branco da soja, contudo, a doença recebe outras denominações, dentre elas: podridão da haste de esclerotinia, ou podridão branca de esclerotinia (PURDY, 1979 p. 876). Esse fungo se enquadra taxonomicamente no Reino Fungi, Filo Ascomycota, Classe Discomycetes, Ordem Helotiales e Família Sclerotiniaceae (AGRIOS, 1997; HAWKSWORTH et al., 1995 p. 616), sendo que esta última caracteriza-se pela produção, no ciclo sexual, de apotécios com estipes, a partir da germinação dos escleródios (BOLTON et. al 2006 p. 16).

O fungo *S. sclerotiorum* possui uma ampla gama de hospedeiros, atacando mais de 75 famílias, 278 gêneros e 408 espécies de plantas (DEMANT, 2010; JULIATTI, 2010 p. 31), sendo que diversos destes, plantas infestantes. Rocha (2007, p. 25) descreve a capacidade desse fungo de formar escleródios, que são estruturas de resistência que garantem a sobrevivência do mesmo perante condições adversas do solo. Sendo que essas estruturas podem permanecer viáveis conservando intacto seu poder patogênico por vários anos, mesmo na ausência de plantas hospedeiras. No ciclo de vida de *S. sclerotiorum* os escleródios desempenham papel muito importante, pois são os precursores dos apotécios, onde são formados os ascósporos que, em condições ideais, podem infectar o feijoeiro, principalmente pelas flores. As flores do feijoeiro servem como fonte básica de nutrientes para iniciar as infecções por esporos (HUINTER et al. 1978, p. 633).

Vários fatores influenciam a germinação dos escleródios desse fungo, tais como: os nutrientes do substrato no qual o escleródio é formado, a idade dos escleródios, os fatores ambientais como umidade, temperatura, luz, pH do solo, aeração e a profundidade na qual o escleródio se encontra no solo (WILLETS & WONG 1980, p. 105, PHILLIPS 1986, p. 279).

Os escleródios podem germinar de forma miceliogênica ou carpogênica. Enquanto que na forma miceliogênica há a produção de micélio hialino e septado, já na forma carpogênica, o escleródio pode produzir um ou mais apotécio.

O controle da podridão branca da haste é considerado difícil devido ao elevado número de ascósporos produzidos por apotécio e sua rápida e longa disseminação a partir da fonte produtora, sobrevivência em sementes na forma de micélio dormente ou escleródios aderidos as mesmas e a falta de informações sobre o controle biológico e químico para a cultura da soja.

O apotécio libera ascósporos continuamente por 2 a 17 dias, com uma média de 9 dias. A produção máxima de ascósporos ocorre num intervalo de 2 a 3 dias entre o quarto e nono dia de vida ativa do apotécio. O total de ascósporos produzidos por um apotécio atinge ao redor de dois milhões.

Existem controvérsias quanto ao período de viabilidade dos escleródios no solo. Segundo Rocha (2007, p. 25), tais estruturas podem permanecer por até 11 anos no solo, conservando intacto seu poder patogênico, já Reis e Tomazini (2005, p. 97) afirmam que a viabilidade dos escleródios é de aproximadamente 14 meses em sistema de semeadura direta e de 36 meses em semeadura convencional.

2.2 CONTROLE ALTERNATIVO DE PATÓGENOS ATRAVÉS DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Simões et al. (2004, p. 1102) definem os óleos essenciais, de acordo com a ISO (*International Standard Organization*), como produtos obtidos de partes de plantas por meio de destilação por arraste com vapor d'água, bem como os produtos obtidos por expressão dos pericarpos de frutos cítricos. De maneira geral, são misturas de substâncias orgânicas voláteis, de consistência semelhante ao óleo, definíveis por um conjunto de propriedades, entre as quais se destacam volatilidade, aroma agradável, solubilidade em solventes orgânicos apolares, entre outras.

Recentemente, extraídos eles são incolores ou ligeiramente amarelados; porém, alguns podem apresentar coloração intensa, como o óleo essencial de mil-folhas, de coloração azulada, pelo seu alto teor em azulenos.

Os óleos essenciais em vegetais desenvolvem funções relacionadas com sua volatilidade, agindo na atração de polinizadores, na proteção contra predadores, patógenos, perda de água, aumento de temperatura e também desempenhando funções ecológicas, especialmente como inibidores de germinação. Sendo que essas características tornam as plantas que os produzem poderosas fontes de agentes biocidas, sendo largamente estudadas na

agricultura, principalmente devido às atividades bactericidas, inseticidas e fungicidas (SIMÕES et al., 2004 p. 1102).

A constituição química desses óleos é muito variada, incluindo hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas e cumarinas, até compostos com enxofre. No entanto, a maioria é constituída de derivados de fenilpropanóides ou de terpenóides, sendo esses últimos preponderantes na forma de monoterpenos e sesquiterpenos (SIMÕES et al., 2004 p. 103; TAIZ & ZEIGER, 2004 p. 719).

Os óleos essenciais, também conhecidos como óleos voláteis, óleos etéreos ou simplesmente essências, são definidos pela *International Standard Organization* (ISO) como produtos obtidos de partes das plantas, através da destilação por arraste com vapor d'água, bem como produtos obtidos por expressão dos pericarpos de frutos cítricos. São misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas (SIMÕES & SPITZER, 1999 p. 103). As denominações dadas a estes óleos são devidas às suas características físico-químicas. São considerados óleos por serem, geralmente, líquidos de aparência oleosa à temperatura ambiente; por apresentarem volatilidade, recebem ainda o nome óleos voláteis; e são chamados de essências, devido ao aroma agradável e intenso da maioria de seus representantes.

2.2.1 Óleo essencial de *Citrus sinensis* (Laranja pera)

O óleo de laranja é uma mistura complexa que chega a conter até 300 diferentes compostos químicos que se dividem em duas frações, a não volátil composta principalmente por carotenóides, flavonóides e coumarinas; e a volátil composta por aldeídos; cetonas; hidrocarbonetos terpênicos, como limoneno, mirceno e valenceno; álcoois, como linalol, e ésteres. Óleos essenciais de cítricos são encontrados em glândulas localizadas na superfície da casca de frutas, seus processos de extração mais comuns são: destilação por arraste a vapor e prensagem a frio (SANTOS et al., 2003 p. 19).

Sendo que a destilação por arraste a vapor apresenta vários inconvenientes, podendo citar a degradação térmica, facilidade de oxidação e o alto consumo de energia.

Óleo essencial de laranja apresenta baixa solubilidade em água e alta tendência à autooxidação devido à sua composição. A fração volátil dos óleos cítricos, em geral, representa

de 94 a 98% do óleo total e consiste de mais de 100 compostos, muitos dos quais estão presentes somente em traços. A época e o local de coleta, a forma de cultivo, as condições climáticas, a idade do material vegetal, o período e as condições de armazenamento podem influenciar na composição do óleo essencial (SANTOS et al., 2003 p. 22).

2.2.2 Óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (Cravo)

O cravo-da-índia é uma árvore que pertence a família das Myrtaceae nativa das ilhas Mollucas do Norte (Indonésia) e aclimatada na África e no Brasil, que chega a medir 15m de altura. É uma planta usada desde a antiguidade na culinária, e tem sido utilizado também como medicinal há mais de 2000 anos pelos chineses. A parte mais usada do cravo, na verdade é o botão floral seco.

O seu óleo essencial apresenta como seu principal componente o eugenol e possui em proporções menores o acetato de eugenol, β -cariofileno, entre outros compostos com proporções pouco significativas (CHONG, 1997 p. 30). O eugenol vem sendo estudado por vários autores e pesquisas o indicam como um composto com certo potencial nematicida (TSAO, 2000 p.12), bactericida (DORMAN, 2008 p.88) e fungicida (DELESPAUL, 2000 p.12). A ação fungitóxica dos óleos essenciais pode estar relacionada; a diminuição do diâmetro da hifa e da parede da hifa, a desorganização da estrutura mitocondrial (BILLERBECK, 2001 p. 47) e a desorganização da estrutura da parede celular e da membrana determinando a liberação do conteúdo celular (BENNIS 2004 p. 38).

2.2.3 Óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* (Eucalipto)

As folhas do eucalipto são a matéria prima principal para a extração do seu óleo, onde são produzidos em pequenas cavidades globulares, chamadas glândulas. Estas encontram-se distribuídas em todo parênquima foliar da maioria das espécies de eucalipto. Seu óleo é formado por uma complexa mistura de componentes, que envolvem de 50 a 100 ou até mais compostos orgânicos voláteis, dentre os quais destacam-se hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos e esters (DORAN, 1991 p. 308).

A origem biossintética dos óleos essenciais de eucalipto esta relacionada com o seu metabolismo secundário, que não é considerado como fundamental para a manutenção da vida do organismo, porém, é ele que confere às plantas a capacidade de adaptação às condições do meio em que vive.

Doran (1991, p. 308) descreveu que nos eucaliptos, especificamente, as referências são as de que a ocorrência do óleo essencial estaria relacionada com a defesa da planta contra insetos, resistência ao frio quando no estágio de plântulas, ao efeito alelopático e à redução da perda de água, resultados estes que dependem ainda da realização de estudos mais comprobatórios.

2.2.4 Óleo essencial de *Thymus vulgaris* (Tomilho)

O tomilho, família Lamiaceae, é um subarbusto aromático da família das labiadas. Tal subarbusto possui folhas pequenas, lineares ou lanceoladas, e flores róseas ou esbranquiçadas. O óleo essencial de tomilho é produzido a partir da destilação das folhas e um de seus usos mais recorrentes é o aromaterápico, em sais de banho e sabonetes. Além disso, a substância também age na pele como um antibacteriano, adstringente, cicatrizante e antisséptico. No organismo o tomilho também age como antiespasmódico (PEREIRA, 1995 p. 47).

Zambonelli et al. (1996, p. 491), utilizando o óleo de tomilho a 800ppm, observaram que houve uma redução no crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum* e *Pythium ultimum*, causando degeneração das hifas e extravasamento do citoplasma celular.

2.2.5 Óleo essencial de *Cinnamomum canphora* (Louro)

Os óleos essenciais são misturas voláteis extraídas de plantas, possuindo uma estrutura complexa, podendo às vezes ser compostos de mais de uma centena de componentes químicos. São altamente utilizados pelas indústrias alimentícias, farmacêuticas e cosméticas, devido suas propriedades aromáticas, condimentares e terapêuticas. Originário da Ásia, as folhas do louro são utilizadas como condimentos alimentares e para fins na medicina popular como estimulante de apetite e digestivo.

As espécies aromáticas e as que produzem óleos alcançam alto valor no mercado, pois são frequentemente usadas como fonte de matéria prima em indústrias. Muitas espécies pertencentes a família Lauraceae estão entre as mais utilizadas por essas indústrias (SAUGO & LOBO, 2012 p. 1).

2.2.6 Óleo essencial de *Citrus reticulata* (Tangerina cravo)

Embora muitas famílias de plantas inseticidas tem sido estudadas, poucas são sabidas sobre o efeito dos seus compostos derivados como a família das Rutaceae, plantas do gênero *Citrus*, no desenvolvimento dos astropódes (CRAVEIRO, et al. 1981 p. 210; GUENTER, 1972 p. 3894; LAHIOU, 2004 p. 435).

A espécie *Citrus reticulata* Blanco, conhecida popularmente como tangerina, mexerica, bergamota, mandarina e laranja-cravo é uma planta originária na Ásia, introduzida e largamente cultivada no Brasil (MAIA et al., 2001 p. 63). Esta planta é utilizada popularmente como digestiva, antiséptica, diurética e sua atividade sobre o sistema nervoso central inclui ações sedativa, contra nervosismo e agitação (LAWLESS, 1995 p. 115).

2.2.7 Óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (Melaleuca)

A melaleuca ocorre naturalmente na Austrália, onde se concentram os principais produtores, que dominam, de certa forma, o mercado e as tecnologias de produção, sendo ela o principal fornecedor mundial desse óleo (aproximadamente 400 t/ano).

Essa espécie, conhecida internacionalmente como Tea Tree, é uma espécie arbórea da família Myrtaceae. Seu principal produto é o óleo essencial, de grande importância medicinal, pelo fato de possuir comprovada ação bactericida e antifúngica contra vários patógenos humanos, sendo utilizado em muitas formulações tópicas; é obtido por hidrodestilação ou destilação por arraste a vapor (RIEDL, 1997 p. 34; GUSTAFSON et al., 1998 p. 194).

Têm-se relatos de que a China também produz o óleo, porém em escala não-significativa perante o mercado mundial. O consumo desse óleo está disperso no mundo

inteiro pelas indústrias (farmacêuticas, de cosméticos e de limpeza, dentre outras), sendo os principais centros consumidores América do Norte e Europa (OLIVEIRA, 2002 p. 64).

2.2.8 Óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (Capim limão)

O capim limão é originário da Ásia, ele é uma planta de ocorrência comum no RS, de fácil estabelecimento e de manutenção nas condições de solo e clima do Estado. Pertence ao gênero *Cymbopogon* da família Poaceae, (CRONQUIST, 1988 p. 279). É uma planta perene, ereta, cespitosa, de 0,6 até 3 m de altura. Suas folhas são verde-grisáceas com veios bem visíveis na face inferior e de cor verde-brilhante e lisa na face superior são estreitas e longas (0,5 a 1m), tem florescimento intenso durante os meses de inverno nas condições climáticas do Brasil (LORENZI; MATOS, 2002 p. 252).

O capim limão apresenta maior produção de massa e, conseqüentemente, maior produção de óleo essencial, além de ser mais resistente a doenças que outras espécies como o *C. citratus* (MAY et al., 2008 p. 379). Da planta são obtidos os óleos essenciais mirceno, geraniol e citral, este último usado industrialmente como flavorizante, além de ser matéria-prima na síntese de iononas e vitamina A (SIMÕES et al., 1998 p. 173).

2.2.9 Óleo essencial de *Schinus terebenthifolia* Raddi (Pimenta rosa)

Schinus terebenthifolia Raddi, (Anacardiaceae), popularmente conhecida como aroeira-vermelha é uma árvore de folhas perenes, originária da América do Sul, especialmente do Brasil, Paraguai e Argentina.

Apesar da árvore que dá os frutos da aroeira vermelha ser nativa da América tropical, presente especialmente em vários locais do Brasil, ela é exportada da França, onde deu um toque tropical à nouvelle cuisine, prato típico francês, e foi por lá rebatizada poivre rose, retornando ao Brasil como produto importado (CARVALHO, 2003 p. 1039).

Estudos realizados confirmam a atividade antifúngica desse óleo, pois demonstraram resultados positivos para os testes com os fungos de *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. fumigatus* e *Trichoderma* spp. (SIDDIQUI et al., 2003 p. 563).

2.2.10 Óleo essencial de *Psidium guajava* (Goiaba)

A goiabeira faz parte da família das Myrtaceae e tem como origem região tropical da América Central e América do Sul (PEREIRA, 1995 p. 47). No gênero *Psidium*, a que mais se destaca é a goiabeira, classificada como *Psidium guajava* L. (ACCORSI et al., 1960 p. 13; MANICA et al., 2000 p. 374).

A produção no Brasil se concentra nas regiões Sudeste e Nordeste, sendo São Paulo e Pernambuco os maiores produtores. No estado de São Paulo, as variedades mais produzidas são ‘Kumagai’, ‘Pedro Sato’ e ‘Sassaoka’ (GUTIERREZ et al., 2002 p. 18).

Os extratos das folhas apresentam inúmeras atividades, tais como a antimicrobiana em vários microrganismos, como *Candida albicans*, e contra algumas bactérias como *Staphylococcus aureus* (NASCIMENTO et al., 2000 p. 247). Possuem também poder antioxidante devido à presença de vitaminas, carotenóides polifenóis e, principalmente, de ácido ascórbico (NOGUEIRA et al., 1978 p. 363; QIAN et al., 2004 p. 676).

Nas folhas também foram encontrados ácidos voláteis, (E)-ácido cinâmico e (Z)-3-ácido hexenóico (IDSTEIN et al., 1985 p. 394) e ácidos graxos (OPUTE, 1978 p. 737).

No óleo essencial foram encontrados vários compostos como -pineno, p-menten-9-ol, trans-cariofileno, -bisaboleno, -humuleno, -santaleno, d-limoneno, óxido de cariofileno, eugenol, mirceno, -bisaboleno, aromadendreno, -selineno e 1,8-cineol (CRAVEIRO et al., 1981 p. 210; CUELLAR et al., 1984 p. 92; PINO et al., 2001 p. 61).

2.2.11 Óleo essencial de *Eugenia uniflora* (Pitanga)

A *Eugenia uniflora* L., popularmente conhecida como pitanga comum, pitanga verdadeira, ubipitanga, ibipitanga, pitanga, pertence à família Myrtaceae, é uma planta muito valorizada no Brasil, apresenta frutos comestíveis, suas folhas tem aplicação na medicina popular muito utilizada para chá, principalmente como hipotensor, antigota, estomáquico e hipoglicemiante (MAZARO, 2008 p. 1824).

Lima et al. (1993 p. 51) avaliaram a atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas medicinais contra leveduras do gênero *Candida*. De acordo com os testes foi constatado que todos os óleos essenciais, dentre eles a *Eugenia uniflora* L., apresentaram efetividade de inibição de pelo menos uma cepa fúngica ensaiada, caracterizado pela

formação de halos de inibição do crescimento microbiano com diâmetro igual ou superior a 10 mm.

Segundo Mazaro et. al (2008 p. 1824) a diversidade de metabólitos secundários presentes na pitangueira podem apresentar potencial para utilização de compostos da planta na agricultura para ativação de rotas de defesa, com ativação de metabólitos como as fitoalexinas, assim sendo, podem apresentar potencial de utilização no controle alternativo de patógenos em plantas.

2.2.12 Óleo essencial de *Casearia sylvestris* (Guaçatonga)

Casearia sylvestris, possui altura de 4-6 metros, com tronco de 20-30 cm de diâmetro. As folhas são assimétricas, lanceoladas, serradas, alternas, dotadas de glândulas visíveis por transparência em todo o limbo, de 6-12cm de comprimento por 3-5cm de largura. As flores são pequenas e numerosas, de colorações esverdeadas, actinomorfas, diclamídeas e hipóginas. Seus frutos são cápsulas septícidas com sementes envolvidas por arilo vermelho (SCAVONE et al., 1979 p. 73; LORENZI, 1992 p. 115). Ocorre em todo território brasileiro, em diversas formações florestais (LORENZI, 1992 p. 115).

O gênero *Casearia* tem se caracterizado pela ocorrência de substâncias de interesse, como: cumarinas (TALAPATRA et al., 1983 p. 401), flavonóides (JUNGLES et al., 1985 p. 95), lignanas e diversos diterpenos, especialmente clerodânicos. Sobre a constituição do óleo essencial de folhas de *Casearia sylvestris*, há apenas um relato descrevendo a presença de biciclogermacreno, germacreno-D, β -cariofileno, δ -elemeno como componentes principais, mas foram amostrados apenas dois indivíduos (SERTIÉ et al, 2001 p. 170).

2.2.13 Óleo essencial de *Artemisia camphorata* (Artemisia)

A *Artemisia vulgaris*, pertence à família Asteraceae, popularmente é chamada de absinto, artemísia-comum, artemísia-verdadeira, artemija, artemige, artimígio, erva-de-são-john, isopo-santo e losna. (LORENZI & MATOS, 2002 p. 253).

É uma espécie aromática, herbácea, perene e rizomatosa, originária da Europa ou Ásia e naturalizada em quase todo o mundo. Popularmente é reconhecida por seus efeitos

analgésicos, antiespasmódicos e anticonvulsivos, sendo empregada também para dispepsias, astenias, epilepsias, dores reumáticas, febres e anemias. Na sua composição química destacam-se o óleo essencial rico em terpenos (cineol e tuiona), flavonóides, taninos, saponinas, resinas, artemisina e princípios amargos. A artemisina vem sendo testada com resultados promissores contra malária (LORENZI & MATOS, 2002 p. 252).

2.2.14 Óleo essencial de *Citrus latifolia* (Limão Tahiti)

A espécie *Citrus latifolia* Tanaka, conhecida popularmente como limão-tahiti ou lima da pérsia é uma lima ácida originária na Índia e no sul da Ásia. É uma das espécies de *Citrus* mais rústicas, se desenvolvendo bem em solos pobres, porém é um dos menos resistentes a climas frios (PIO CORRÊA, 1984 p. 655). *Citrus latifolia* é usada popularmente em casos de febres, infecções, friagens e dores de garganta (LAWLESS, 1995 p. 115).

2.2.15 Óleo essencial de *Cyperus articulatus* L. (Priprioca)

O óleo essencial de priprioca já foi estudado por muitos autores (COUCHMAN, 1964 p. 2037; NYASSE et al., 1988 p. 3319), seu aroma tem despertado interesse da indústria de cosméticos.

Ele é utilizado pela Natura Cosméticos como ingrediente natural de diversos produtos, destacando-se a Linha Ekos Priprioca. Esta fragrância celebra de forma única e inovadora o caminho olfativo floral verde; seu perfume é marcante e inusitado, sendo uma matéria-prima de muito valor para os perfumistas devido à sua originalidade (NATURA EKOS, 2011).

2.2.16 Óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum* (Canela)

A canela, espécie da família Lauraceae é considerada entre as especiarias, uma das mais antigas no oriente. É utilizada como especiaria, na indústria de doces, na composição dos aromatizantes para bebidas e na produção de incenso. Na medicina tradicional é

estimulante, eupéptica, carminativa e antidiarréica. O seu óleo essencial possui uma alta qualidade sendo assim é muito valorizado. Na casca o rendimento de óleo está em torno de 2%, e das folhas 1%. Possui uma composição muito variável, de 60 a 90% de aldeído cinâmico e 10 de eugenol na casca e 10% de aldeído cinâmico e 60 a 95% de eugenol nas folhas (ALBUQUERQUE, 1989 p. 96).

2.2.17 Óleo essencial de *Zingiber officinale* (Gengibre)

O *Zingiber officinale* Roscoe conhecido como gengibre, possui rizoma ramificado, de cheiro e sabor picante, agradável (LORENZI & MATOS, 2002 p. 252), apresenta forte atividade antimicrobiana sendo amplamente utilizada como especiaria da culinária além de ser bem conhecido na medicina tradicional (YADAV et al., 2012 p. 45).

No Brasil, a produção de gengibre, visando à exportação de rizomas in natura é recente. Visando a seu melhor aproveitamento, estudou-se a sua potencialidade como matéria-prima para produção de óleo essencial de boa qualidade.

Estudos realizados com seus óleos essenciais e extratos de gengibre frente a diversos patógenos alimentares verificaram excelente atividade antimicrobiana, incluindo atividade contra diferentes sorovares de *Salmonella* (YOUSUFII, 2012 p. 6).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 LOCAL DO EXPERIMENTO

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Fitossanidade, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Câmpus Dois Vizinhos. Foram testados dezessete óleos essenciais quanto à germinação miceliogênica e carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum*.

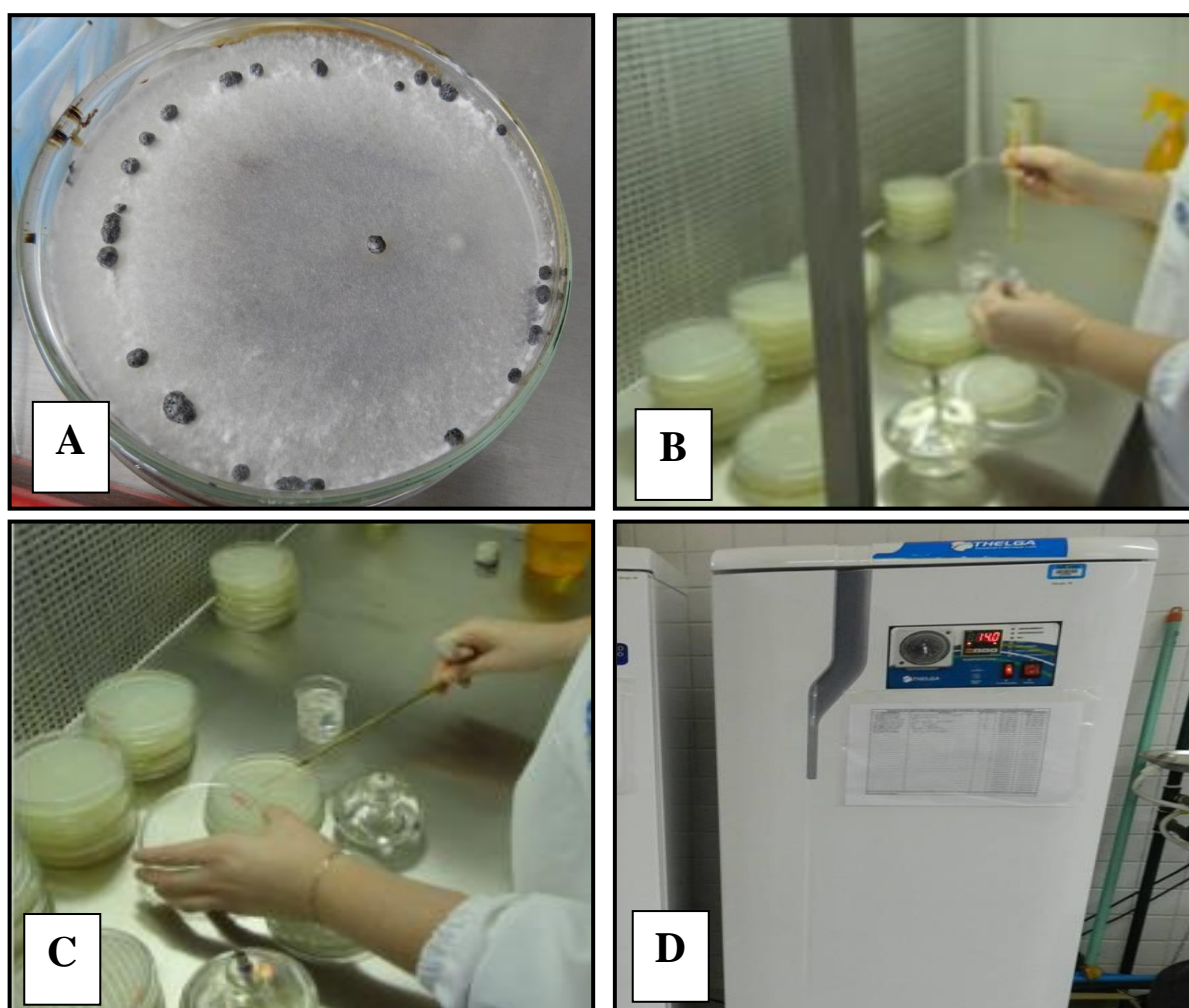


Fotografia 1: Imagem aérea da utfpr, dois vizinhos.
Fonte: Portal do Município de Dois Vizinhos – Paraná (2015).

3.2 OBTENÇÃO E PRODUÇÃO DE ESTRUTURAS DE RESISTÊNCIA

O isolado de *S. sclerotiorum* utilizado neste estudo foi obtido de colônia pura da micoteca do Laboratório de Fitossanidade da UTFPR - Dois Vizinhos. Em laboratório, a colônia do fungo foi repicado retirando um disco de BDA (batata-dextrose e ágar) com aproximadamente 0,6 cm de diâmetro, contendo micélio, da borda da colônia e transferida para placa de Petri®, incubando-o a $22 \pm 3^\circ \text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, sob luz fluorescente. Assim que os escleródios começaram a germinar, eles foram previamente desinfestados em álcool a 70% e hipoclorito de sódio, por 30 e 60 segundos, respectivamente. Em seguida, os

escleródios foram enxaguados em água destilada estéril por três vezes e transferidos para placas de Petri® contendo meio BDA, para que novamente nas mesmas condições descritas acima sejam incubados (Fotografia 2).

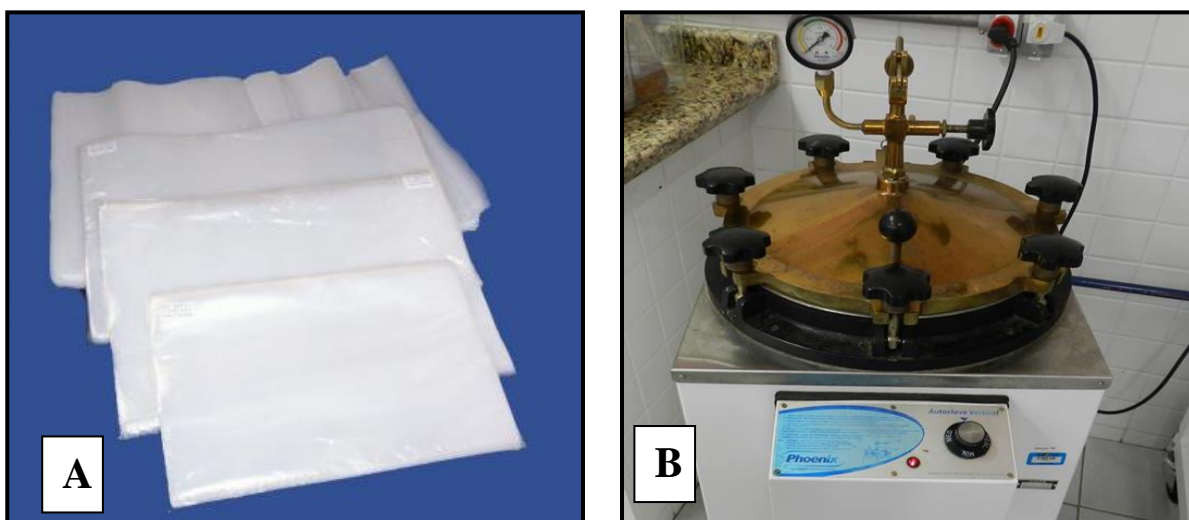


Fotografia 2- A – Colônia pura de *S. sclerotiorum*; B – Retirada de discos de micélio; C - Transferência de discos de micélio; D – Sete dias em BOD a 18°C com fotoperíodo 12hs luz 12hs escuro
Fonte: A autora (2015).

3.3 AUTOCLAVAGEM DO SOLO

O solo utilizado foi o nitossolo vermelho distroférico típico textura argilosa, fase florestal subtropical (BHERIVA, et. all 2008), coletado na UTFPR - DV. Após a coleta o solo foi depositado em sacos de polipropileno (resistentes a altas temperaturas), com espessura de

30 micras e com capacidade de 4 Kg, fechado em sua porção superior com algodão hidrofóbico, e então, levado à autoclave a temperatura de 121° C e pressão de trabalho de 1,2 Kgf/cm². O tempo de exposição do solo à autoclave foi de 1 hora autoclavagem/ intervalo de 24h/ 1 hora autoclavagem por 3 dias (Fotografia 3).



Fotografia 3- A – Sacos de polipropileno com espessura de 30 micras e com capacidade de 4 Kg, fechado em sua porção superior com algodão hidrofóbico; B - Autoclave a temperatura de 121°C e pressão de trabalho de 1,2 Kgf/cm² tempo de exposição do solo à autoclave de 1 hora autoclavagem/ intervalo de 24h/ 1 hora autoclavagem por 3 dias.
Fonte: A autora (2015).

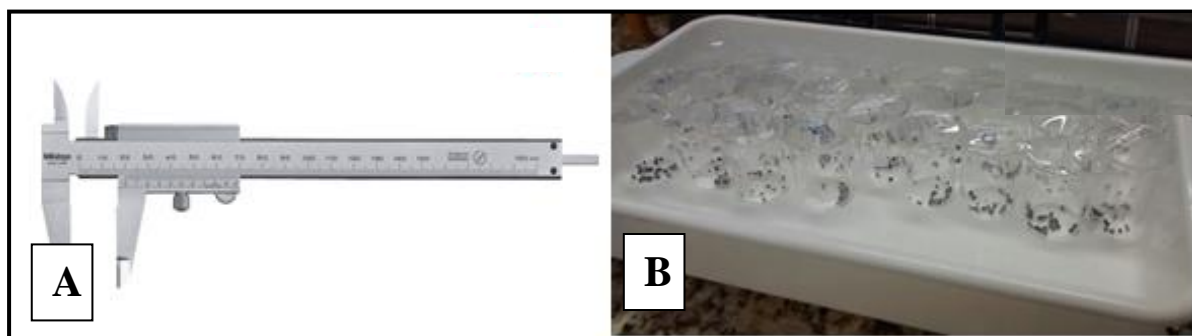
3.4 TRATAMENTOS

Os tratamentos referentes aos 17 óleos essenciais eu foram cedido pela Empresa Garden City- São Paulo. Esse óleos foram divididos em dois experimentos de viabilidade de germinação miceliogênica e carpogênica. Para a germinação miceliogênica foram utilizados para o efeito volátil 15 µL/mL papel filtro e para o efeito tratado (5 escleródios + 15 µL/mL + 2ml de H₂O+ 1gota de Tuin) 2 minutos.

Já para a germinação carpogênica foi utilizado no efeito volátil de 30 µL/mL papel filtro e no efeito tratado (60 escleródios + 30 µL/mL + 2ml de H₂O + 1 gota de tuin) por 2 minutos.

3.5 PADRONIZAÇÃO NO TAMANHO DOS ESCLERÓDIOS

Com o objetivo de padronizar o tamanho dos escleródios para não ser tendenciosa nas avaliações, eles foram selecionados com paquímetro em tamanho padrão variando entre 1 a 2 mm (Fotografia 4).



Fotografia 4- A – Padronização do tamanho dos escleródios com um escalimetro variando entre 1 a 2 mm de diâmetro; B – Escleródios selecionados.
Fonte: A autora (2015).

3.6 VIABILIDADE DOS ESCLERÓDIOS

A viabilidade dos escleródios foi realizada com a indução das germinações miceliogênica e carpogênica dos mesmos.

3.7 GERMINAÇÃO MICELIOGÊNICA

A germinação miceliogênica foi realizada em meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar), contendo para cada 1 L: 200 g de batata, 20 g de dextrose, 20 g de ágar e 1000 mL de água destilada.

O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), fatorial sendo os 2 tratamentos qualitativos em 19 níveis, o fator de sub-subparcela serão os quatro

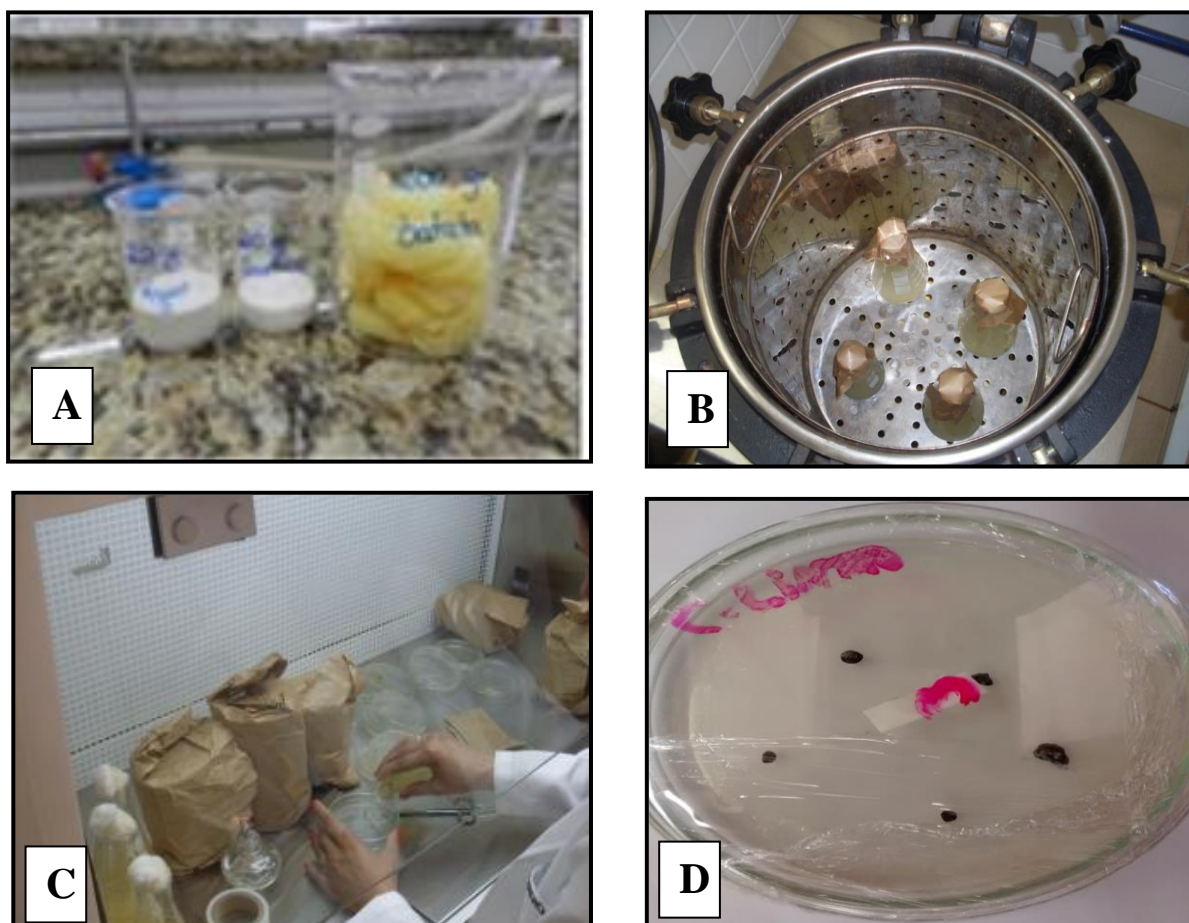
tempos de avaliação, em quatro repetições, sendo cada repetição representada por uma placa de Petri contendo cinco escleródios.

Os escleródios foram previamente desinfestados em álcool 70% por 2 minutos, hipoclorito de sódio a 1% por 3 minutos, lavados em água autoclavada por 1 minuto e secos ao ar em ambiente asséptico no interior de câmara de fluxo laminar.

Posteriormente, em cada placa de Petri foram depositados sobre o meio de cultura cinco escleródios (unidade experimental) e colocados para germinar.

A incubação foi realizada em câmara de crescimento do tipo BOD a 18° C e fotoperíodo de 12 horas (Fotografia 5).

As avaliações foram realizadas às 24, 48, 72 e 96 horas após o início da incubação. Foi utilizado um microscópio estereoscópico no qual era observado o surgimento das hifas características do fungo. Em cada avaliação foi determinado o número de escleródios que apresentava germinação.



Fotografia 5- A – Preparo do meio de cultura BDA, batata dextrose ágar; B – Meio sendo autoclavado; C– Meio de cultura sendo vertido; D– Escleródios dispostos na placa para efeito volátil com papel filtro na tampa.

Fonte: A autora (2015).

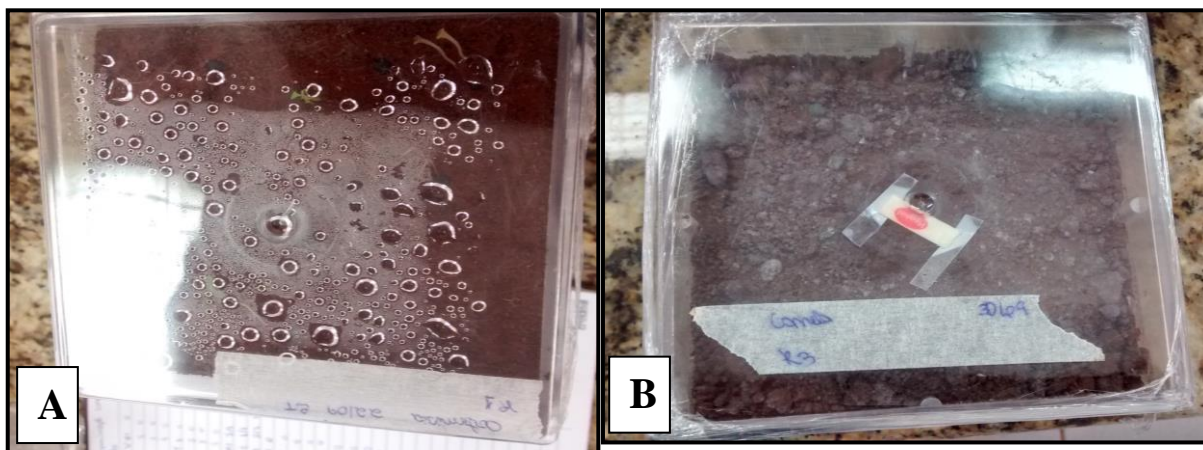
3.8 GERMINAÇÃO CARPOGÊNICA

Foi utilizado o solo já descrito anteriormente, devidamente esterilizado. Esse material foi utilizado por 30 dias para estudar a germinação carpogênica dos escleródios. Amostras de 200 g de solo foram colocadas em caixas gerbox (11 cm x 11 cm x 3,5 cm). Em seguida, foi efetuado o enterrio de 10 escleródios do fungo à profundidade de aproximadamente 2,0 cm. Após o enterrio, uma lâmina de água de 6,0 mm foi aplicada por caixa deixando a umidade do solo próximo à capacidade de campo através do uso de irrigação.

Foram montados experimentos visando o efeito volátil e o efeito tratado dos escleródios, o primeiro a partir de fitas de papel filtro de 2cm transferidas com 30 microlitros colocadas em cada uma das tampas das caixas gerbox, para a testemunha serão colocadas as mesmas quantidades de água destilada, logo em seguida as caixas serão incubadas à temperatura de 18° C, sob fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro, por um período de 30 dias. Para avaliar o segundo efeito, 60 escleródios foram tratados pelos diferentes óleos com 30 microlitros adicionados 2ml de água e uma gota de tuim, para a testemunha foram realizados água e tuim e somente água (Fotografia 6).

As avaliações de viabilidade foram efetuadas de duas formas, a primeira contando se emitiu os apotécios e a segunda o número de estipes e de apotécios formados por caixa gerbox. A primeira avaliação foi efetuada após a emissão do primeiro estipe, até o momento de completarem 30 dias de incubação.

Foram considerados viáveis os escleródios que germinarem pela produção de micélio e subsequente produção de escleródios.



Fotografia 6- A – Efeito 01 escleródios tratados; B – Efeito 02 volátil.
Fonte: A autora (2015).

3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições para os dois experimentos. Cada experimento constou de um fatorial duplo, sendo estes considerados qualitativos, com 19 níveis. Para os dois experimentos os dados obtidos foram submetidos à análise de médias pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade de erro, para comparação das médias foi utilizado o programa (ASSISTAT 7.6 beta). Todos os resultados foram submetidos a teste de normalidade e tiveram que ser transformados pela equação $\log x+1$. Sendo que para o experimento de germinação miceliogênica além do programa ASSISTAT foi utilizado também o programa Rstudio para realizar as regressões.

4 RESULTADOS E DISCUÇÃO

4.1 EXPERIMENTO 1- GERMINAÇÃO MICELIOGÊNICA

No presente trabalho é possível observar a interação significativa na germinação miceliogênica entre o tratamento e o tempo de avaliação, mostrando que os tratamentos e os efeitos diferem entre si de acordo com o período em que foram avaliados. Na Tabela 1 é possível observar a média percentual de germinação miceliogênica dos escleródios nos diferentes tempos em que foram realizadas as avaliações, tempos estes de 24, 48, 72 e 96 horas.

Na primeira avaliação (24 horas de incubação), todos os tratamentos não apresentaram germinação, não havendo assim diferença estatística entre os mesmos. Após 48 horas de incubação, as testemunhas também não se diferiram estatisticamente entre si, e apresentaram índices de germinação de 25% para testemunha no efeito Tratado, e para o efeito Volátil, a mesma apresentou 40% de germinação. Para a Testemunha sem Tuim, no Tratado, esse índice passou a 20% enquanto para o Volátil foi de 25%.

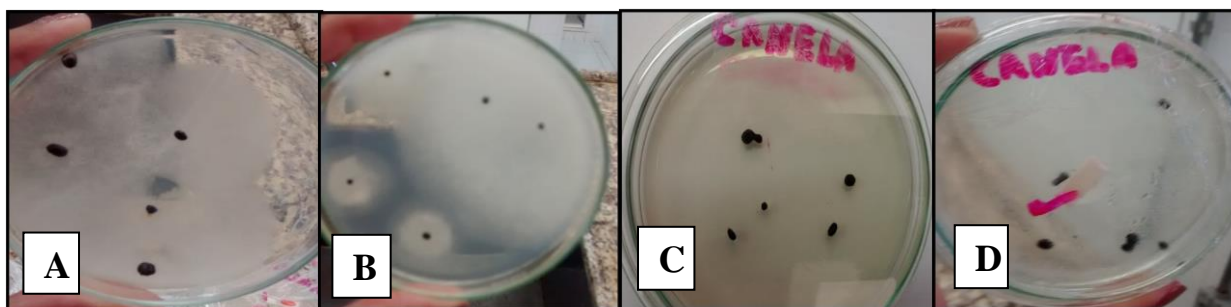
Os demais tratamentos na segunda avaliação, não se diferenciaram estatisticamente entre si para o Tratado, nem mesmo em relação as testemunhas, porem para o Volátil, os tratamentos Limão Tahiti (9), Pimenta Rosa (11), Tangerina Cravo (13) e Priprioca (16) não se diferenciaram estatisticamente das testemunhas, porem se diferenciaram dos demais, pois os mesmos apresentaram germinação neste período, enquanto os demais óleos com exceção do tratamento Canela (17) (10%) não germinaram ate a avaliação. Entre os óleos avaliados, os tratamentos Testemunha com Tuim (2), Limão Tahiti (9), 16 e 17, não houveram diferença estatística entre os tratamentos Tratado e Volátil, enquanto os demais mostraram esta diferença.

Na terceira avaliação, após 72 horas da montagem de experimento, os tratamentos para o Tratado não se diferenciaram entre si estatisticamente, ao contrario do tratamento Volátil. Onde, os tratamentos Testemunha sem Tuim (1), Testemunha com Tuim (2), 9, 11, 13 e 16 não se diferenciaram entre si, apresentando maior média (32,5%) de germinação, quando comparado com os demais tratamentos, no qual, todos os demais com exceção da Canela (10%), apresentaram índice de germinação de 0%, não se diferenciaram estatisticamente entre si.

Na última avaliação às 96 horas, os tratamentos apresentaram a maior variação de todas as avaliações realizadas como. Essa variação é relatada por Santos (2009 p.17), onde destaca que os óleos essenciais por se tratarem de misturas complexas de diferentes compostos, devem ser identificados e testados separadamente, com o intuito de elucidar a ação destes compostos sobre o comportamento dos fungos.

As testemunhas desta avaliação continuaram não se diferenciando estatisticamente entre si, tanto entre tratamento, quanto para efeito. No efeito Tratado, as testemunhas se diferenciaram de todos os demais tratamentos com uma média de germinação de 100% para a testemunha com tuim, e 90% para a testemunha sem tuim. Os tratamentos Eucalipto citriodora (5), Goiaba (8), 9, 11, 13 e 17 não se diferenciaram entre si, e apresentaram uma média de germinação entre 40 e 60%, enquanto os tratamentos Laranja Pêra (3), Cravo (4), Tomilho (6), Gengibre (14), 16 e Pitanga (18) apresentaram médias de germinação de 5% a 30%, já os demais tratamentos, Louro (7), Artemísia (10), Melaleuca (12), Capim-limão (15) e Guaçatonga (19), apresentaram germinação nula nas 96 horas de avaliação, inibindo a germinação total dos esclerócios (fotografia 7).

O tratamento Volátil nas 96 horas de avaliação, não obteve diferença estatística entre as testemunhas, apresentando média de germinação de 95% nas duas. As mesmas se igualaram estatisticamente com os tratamentos 3 e 6, com índice de germinação de 90 e 85% respectivamente. Os tratamentos 4, 5, 8, 9, 11, 13 e 16 apresentaram médias de germinação entre 50 e 75%, já para os tratamentos 10, 12, 14 e 18 a germinação ficou entre 5 e 25%. Por fim, não apresentando germinação, os tratamentos 7, 15, 17 e 19 no final das avaliações, apresentando efeito positivo no controle do fitopatógeno.



Fotografia 7: A: avaliação 96h, placa Testemunha; B: avaliação 96h placa Testemunha/Tuim; C: Avaliação 96h Canela Tratado; D: avaliação 96h Canela Volátil.

Fonte: A autora (2015).

Tabela 1. Média percentual de germinação miceliogênica dos escleródios em diferentes tratamentos e em diferentes tempos. Dois Vizinhos-PR, 2015.

| TRATAMENTOS | 24 horas | | 48 horas | | 72 horas | | 96 horas | |
|--------------------------|-----------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|
| | Efeito 01 | Efeito 02 | Efeito 01 | Efeito 02 | Efeito 01 | Efeito 02 | Efeito 01 | Efeito 02 |
| 1- Testemunha | 0 aA | 0 aA | 25 bA | 40 aA | 25 bA | 40 aA | 90 aA | 95 aA |
| 2- Testemunha com Tuim | 0 aA | 0 aA | 20 aA | 25 aA | 20 aA | 25 aA | 100 aA | 95 aA |
| 3- Laranja Pera | 0 aA | 0 aA | 20 aA | 0 bC | 20 aA | 0 bC | 15 bC | 90 aA |
| 4- Cravo | 0 aA | 0 aA | 20 aA | 0 bC | 20 aA | 0 bC | 15 bC | 55 aB |
| 5- Eucalipto citriodora | 0 aA | 0 aA | 20 aA | 0 bC | 20 aA | 0 bC | 60 aB | 70 aB |
| 6- Tomilho | 0 aA | 0 aA | 20 aA | 0 bC | 20 aA | 0 bC | 30 bC | 85 aA |
| 7- Louro | 0 aA | 0 aA | 20 aA | 0 bC | 20 aA | 0 bC | 0 aD | 0 aD |
| 8- Goiaba | 0 aA | 0 aA | 20 aA | 0 bC | 20 aA | 0 bC | 40 aB | 65 aB |
| 9- Limão Tahiti | 0 aA | 0 aA | 20 aA | 30 aA | 20 aA | 30 aA | 40 aB | 70 aB |
| 10- Artemísia | 0 aA | 0 aA | 20 aA | 0 bC | 20 aA | 0 bC | 0 aD | 5 aC |
| 11- Pimenta Rosa | 0 aA | 0 aA | 20 bA | 35 aA | 20 bA | 35 aA | 45 aB | 55 aB |
| 12- Melaleuca | 0 aA | 0 aA | 20 aA | 0 bC | 20 aA | 0 bC | 0 aD | 15 aC |
| 13- Tangerina Cravo | 0 aA | 0 aA | 20 bA | 35 aA | 20 bA | 35 aA | 45 aB | 75 aB |
| 14- Gengibre | 0 aA | 0 aA | 20 aA | 0 bC | 20 aA | 0 bC | 5 aC | 20 aC |
| 15- Capim limão | 0 aA | 0 aA | 20 aA | 0 bC | 20 aA | 0 bB | 0 aD | 0 aD |
| 16- Priprioca | 0 aA | 0 aA | 20 aA | 30 aA | 20 aA | 30 aA | 20 aC | 50 aB |
| 17- Canela | 0 aA | 0 aA | 20 aA | 10 aB | 20 aA | 10 aB | 0 aB | 0 aC |
| 18- Pitanga | 0 aA | 0 aA | 20 aA | 0 bC | 20 aA | 0 bC | 10 aC | 5. aC |
| 19- Guaçatonga | 0 aA | 0 aA | 20 aA | 0 bC | 20 aA | 0 bC | 0 aD | 0 aD |
| Coefficiente de Variação | CV% = 0.0 | | CV% = 59.10 | | CV% = 59.10 | | CV% = 61,17 | |

Médias seguidas de letras distintas minúsculas na coluna e maiúsculas na linha para a mesma variável diferem entre si, pelo teste de Skott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Efeito 01: Escleródios submetidos a tratamento de imersão (Para 60 escleródios - Produto + 2ml de H₂O + 1 gota de tuim) por 2 minutos .

Efeito 02: Escleródios submetidos a tratamento volátil (Para 15 escleródios (30µL de produto em papel filtro).

Fonte: A autora (2015).

Souza (2006 p. 650), em seus estudos relatou que o óleo essencial de capim-limão, apresentou efeito fungitóxico sobre o patógeno *S. sclerotiorum* nas condições avaliadas, sendo que o mesmo apresenta dessa forma, potencial de uso para o controle das podridões causadas por este agente.

Apel (2001 p. 256) justifica que geralmente, a ação atribuída a um composto isolado pode não ser exata, devido a possíveis interações que podem ocorrer entre os compostos dos óleos analisados.

Os dados de cada óleo essencial analisados separadamente estão apresentados nos gráficos (1-9) que seguem abaixo, acompanhados de sua respectiva regressão da germinação miceliogênica dos escleródios onde foi realizado para demonstrar a relação da emergência com o tempo após a implantação do experimento, podendo comparar no gráfico o efeito tratado com o volátil.

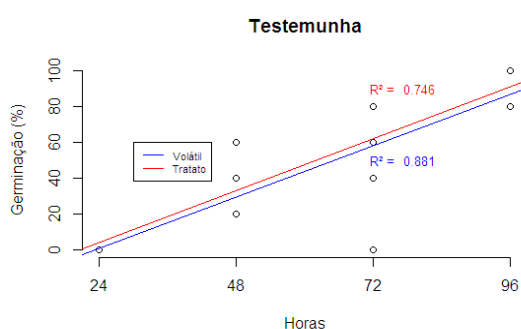


Gráfico 1 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de Testemunha sob os efeitos Volátil e Tratado.
Fonte: A autora (2015).

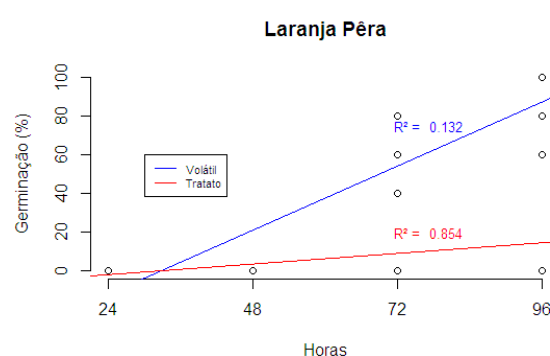


Gráfico 3 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de Laranja Pêra sob os efeitos Volátil e Tratado.
Fonte: A autora (2015).

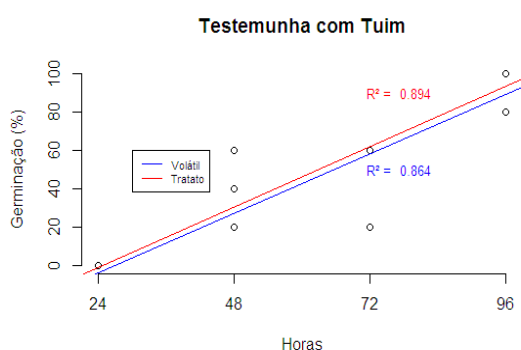


Gráfico 2 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de Testemunha com Tuim sob os efeitos Volátil e Tratado.
Fonte: A autora (2015).

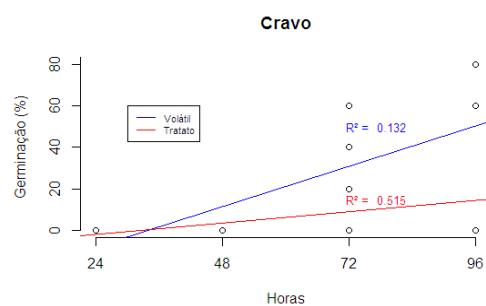


Gráfico 4 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de Cravo sob os efeitos Volátil e Tratado.
Fonte: A autora (2015).

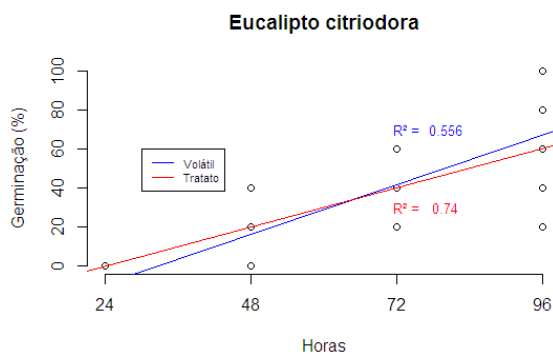


Gráfico 5 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de Eucalipto citriodora sob os efeitos Volátil e Tratado.
Fonte: A autora (2015).

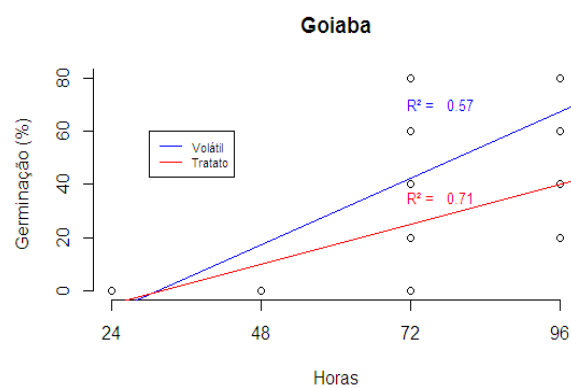


Gráfico 8 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de Goiaba sob os efeitos Volátil e Tratado.
Fonte: A autora (2015).

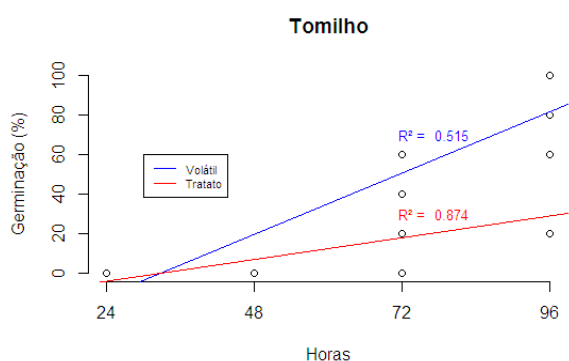


Gráfico 6 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de Tomilho sob os efeitos Volátil e Tratado.
Fonte: A autora (2015).

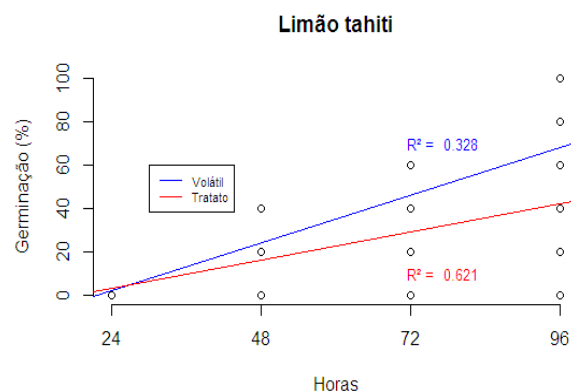


Gráfico 9 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de Limão tahiti sob os efeitos Volátil e Tratado.
Fonte: A autora (2015).

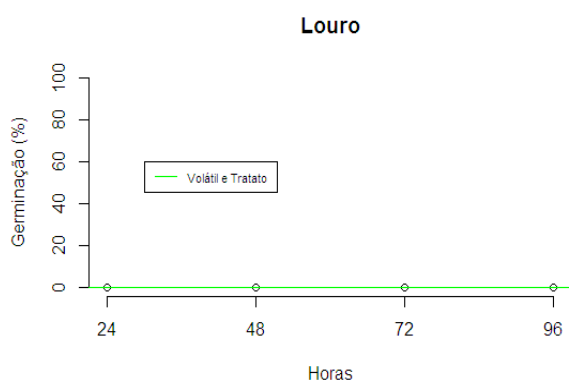


Gráfico 7 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de Louro sob os efeitos Volátil e Tratado.
Fonte: A autora (2015).

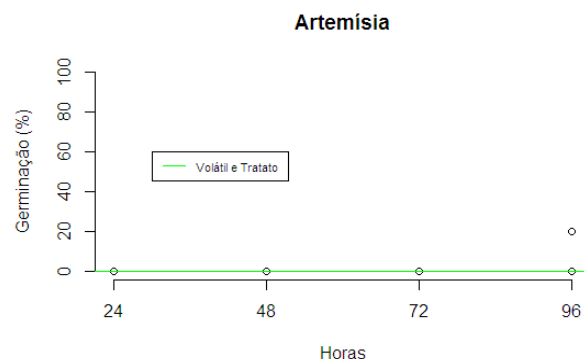


Gráfico 10 – Regressão do óleo essencial de Artemisia com Tuim sob os efeitos Volátil e Tratado.
Fonte: A autora (2015).

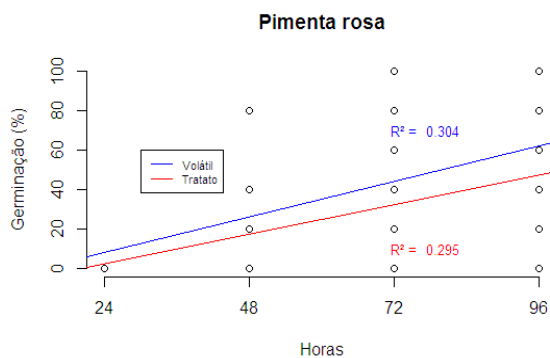


Gráfico 11 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de Pimenta rosa sob os efeitos Volátil e Tratado.
Fonte: A autora (2015).

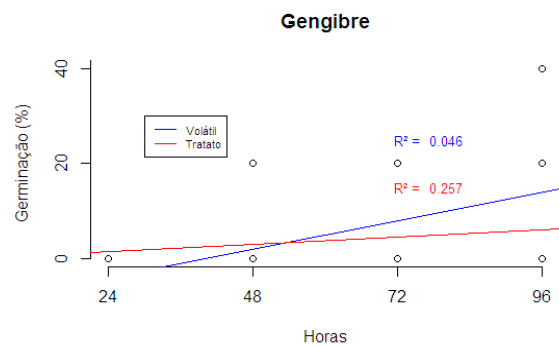


Gráfico 14 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de Gengibre sob os efeitos Volátil e Tratado.
Fonte: A autora (2015).

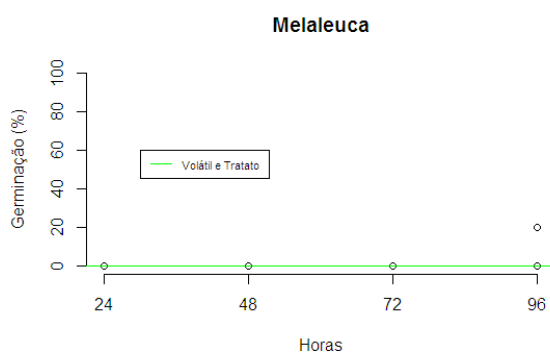


Gráfico 12 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de Melaleuca sob os efeitos Volátil e Tratado.
Fonte: A autora (2015).

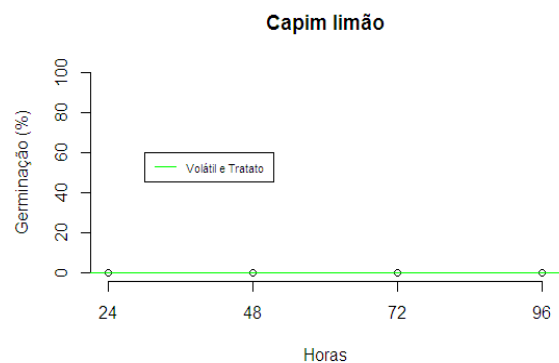


Gráfico 15 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de Capim limão sob os efeitos Volátil e Tratado.
Fonte: A autora (2015).

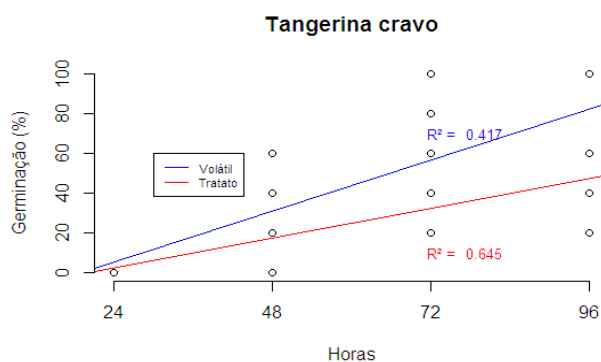


Gráfico 13 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de Tangerina cravo sob os efeitos Volátil e Tratado.
Fonte: A autora (2015).

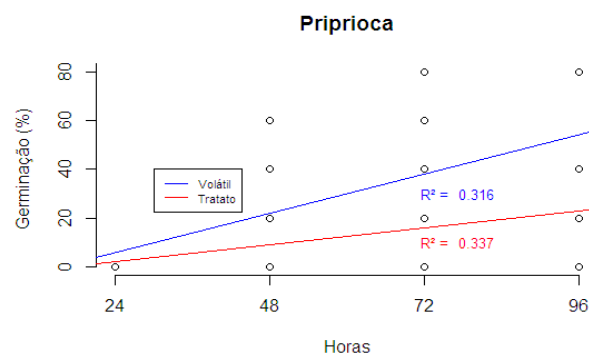


Gráfico 16 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de Priprioca sob os efeitos Volátil e Tratado.
Fonte: A autora (2015).

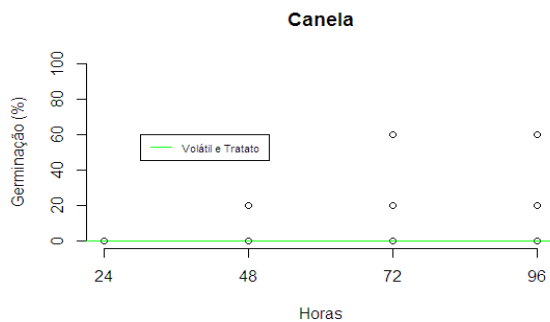


Gráfico 17 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de Canela sob os efeitos Volátil e Tratado.

Fonte: A autora (2015).

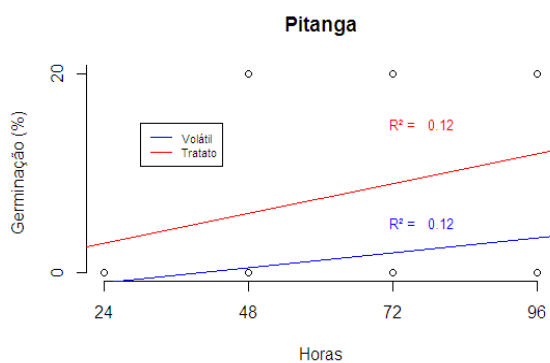


Gráfico 18 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de Pitanga sob os efeitos Volátil e Tratado.

Fonte: A autora (2015).

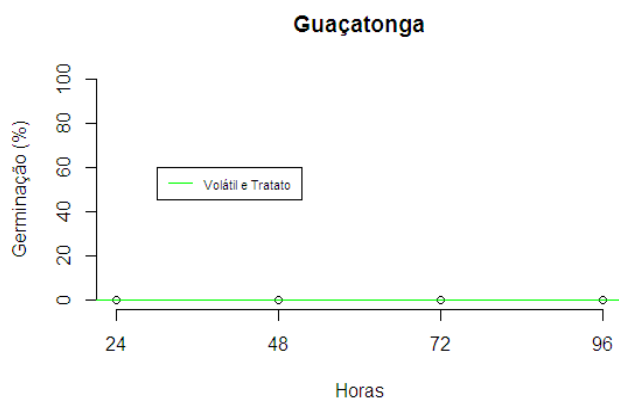


Gráfico 19 – Regressão da germinação miceliogênica dos escleródios para o óleo essencial de Guaçatonga sob os efeitos Volátil e Tratado.

Fonte: A autora (2015).

4.2 EXPERIMENTO 2- GERMINAÇÃO CARPOGÊNICA

Muitos são os substratos que podem ser utilizados na indução da germinação carpopogênica dos escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*. Ferraz e Café-filho (1998 p .364) Reis et al. determinaram que substratos de incubação como areia, composto orgânico, ágar-água e composto + areia favorecem maior velocidade e percentual final de formação de apotécios, porém eles não demonstram quais são esses valores de percentagens.

Nesse trabalho, utilizando solo esterilizado como substrato, 78,33% dos escleródios do tratamento testemunha já haviam germinado aos 30 dias. A velocidade de germinação carpopogênica de escleródios é uma característica desejável para uma boa metodologia, ou seja quanto menor o intervalo entre o início da incubação e o início da germinação dos estipes melhor. As condições que esse experimento foi conduzido propiciaram o início da germinação dos estipes com 15 dias (temperatura de 20 °C ± 2 °C, luz branca alternada de 12 horas e solo com umidade na capacidade de campo).

4.2.1 Germinação de estipes e apotécios

A Tabela 3 mostra a germinação média de estipes e apotécios formados por escleródio durante os 30 dias de avaliação. Observou-se que a germinação média de estipes por escleródio, não houve interação significativa entre os efeitos e os tratamentos, como mostra a Tabela 2. Porém, quando submetidos a análises separadamente, os efeitos se diferenciaram entre si, apresentando-se mais eficaz no controle de *S. Sclerotiorum*, o efeito Tratado, com uma média de emissão de estipes de 5,22%, enquanto para o efeito Volátil, a mesma foi de 8,52%.

Tabela 2. Número médio de estipes germinados por escleródios nos diferentes efeitos.. Dois Vizinhos-PR, 2015.

| EFEITO | EMIÇÃO MÉDIA DE ESTIPE |
|-----------|------------------------|
| Efeito 01 | 5.22368 b |
| Efeito 02 | 8.52632 a |

Médias seguidas de letras distintas minúsculas na coluna para a mesma variável diferem entre si, pelo teste de Skott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Efeito 01: Escleródios submetidos a tratamento de imersão (Para 60 escleródios - Produto + 2ml de H₂O + 1 gota de tuin) por 2 minutos .

Efeito 02: Escleródios submetidos a tratamento volátil (Para 15 escleródios (30µL de produto em papel filtro).

Para a germinação média de estipes por esclerócio quando avaliada entre tratamentos, a Tabela 3 mostra que as testemunhas não se diferenciaram entre si, apresentando médias de germinação de 24,5% e 22,12%, para os tratamentos 1 e 2 respectivamente. Os tratamentos 9, 10, 11, 12, se diferiram da testemunha, e apresentaram médias entre 10,25% e 16,87% não se diferenciando estatisticamente entre si. Já os tratamentos, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 13, 14, 15 e 16, as médias de germinação foram de 1% a 7,62%, enquanto para os tratamentos 17, 18, e 19, os Tratamentos se igualaram, e não houve germinação nos mesmos, mostrando efetividade nos tratamentos.

Para a germinação média de apotécio por escleródio, os resultados mostraram que os tratamentos e os efeitos tiveram interações entre si. Para o efeito tratado, as testemunhas não se diferenciaram entre si, apresentando médias de 1,24% e 1,22% para os tratamentos 1 e 2 respectivamente, porém se diferenciaram dos demais tratamentos. Os tratamentos 6, 8, 11, e 12 não se diferiram entre si, e apresentaram médias de germinação de 0,66 a 1%, e se diferiram dos demais.

Para os tratamentos 9 e 10, as médias de germinação foram 0,30 e 0,34%, enquanto os tratamentos, 3, 4, 5, 7, 13, 14, 15, 16, 17, 18 e 19, não se diferenciaram entre si, porém se diferenciaram dos demais por apresentar média de germinação de 0%.

Os tratamentos 1, 2, 3, 4, 5, 10, 12, 15, 16, 17, 18 e 19 não se diferenciaram entre si, quando avaliados estatisticamente entre efeitos, ao contrário dos demais tratamentos em que ocorreu essa diferenciação estatística entre os efeitos, para um mesmo tratamento.

Para o efeito tratado, a maior percentagem de germinação de apotécios, ocorreu nas testemunhas, apresentando índices de 1,20 e 1,27% respectivamente para os tratamentos 1 e 2. As mesmas não se diferenciaram entre si, porém se diferenciaram dos demais tratamentos. Com média de 0,86% de germinação, o óleo essencial de Limão Tahiti (9) se diferiu dos demais tratamentos. O mesmo ocorreu para os tratamentos 12 e 14, onde os quais não se diferenciaram entre si, porém se diferenciaram do restante dos tratamentos, com médias seguidas de 0,68% e 0,69%. Os tratamentos 7 e 10, apresentaram médias seguidas de 0,51 e 0,47%. Com um índice de germinação de apotécio de 30%, o tratamento com Tangerina Cravo (13) se diferenciou dos demais tratamentos, apresentando baixo índice de germinação.

Apresentando germinação de apotécio nula, os tratamentos que se mostraram mais eficazes no controle do fitopatógeno, foram os tratamentos, 3,4,5,6,8, 11, 15, 16, 17, 18 e 19, o que quando comparado com a testemunha, comprova o efeito dos mesmos sobre desenvolvimento do mesmo.

Conforme alguns trabalho de Letham et al. (1976), os fungicidas utilizados inibiram a formação de apotécios. Entretanto, esse fato frequentemente não é observado em campo provavelmente devido ao fungicida ser lavado rapidamente dos escleródios pelo intenso uso da irrigação na época da floração o que não permite um contato prolongado do fungicida com os escleródios.

Tabela 3. Número médio de estipes germinados e apotécios formados por escleródios e estipes nos tratamentos em diferentes tempos. Dois Vizinhos-PR, 2015.

| TRATAMENTO | GERMINAÇÃO MÉDIA DE ESTIPES | | GERMINAÇÃO MÉDIA DE APOTÉCIO | |
|---------------------------------|-----------------------------|--|------------------------------|-----------|
| | EFEITO 01 E 02 | | EFEITO 01 | EFEITO 02 |
| 1-Testemunha | 24,50 a | | 1,24 aA | 1,20 aA |
| 2-Testemunha tuim | 22,12 a | | 1,22 aA | 1,17 aA |
| 3-Laranja pera | 4 c | | 0 aD | 0 aF |
| 4-Cravo | 7,62 c | | 0 aD | 0 aF |
| 5- <i>Eucalyptus Citriodora</i> | 2,37 c | | 0 aD | 0 aF |
| 6-Tomilho | 3,25 c | | 0,69 aB | 0 bF |
| 7-Louro | 5,25 c | | 0 bD | 0,51 aD |
| 8-Goiaba | 3,25 c | | 1 bD | 0 aF |
| 9-Limão Tahiti | 11,25 b | | 0,30 bC | 0,86 aB |
| 10-Artemísia | 13,12 b | | 0,34 aC | 0,47 aD |
| 11-Pimenta rosa | 16,87 b | | 0,78 aB | 0 bF |
| 12-Melaleuca | 10,25 b | | 0,66 aB | 0,68 aC |
| 13-Tangerina cravo | 1 c | | 0 bD | 0,30 aE |
| 14-Gengibre | 3,87 c | | 0 bD | 0,69 aC |
| 15-Capim limão | 0,25 c | | 0 aD | 0 aF |
| 16-Pripioca | 1,62 c | | 0 aD | 0 aF |
| 17-Canela | 0 d | | 0 aD | 0 aF |
| 18-Pitanga | 0 d | | 0 aD | 0 aF |
| 19-Guaçatonga | 0 d | | 0 aD | 0 aF |
| COEFICIENTE DE VARIAÇÃO | CV%= 87,26 | | CV% = 39,70 | |

Médias seguidas de letras distintas minúsculas na coluna e maiúsculas na linha para a mesma variável diferem entre si, pelo teste de Skott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Efeito 01: Escleródios submetidos a tratamento de imersão (Para 60 escleródios - Produto + 2ml de H₂O + 1 gota de tuim) por 2 minutos.

Efeito 02: Escleródios submetidos a tratamento volátil (Para 15 escleródios (30µL de produto em papel filtro).

4.2.2 Viabilidade de escleródios e estipes

A Tabela 4 mostra a viabilidade dos escleródios na germinação de estipes e na formação de apotécios que apresentavam a capacidade de liberar ascósporos. Ocorreu uma interação entre os tratamentos e os efeitos.

Para o percentual de escleródios que emitiram estipe, as testemunhas novamente não se diferenciaram entre si para o efeito Tratado, e apresentaram índices de viabilidade de 78,33% e 73,33% para os tratamentos 1 e 2 respectivamente. As mesmas se diferenciaram estatisticamente dos demais tratamentos. Seguindo, os tratamentos que apresentaram boa viabilidade foram 3, 4, 6, 10, 12, e apresentaram médias de 10 a 21,66%.

Os tratamentos 5, 7, 8, 9 e 15 obtiveram índices de viabilidade na germinação de escleródios de 8,33%, 10%, 6,66%, 8,33% e 1,66% respectivamente, não se diferenciando entre si, e se diferenciando dos demais estatisticamente. Por fim, os tratamentos que mais obtiveram resultados no efeito Tratado, foram os tratamentos 13, 14, 16, 17, 18 e 19, não se diferenciando estatisticamente entre si, e apresentando índice de viabilidade de 0%.

Para o efeito volátil quando analisados viabilidade de escleródios, os tratamento 1 e 2 não se diferenciaram estatisticamente entre si, tanto entre tratamento quando para efeito, das demais testemunhas. Porém, se igualaram estatisticamente também aos tratamentos 9, 10, 11, 12 e 14, apresentando percentuais de viabilidade acima de 50%.

Os tratamentos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 13, 15 e 16 apresentaram percentual de germinação mais baixo, quando comparado com os demais, e não se diferiram entre si, porém se diferiram dos demais. Por fim, os tratamentos que não apresentaram viabilidade de esclerócio para o efeito Volátil, foram Canela (17), Pitanga (18) e Guaçatonga (19), com percentuais de viabilidade de 0%.

Para as análises de percentual de escleródios que emitiram apotécios no efeito Tratado, as testemunhas se diferiram estatisticamente entre si, apresentando médias do percentual de escleródios que emitiram estipe de 17,08 e 12,08% respectivamente para os tratamentos 1 e 2. A testemunha sem a adição de tuim, apresentou maior percentual quando comparado com os demais tratamentos, se diferenciando estatisticamente de todos os demais. Já para a testemunha onde se fez a adição de tuim, a mesma se igualou estatisticamente somente com o tratamento com óleo essencial de Pimenta Rosa (11), apresentando percentuais de 12,08 e 5% respectivamente, diferenciando-se dos demais.

Para os tratamentos tomilho (6), limão tahiti (9), e melaleuca (12), os mesmos não se diferenciaram estatisticamente entre si, e seus percentuais de viabilidade foram de 0,83, 0,41 e 1,66% respectivamente. Por fim, os tratamentos sob o efeito tratado que apresentaram viabilidade de 0%, foi os tratamentos 3, 4, 5, 7, 8, 10, 13, 14, 15, 16, 17, 18 e 19, o que mostra que estes tratamentos sob o efeito volátil apresentam resultados positivos no controle de *S. sclerotiorum*, afetando com isso a viabilidade dos escleródios, e com isso, inibindo a germinação de estipes.

Por fim, para o efeito volátil as testemunhas não se diferenciaram estatisticamente entre si, e se igualaram com o tratamento limão tahiti (9), apresentando percentuais de 15, 9,58 e 7,08% respectivamente. Os tratamentos 7, 10, 12 e 14 também não se diferiram entre si, porem se diferenciando dos demais tratamentos. Com 0,41%, o tratamento tangerina cravo (13) se diferenciou estatisticamente dos demais tratamentos. Apresentando 0% de percentual de escleródios que emitiram apotécio, os tratamentos 3, 4, 5, 6, 8, 15, 16, 17, 18 e 19 mostraram-se eficazes no controle do fitopatógeno sob o efeito volátil como pode se observa na figura 8.

Segundo Abawi e Grogan, (1979) para que ocorra a infecção do hospedeiro *S. sclereotiorum* ele necessita de uma fonte exógena de energia que na maioria das culturas são as flores (Steadman, 1983), dessa forma a época do florescimento é crucial para que a doença se estabeleça.

Resultados de pesquisas sobre a eficiência de produtos indicam que o fungicida benomyl não controla a doença sob mais de 20 apotécios/m² (Letham et al. 1976), e que o procymidone não a controla sob mais de 19 escleródios/m² (Costa 1997).

Sendo assim, considerando que a principal rota de infecção dessa doença seja as flores, mesmo os óleos que inibem parcialmente a germinação carpogênica, ou seja, no período de florescimento da cultura, terá potencial para o controle da *S. sclereotiorum*, pois, no momento da liberação de esporos pelo apotécio, o período de maior predisposição da cultura à infecção terá sido ultrapassada.

Segundo Steadman (1983), os fungicidas tornam-se mais eficientes quando há uma boa cobertura ou proteção das flores. Entretanto, nos cerrados brasileiros, a principal forma de aplicação desses produtos é por fungigação, onde o solo em que se encontra os escleródios do fungo torna-se alvo indireto de controle da doença.

Tabela 4. Média percentual de escleródios viáveis na germinação de estipes e na formação de apotécios. Dois Vizinhos-PR, 2015.

| TRATAMENTO | PERCENTUAL DE ESCLERÓDIOS QUE EMITIRAM ESTIPES | | PERCENTUAL DE ESCLERÓDIOS QUE EMITIRAM APOTÉCIOS | |
|---------------------------------|--|-----------|--|-----------|
| | EFEITO 01 | EFEITO 02 | EFEITO 01 | EFEITO 02 |
| 1-Testemunha | 78,33 aA | 78,33 aA | 17,08 Aa | 15 aA |
| 2-Testemunha tuim | 73,33 aA | 70 aA | 12,08 aB | 9,58 aA |
| 3-Laranja pera | 10 aB | 13,33 aB | 0 aD | 0 aD |
| 4-Cravo | 18,33 aB | 26,66 aB | 0 aD | 0 aD |
| 5- <i>Eucalyptus Citriodora</i> | 8,33 aC | 13,33 aB | 0 aD | 0 aD |
| 6-Tomilho | 11,66 aB | 11,66 aB | 0,83 aC | 0 aD |
| 7-Louro | 10 aC | 28,33 aB | 0 bD | 3,33 aB |
| 8-Goiaba | 6,66 aC | 8,33 aB | 0 aD | 0 aD |
| 9-Limão Tahiti | 8,33 bC | 50 aA | 0,41 bC | 7,08 aA |
| 10-Artemísia | 21,66 bB | 55 aA | 0,83 aC | 1,25 aB |
| 11-Pimenta rosa | 55 aA | 53,33 aA | 5 aB | 0 aD |
| 12-Melaleuca | 15 bB | 50 aA | 1,66 aC | 2,91 aB |
| 13-Tangerina cravo | 0 bD | 10 aB | 0aD | 0,41 aC |
| 14-Gengibre | 0 bD | 30 aA | 0 bD | 2,5 aB |
| 15-Capim limão | 1,66 aC | 1,66 aB | 0aD | 0 aD |
| 16-Pripioca | 0 bD | 13,33 aB | 0 aD | 0 aD |
| 17-Canela | 0 Ad | 0 aC | 0 aD | 0 aD |
| 18-Pitanga | 0 aD | 0 aC | 0 aD | 0 aD |
| 19-Guaçatonga | 0 aD | 0 aC | 0aD | 0 aD |
| COEFICIENTE DE VARIAÇÃO | CV% = 20,67 | | CV% = 99,87 | |

Médias seguidas de letras distintas minúsculas na coluna e maiúsculas na linha para a mesma variável diferem entre si, pelo teste de Skott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Efeito 01: Escleródios submetidos a tratamento de imersão (Para 60 escleródios - Produto + 2ml de H₂O + 1 gota de tuim) por 2 minutos.

Efeito 02: Escleródios submetidos a tratamento volátil (Para 15 escleródios (30µL de produto em papel filtro)).

No gráfico abaixo (20) é possível observar os resultados demonstrados da tabela anterior (4), mas de uma forma mais visual. Onde claramente se consegue observa os óleos que tiveram efeito fungicida inibindo a emissão de apotécios e sendo viáveis ao controle da *S. sclereotiorum* pois os ascósporos não conseguiram se propagar e dessa forma não houve a disseminação da doença.

Zanella et. All (2015) observaram nas avaliações a germinação carpogênica sob o óleo de *S. terebinthifolius* foi baixa, semelhantemente à germinação carpogênica sob o fungicida procimidone e diferente a este trabalho que os óleos 3, 4, 5, 8, 15, 16, 17, 18 e 19 inibiram totalmente a germinação de apotécios.

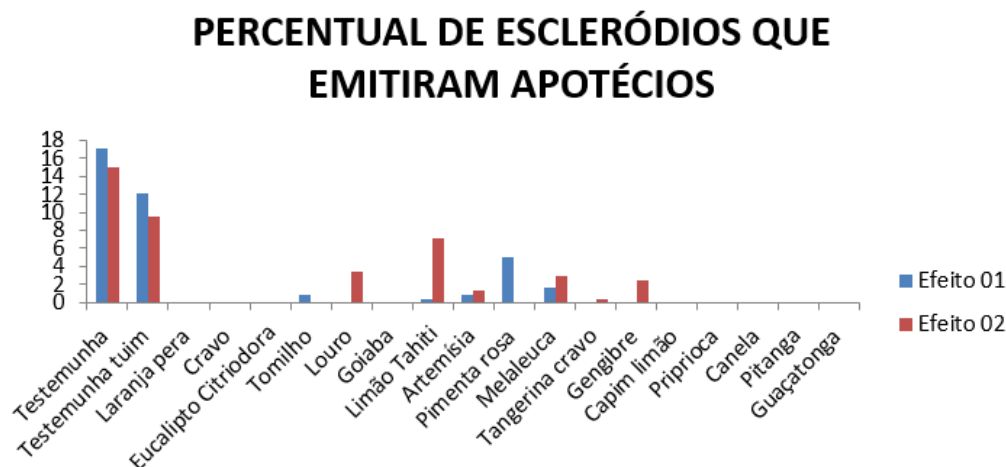
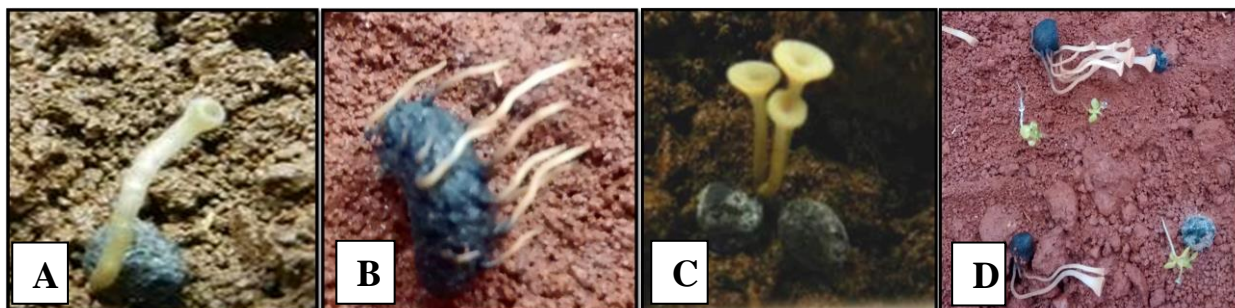


Gráfico 20 – Percentual de escleródios que emitiram apotécios nos diferentes tratamentos e nos diferentes efeitos, tratado e volátil.

Fonte: A autora (2015).

Em trabalho de COSTA (2004) é possível observar quanto à formação de apotécios, todos os fungicidas diferiram da testemunha revelando inibição significativa nessa formação. Na figura 8 consegue-se observar as avaliações da testemunha na qual se diferiu estatisticamente dos demais tratamentos emitindo ao final do experimento uma maior porcentagem de estipes e apotécios viáveis e capazes de contaminar uma cultura.



Fotografia 8: A: presença de 1 estipe; B: presença de 11 estipes; C: presença de 3 apotécios; D: presença de 5 apotécios.

Fonte: A autora (2015).

5 CONCLUSÕES

Com base nos dados obtidos conclui-se que:

Os óleos essenciais que mostraram efeito fungicida inibindo a germinação miceliogênica dos escleródios no efeito tratado foram Atermisia e Melaleuca. E em ambos os efeitos tanto tratado quanto volátil foram o Louro, Capim limão, Canela e Guaçatonga.

Para a germinação carpogênica dos escleródios na emissão de estipes os óleos de Tangerina, Gengibre e Priprioca inibiram totalmente a germinação de estipes no efeito tratado. Já a Canela, Pitanga e a Guaçatonga inibiram a germinação nos dois efeitos.

Na emissão de apotécios os óleos de Tomilho e a Pimenta Rosa demonstram efeito fungicida no efeito Volátil. Os óleos de Louro, Tangerina cravo e o Gengibre também inibiram a emissão de apotécios, porém estes no efeito Tratado.

E os óleos que foram fungicidas nos dois deferentes efeitos foram a Laranja Pera, Cravo, Eucalipto, Goiaba, Capim limão, Priprioca, Canela, Pitanga e Guaçatonga.

Os óleos essenciais em sua maioria foram mais eficazes que as testemunhas na inibição da germinação miceliogênica e carpogênica dos escleródios.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sugere-se novos trabalhos que envolvam outras espécies de óleos essenciais bem como a avaliação em diferentes concentrações, pois alguns óleos testados podem não ter demonstrado um efeito tão satisfatório devido a concentração não ser a adequada.

E com os resultados dos melhores óleos sugere-se que seja feita análises de estudo das suas composições químicas.

REFERÊNCIAS

ABAWI, G.S.; GROGAN, R.G. **Epidemiology of diseases caused by Sclerotinia species.** *Phytopathology*, v.69, n.8, p.899-904, 1979.

ACCORSI, Walter Radames; HAAG, Henrique P.; MELLO, F. A. F.; BRASIL SOBRINHO, M. O. C. Sintomas externos (morfológicos) e internos (anatômicos), observados em folhas de goiabeira (*Psidium guajava* L.), de plantas cultivadas em solução nutritiva com carência de macronutrientes. **Anais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, Piracicaba, v. 17, n. 1, p. 3-13, 1960.

ADAMS, Peter B. & AYERS, Wayne A. 1979. **Ecology of Sclerotinia species.** *Phytopathology*, 69 (8): 896-899.

AGRIOS, George N. **Plant Pathology.** 4 ed. San Diego: Academic Press, 1997.

ALBUQUERQUE, J. M. De. **Plantas medicinais de uso popular.** Brasília, ABEAS/MEC, 1989. 96p.

ALVES, Héio de M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. **Caderno Temático de Química Nova na Escola**, São Paulo, n 3, Mar. 2001.

APEL, Mirian. Óleos voláteis de espécies da subtribo *eugeniinae* (*Myrtaceae*): **composição química e atividades antimicrobiana e antiinflamatória.** Porto Alegre, 256p. Tese de Doutorado, Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2001.

AURICCHIO, Mariângela Tirico; BACCHI, Elfriede M Marianne. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitangueira): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo (SP), v. 62, n. 1, p. 55-61, 2003.

ATTI-SANTOS, A.C.; ROSSATO, M.; SERAFINI, L.A.; BUENO, M.; CRIPPA, L.B.; SARTORI, V.; DELLACASSA, E.; MOYNA, 2010. P. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal of Pharmacognosy.** v. 20, p.564.

BARRETO, Maurício L. Doenças do amendoim. In: KIMATI, H.; et al. **Doenças de plantas cultivadas.** Manual de fitopatologia, v. 2, p.65-77, 1997.

BENNIS, S.; CHAMI, F.; CHAMI, N.; BOUCHIKHI, T.; REMMAL, A. Letters in Applied Microbiology. 38, 454, 2004.

BILLERBECK, Virginia. G. De; ROQUES, Christine G.; BESSIERE, Jean-Marrie; FONVIEILLE, Jean-Louis; DARGENT, Robert Rev. **Can. Microbiol.**, 47, 9, 2001.

BOLTON, Melvin D.; THOMMA, Bart P. H. J.; NELSON, Berlin D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, Lancaster, v. 11, n. 1, p. 1-16, 2006.

CAMPANHOLA, Clayton. **Métodos alternativos de 132 controle fitossanitário**. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, p.279, 2003.

CARVALHO, PER. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, v. 1, p 1039. 2003.

CECHINEL FILHO, Valdir; YUNES, Rosendo A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, São Paulo, v.27, n.1,p.99-105, jan./fev.1998.

CHAVES, G. M. Estudos sobre *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary. **Experimentae**, Viçosa, v. 4, n. 2, p. 64-133, 1964.

CHONG, B.S., FORD, T.R.P. & KARIYAWASAM, S.P. *International Endodontic Journal*. 30, .240, **1997**.

COUCHMAN, F.M.; PINDER, A.R.; BROMHAM, N.H. Studies on the essential oil of *Cyperus articulatus* L. **Tetrahedron**, v. 20, n.9, p. 2037 – 2045, 1964.

COSTA, J. L.S. 1997. Soil inoculum density limitg the effectiveness of chemicals on the control of white mold in dry beans. In *Resistance - Integrated Approach to Combating Resistance*. IACR. Rothamsted, Harpenden, Hertsuk.

CRATO, FAUSTO FERNANDES. **Quantificação de escleródios e germinação miceliogênica e carpogênica de *sclerotinia sclerotiorum* oriundos da cultura da soja tratada química e biologicamente**. 2013. Dissertação - Mestrado, área de concentração em Fitopatologia a presentada à Universidade Federal de Uberlândia, Uberlandia, 2013.

CRAVEIRO, Afrânio Aragão; FERNANDES, A. G.; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, Francisco José De Abreu; ALENCAR, José Wilson; MACHADO, Maria Iracema Lacerda **Óleos essenciais de plantas do nordeste**. [S. 1.]: UFC, 1981. 210 p.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of Lowe ring plants**. 2 ed. New York, The New York Botanical Garden. 1988. 279p.

CUELLAR, A. C.; LARA, R. A.; ZAYAS, J. P. *Psidium guajava* L. Tamizaj fitoquímico y estudio del aceite esencial. **Revista Cubana de Farmacia**, La Itabana, v. 18, n. 1, p. 92-99, 1984.

DORAN, J. Christopher. Commercial sources, uses, formation, and biology. In: BOLAND, D.J.; BROPHY, Dorman, H.J.D. & Deans, S.G. *Journal of Applied Microbiology*. 88, p.308, **2000**.

FERRAZ, C.L.L.; CAFÉ FILHO, A.C. meios de cultura e fatores culturais para produção de escleródios e apotécios de *Sclerotinia sclerotiorum in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.23, p.364-369, 1998.

GUENTER, R. 1972. The Essential Oils. In RE Krieger, **Publishing Co**, New York, Vol 1-6, 3894 pp.

GUSTAFSON, J. E. et al. Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. **Letters in Applied Microbiology**, v.26, p.194-198, 1998.

GUTIERREZ, A. de S.; WATANABE, H.; SHMIDT, M. dos R. A goiaba em números, **Frutas e Legumes**, São Paulo, v. 2, n. 14, p. 18-21, maio/jun. 2002.

HAWKSWORTH, D. L. et al. **Dictionary of the fungi**. 8. ed. Wallingford: CAB International, 1995, 616p.

HUINTER, J.E.; ABAWI, G.S.; CROISER, D.C. 1978. Effects of timing, coverage, and spray oil control of white mold of snap bean with benomyl. *Plant Disease Report*, v.62, n.7, p.633-637, 1978.

IDSTEIN, Heinz; BAUER, Claudia; SCHREIER, Peter. Volatile acids in tropical fruits: cherimoya (*Annona cherimolia*, Mill.), guava (*Psidium guajava*, L.), mango (*Mangifera indica*, L., var. Alphonso), papaya (*Carica papaya*, L.). **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung**, New York, v. 180, n. 5, p. 394-397, 1985.

INSTITUTO BIOLÓGICO. Disponível em: <<http://www.biologico.sp.gov.br/>>. Acessado em 6 de maio de 2015.

JULIATTI, F. C.; REZENDE, A. A.; CAIRES, A. M.; AGUIAR, P.; CARNEIRO, L. M. S. Diferentes manejos no controle da podridão branca da haste da soja (*Sclerotinia sclerotiorum*). in: Reunião de pesquisa de soja da região central do Brasil, 31. **anais...** Brasília, DF, 2010.

JUNGLES, M. J.; SCHENKEL, Eloir Paulo; SIMÕES, C. M. O. **Caderno de Farmácia**, 1º p. 95-101, 1985.

LAHIOU, M. 2004. **Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils**. *Phytother Res* 18: 435-448.

LAWLESS, Jennifer. The illustrated encyclopedia of essential oils: the complete guide to the use of oils in aromatherapy and herbalism. **Elements Books**, 1995, p.115.

LEITE, Regina Maria Vilas Boas De Campos. **Ocorrência de doenças causadas por Sclerotinia sclerotiorum em girassol e soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2005, 3 p. (Comunicado Técnico 76)

LENZI, Maurício & ORTH, Afonso Inácio. Fenologia reprodutiva, morfologia e biologia floral de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), em restinga da Ilha de Santa Catarina, Brasil. **Biotemas (UFSC)**, 17: 67-89. 2004.

LETHAM, D. B., D. O. HUETT & D. S. TRIMBOLI. 1976. Biology and control of *Sclerotinia sclerotiorum* in cauliflower and tomato crops in coastal New South Wales. *Plant Disease Report*, 60 (4): 286-289.

LIMA EOL, FARIAS NMP. **Atividade antifúngica de óleos essenciais, obtidos de plantas medicinais, contra leveduras do gênero Candida**. *Rev Bras Ciênc Saúde*. (1/3):51-64. 1993.

LORENZI Harri; MATOS Francisco J.. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odesa, Instituto Plantarum, 2002, 252p. 2002

LORENZI, Harri; **Árvores Brasileiras**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. p. 115.

MAIA, José Guilherme S.; ZOGHBI, Maria dos G. B.; ANDRADE, Eloísa H. A. *Plantas aromáticas na Amazônia*. Belém: Goeldi Editoração, 2001, p.63.

MANICA, I.; ICUMA, I. M.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SALVADOR, J. O; MOREIRA, Adônis; MALAVOLTA, E. **Goiaba**. Porto Alegre, RS, 2000. 374 p. (Serie Fruticultura Tropical 6).

MAY, A. et al. Influência do intervalo entre cortes sobre a produção de biomassa de duas espécies de capim limão. **Horticultura Brasileira**, v.26, n.3, p.379 -382. 2008.

MAZARO, Sergio Miguel; CITADIN, Idemir; GOUVÊA, Alfredo de; LUCKMANN, Daiane; GUIMARÃES, Sabrina Santos. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira. **Revista Ciência Rural**. Santa Maria (SC), v. 38, n. 7, p. 1824-1829, 2008.

MEDICE, Regiane. **Avaliação de óleos essenciais no controle da Phakopsora pachyrhizi agente da ferrugem asiática da soja em casa-de-vegetação**. 2005. 32p. Monografia. (Graduação em Agronomia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MENDES, Maria Aguiar Sabo; et al. **Fungos em Plantas no Brasil**. Brasília, DF. Embrapa Cenargen, 569 p. 1998.

NASCIMENTO, Gislene G. F.; JULIANA LOCATELLI, J.; FREITAS, Paulo C.; SILVA, Giuliana L. Antibacterial Activity of Plant Extracts and Phytochemicals on Antibiotic-Resistant Bactéria, **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 31, n. 4, p. 247-256, Oct./Dec. 2000.

NATURA EKOS. Disponível em: <<http://www.naturaekos.com.br/biodiversidade/priprioica>>. Acesso em: 20/04/2015.

NELSON, B. **Biology of Sclerotinia**. In: proceedings of the sclerotinia workshop. 2002.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger principios de bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

NOGUEIRA, J. N.; SOUBIHE SOBRINHO, J.; VENCOSVSK, Y. R.; FONSECA, H. Effect of storage on the levels of ascorbic acid and beta-carotene in freeze dried red guava (*Psidium guajava* L.). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 28, p. 363-377, 1978.

NYASSE, Barthelemy; GHOGOMU TIH, R.; SONDEGAM, Beibam L.; MARTIN, Matthew T.; BODO, B. Mandassidione and other sesquiterpenic ketones from *Cyperus articulatus*. *Phytochemistry*, v. 27, n. 10, p. 3319-3321, 1988.

OLIVEIRA, Tânia Toledo. **Avaliação toxicológica, caracterização de atividades biológicas, toxicologia e controle de qualidade do fitoterápico Larix**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 64p. (Projeto de Pesquisa).

OOTANI, MARCIO AKIO. **Atividade Inseticida, Antifúngica e Herbitóxica dos Óleos Essenciais de *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon nardus***. Dissertação – mestrado em produção vegetal apresentada à Universidade Federal do Tocantins campus universitário de Gurupi, Gurupi, 2010.

OPUTE, Frederik Idiem. The component fatty acids of *Psidium guajava* seed fats. **Journal of Science and Food Agriculture**, London, v. 29, n. 8, p. 737-738, Aug. 1978.

PEREIRA, Flavio Medeiros. **Cultura da Goiabeira**. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 47 p.

PHILLIPS, Alan J. L. Carpogenic germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*: a review. **Phytophylactica**, Pretoria, v. 19, n. 2, p. 279-283, 1986.

PINO, José A.; AGUERO, Jorge M.; MARBOT, Rolando; FUENTES, V. Leaf oil of *Psidium guajava* L. from Cuba. **Journal Essential Oil Research**, Carlo Stream, v. 31, n. 1, p. 61-62, Jan./Feb. 2001.

PIO CORRÊA, Manuel. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, Ministério da Agricultura, 1984, p.655.

PLETSCH, Angela M. Compostos naturais biologicamente ativos. **Biotecnologia: Ciência e Desenvolvimento**. Brasília, DF 4: 12-15. 1998.

PURDY, L. H. *Sclerotinia sclerotiorum*: History, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution, and impact. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 69, n. 8, p. 875-880, 1979.

QIAN, He.; NIHORIMBERE, Venant, Antioxidant power of phytochemicals from *Psidium guajava* leaf, **Journal of Zhejiang**, Hangzhou, v. 5, n. 6, p. 676-683, 2004.

REIS, A.; LOPES, Cristiano Aguiar. **Principais fungos de solo em hortaliças: epidemiologia e manejo**. In:

REIS, Erl. Melo; TOMAZINI, S. L. Viabilidade de esclerócios de *Sclerotinia sclerotiorum* em duas profundidades no solo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 31, p. 97-99, 2005.

RIEDL, R. W. Pratical methods for using tea tree oil. **Agro-Food Industry/Hi-Tech**. Ballina, set/oct, p.34-36, 1997.

ROCHA, R. P. **Manejo da podridão de esclerotinia (*Sclerotinia sclerotiorum*) e míldio (*Bremia lactucae*) na cultura da alface**. 2007. 95f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Agricultura) – Setor de Ciências Agrárias e de Tecnologia, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2007.

RSTUDIO, Team (2015). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>

RSTUDIO. Disponível em: Acesso em: 20 out. 2015.

SAHARAN, G.S.; MEHTA, N. **Sclerotinia diseases of crop plants: biology, ecology and disease management**. New Delhi: Springer, 2008, 486 p.

SANTOS, A. C. A., SERAFINI, L. A., CASSEL, E. **Estudo de processos de extração de óleos essenciais e bioflavonóides de frutas cítricas**. Caxias do Sul: EDUCS, p. 19-29, 2003.

SANTOS, A.C.A.; ROSSATO, M., AGOSTINI, F., SERAFINI, L.A., SANTOS, P.L., MOLON, R., DELLACASSA, E., MOYNA, P. Chemical Composition of the Essential Oils from Leaves and Fruits of *Schinus molle* L and *Schinus terebinthifolius* Raddi from Southern Brazil. **Journal of Essential Oils Bearing Plants**, v. 12, p. 16-25, 2009.

SANTOS, R. I. Metabolismo Básico e origem dos Metabólitos Secundários. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTELZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre, RS: Ed. da UFSC, 2004. 1102 P.

SAUGO, Ricardo Antônio; LOBO, Viviane da Silva. **Extração do óleo essencial de folhas de louro (*laurus nobilis* L.)**. Seminário interno da Universidade Tecnológica Federal do Paraná campus Toledo, Toledo, 2012.

SCAVONE, Orestes; GRECCHI, R.; PANIZZA, S.; SILVA, R. A. P. S.; **Anais de Farmácia e Química de São Paulo**, v. 19, n.1, p. 73-81, 1979.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. et al. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, v.30, n.1 / 2, p.129-137, 2000.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. **Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas**. Fitopatologia Brasileira. v. 28, p. 554-556, 2003.

SERTIÉ, J. A. et al; **25ª Reunião anual da SBQ- Livro de resumos**, PN-170, 2001. In: reunião anual da sociedade brasileira de química, 25, 2002, Poços de caldas. **Resumos...** São Paulo: SBQ, 2002. p. 170.

SIDDIQUI R, ZUNINO MP & ZYGADLO JÁ. Tagetes minuta and Schinus areira essential oils as allelopathic agents. **Biochemical Systematics and Ecology** 31: 563-572.2003.

SILVA, F. de A.S. e & AZEVEDO, C.A.V de. Principal components Analysis in the Software Assistat-Statistica Attendance, In: **World congress on computer in agriculture**, 7, Reno-NV-USA; American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SIMÕES, C. M. O.; SHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre, RS: Ed. da UFSC, 2004. 1102 p.

SIMÕES, C.M.O.et al. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 5.ed. Porto Alegre:Universidade/UFRGS, 1998. 173p.

SOUZA FILHO, A. P. S.; SANTOS, R. A.; SANTOS, L. S.; GUILHON, G. M. P.; SANTOS, A. S.; ARRUDA, M. S. P.; MULLER, A. H.; ARRUDA, A. C. **Potencial alelopático de Myrcia guianensis**. Planta Daninha, Viçosa, v. 24, n. 4, p. 649-656, 2006.

STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; NOZAKI, M. H. 1999. Plantas medicinais e o controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, 11: 18p.

TAIZ, Lincoln.; ZEIGER, Eduardo. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2004. 719 p.

TALAPATRA, S. K.; CANGULY, N. C.; GOSWAMI, S.; TALAPRA, B.; **Chemical Journal of Natural Products**, v. 46, n. 3, p.401-408, 1983.

Tsao, R. & Yu, Q. Journal of Essential Oil Research. 12, .350, 2000.

WILLETS, H.J. & J.A.L. WONG. **The biology of Sclerotinia sclerotiorum**, S. trifoliorum, S. minor with emphasis on specific nomenclature. Botanical Review, 46 (2): 102-165. 1980.

YADAV, S. et al. Zingiber officinale Rosc.: A Monographic Review Research & Reviews: **Journal of Botany** v.1, n.1, p.45-50, 2012

YOUSUFI, Mahmood Khan; To Study Antiacterial Activity of Allium Sativum, Zingiber officinale and Allium Cepa by Kirby-Bauer Method. **IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences**. v.4, n.5, p.6-8, 2012.

ZAMBONELLI, Alessandra et al. Effects of essential oils on phytopathogenic fungi in vitro. **Journal of Phytopathology**, v.144, p.491-494, 1996.

ZAMBOLIM, L.; LOPES, Carlos Alberto.; PICANÇO, M. C.; COSTA, H. (Org). Manejo integrado de doenças e pragas: hortaliças. Viçosa: UFV. p.189-224, 2007.

ZANELLA, C.S.; GAVASSONI, W.L.; BACCHI, L.M.A.; FORMAGIO, A.S.N. Atividade de óleos e extratos vegetais sobre germinação carpogênica e crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.82, p. 1-8, 2015.

ABAWI, G.S.; GROGAN, R.G. Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species. *Phytopathology*, v.69, n.8, p.899-904, 1979.

COSTA, J. L.S. 1997. Soil inoculum density limiting the effectiveness of chemicals on the control of white mold in dry beans. In *Resistance - Integrated Approach to Combating Resistance*. IACR. Rothamsted, Harpenden, Hertsuk.

LETHAM, D. B., D. O. HUETT & D. S. TRIMBOLI. 1976. Biology and control of *Sclerotinia sclerotiorum* in cauliflower and tomato crops in coastal New South Wales. *Plant Disease Report*, 60 (4): 286-289.

STEADMAN, J.R. White-mold – a serious yield-limited disease of bean. *Plant Disease*, v.67, n.4, p.346-350, 1983.

STEADMAN, J. R. 1983. White mold- a serious yield-limiting disease of bean. *Plant Disease Report*, 67 (4):346-350.