



## Atividade antifúngica de óleos essenciais frente a *Macrophomina phaseolina*

Ana Rosa de FIGUEIREDO<sup>1\*</sup>, Leirson Rodrigues da SILVA<sup>1\*\*</sup>,  
Lília Aparecida Salgado de MORAIS<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brasil.

<sup>2</sup>Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ, Brasil.

\*E-mail: [ana.agroambiente@gmail.com](mailto:ana.agroambiente@gmail.com)

\*\*In Memoriam

Submetido em 07/05/2022; Aceito em 07/02/2023; Publicado em 16/03/2023.

**RESUMO:** *Macrophomina phaseolina* é um fitopatógeno de solo com ampla distribuição geográfica, responsável por ocasionar perdas econômicas graves incitando sintomas de podridões no sistema radicular e caule das plantas infectadas. Há uma demanda mundial crescente por novos tratamentos, que promovam a segurança alimentar e nutricional, com substâncias mais eficazes e menos danosas ao equilíbrio dos ecossistemas. O objetivo da pesquisa foi avaliar o efeito antifúngico *in vitro* de óleos essenciais (OEs) sobre o crescimento micelial de *M. phaseolina*. Os OEs utilizados foram testados nas doses 0,8; 1,6; 3,2; 6,4 e 12,8 µL por superfície do meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar). Foram analisadas a inibição do crescimento micelial e a taxa de crescimento micelial. As avaliações consistiram em aferições dos diâmetros de crescimento com 3 e 6 dias de incubação. Os OEs de canela, a partir da dose inicial testada; orégano e cravo, na dose 3,2 µL demonstraram atividade antifúngica contra *M. phaseolina*. Já os OEs de manjerição, melaleuca, citronela, menta e tomilho demonstraram atividade fungistática. Os OEs de gengibre e laranja inibiram menos de 40% o crescimento micelial. Atingiu-se a inibição total do crescimento micelial com os OEs de canela, orégano e cravo, portanto, apresentaram potencial de uso como agente biofúngida.

**Palavras-chave:** produtos naturais; podridão radicular; química verde.

## Antifungal activity of essential oils against *Macrophomina phaseolina*

**ABSTRACT:** *Macrophomina phaseolina* is a soil-borne phytopathogen with has a wide geographical distribution, being responsible for causing serious economic losses inciting stem and root rot symptoms of infected plants. There is a growing worldwide demand for new treatments that promote food and nutritional security, with substances that are more effective and less harmful to the balance of ecosystems. Thus, this research aimed to evaluate the *in vitro* antifungal effect of essential oils (EOs) on the mycelial growth of *M. phaseolina*. The EOs used were tested at doses 0.8; 1.6; 3.2; 6.4 and 12.8 µL per surface of the PDA (potato-dextrose-agar) culture medium. Mycelial growth inhibition and mycelial growth rate were analyzed. The evaluations consisted of measurements of the growth diameters with 3 and 6 days of incubation. The cinnamon EO, from the initial tested concentration; oregano and cloves EOs, at a concentration of 3.2 µL demonstrated antifungal activity against *M. phaseolina*. The EOs of basil, tea tree, citronella, mint and thyme showed a fungistatic activity. Ginger and sweet Orange EOs inhibited less than 40% of mycelial growth. The complete inhibition of mycelial growth was achieved with cinnamon, oregano and clove EOs, therefore, they presented potential for use as a biofungicide agent.

**Keywords:** natural products; root rot; green chemistry.

### 1. INTRODUÇÃO

*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. é um patógeno necrotrófico com ampla distribuição geográfica, que infecta mais de 600 espécies de plantas como soja, feijão, milho, fumo, melão, algodão, citrus, plantas medicinais, e pode ser transmitido por sementes, requerendo o tratamento sanitário (MACHADO et al., 2006). O fungo tem capacidade de ocasionar perdas econômicas graves, com ocorrência elevada a cada ano no Brasil (ALMEIDA et al., 2014; COSTA et al., 2019). Na planta hospedeira, ele age secretando uma série de enzimas degradantes que despolimerizam os componentes da parede celular, como celulose, xilana, pectina, ácido poligalacturônico (JAVOID; SADDIQUE, 2012), o que ocasiona nas plantas infectadas sintomas aparentes como apodrecimento de raízes, plantas murchas e perecimento. A

severidade da doença aumenta em condições de elevada temperatura (30 a 42 °C), pH do solo entre 5.4 a 6.0 e baixa umidade do solo (DHINGRA; SINCLAIR, 1978).

De acordo com Ghini; Kimati (2002), o uso de fungicidas é um dos principais métodos de controle de fitopatógenos. Entretanto, a resistência de organismos aos produtos usados no seu controle tem sido um grave problema e pode ocorrer devido ao uso inadequado, a pressão de seleção exercida pelo fungicida, a capacidade do fungo em detoxificar ou ainda, a seleção de linhagens resistentes. Outro entrave do uso de fungicidas sintéticos é que os ingredientes ativos são potencialmente prejudiciais à saúde e seus resíduos têm sido encontrado em amostras de frutas de acordo com o Programa de Avaliação de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos-PARA (BRASIL, 2017).

No manejo de patógenos de solo, o uso do gás brometo de metila era usual e frequente, com ação fumigante sobre uma ampla gama de organismos, mas bastante prejudicial à camada de ozônio, o uso deste gás foi completamente banido no Brasil em 2015, bem como por outros países signatários do Protocolo de Montreal (UNEP, 2000).

Morais (2009) enfatiza a necessidade da utilização de substâncias naturais no manejo de pragas e doenças, principalmente, diante sistemas orgânicos de produção, nos quais há necessidade de substituição de métodos convencionais por práticas agrícolas de baixo impacto ambiental. Óleos essenciais (OEs) têm sido utilizados no controle de fitopatógenos e no manejo de pragas de armazenamento em diversas pesquisas, tanto por ação biológica direta na inibição do crescimento micelial e germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de compostos com características

elicitoras de indução de mecanismos de defesa das plantas (RAJKUMAR et al., 2020).

Diante o exposto, o objetivo do presente estudo foi verificar *in vitro* a atividade antimicrobiana de OEs sobre o crescimento micelial de *M. phaseolina*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram testados os OEs comerciais (Ferquima) de diferentes espécies, conforme a Tabela 1.

Os ensaios foram conduzidos na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA, na unidade Embrapa Agrobiologia, localizada em Seropédica, RJ. O fungo *M. phaseolina* foi isolado em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) pelo método indireto a partir de amostras de solo infectadas, identificado por chaves sistemáticas de identificação, baseando-se em critérios morfológicos e cadastrado no SISGEN sob o número AB1F3D3.

Tabela 1. Óleos essenciais utilizados nos ensaios.

Table 1. Essential oils used in the tests.

Óleo essencial	Família	Obtenção
<i>Ocimum basilicum</i> (manjeriçom)	Lamiaceae	DV/ folhas
<i>Origanum vulgare</i> (orégano)	Lamiaceae	DV/ folhas
<i>Zingiber officinale</i> (gengibre)	Zingiberaceae	DV/ raiz
<i>Citrus sinensis</i> (laranja)	Rutaceae	PF/ casca dos frutos
<i>Eugenia caryophyllus</i> (cravo)	Myrtaceae	DV/ botões
<i>Cinnamomum cassia</i> (canela)	Lauraceae	DV/ folhas, talos e casca
<i>Melaleuca alternifolia</i> (melaleuca)	Myrtaceae	DV/ folhas
<i>Cymbopogon winterianus</i> (citronela)	Poaceae	DV/ folhas
<i>Mentha arvensis</i> (menta)	Lamiaceae	DV/ folhas
<i>Thymus vulgaris</i> (tomilho)	Lamiaceae	DV/ folhas e flores

<sup>DV</sup>Destilação a vapor; <sup>PF</sup>Prensagem a frio

Os OEs foram analisados em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas Agilent 5973N, equipado com coluna capilar HP-5MS utilizando-se o hélio (1,0 mL.min<sup>-1</sup>) como gás carreador. Foi injetado 1 µL de óleo essencial (OE) diluído em diclorometano. As temperaturas do detector e injetor foram 260°C e 240°C respectivamente, split 1:20, no seguinte programa de temperatura: 60°C-240°C (3°C.min<sup>-1</sup>). As análises foram feitas em triplicata e os constituintes químicos foram identificados pela comparação de seus espectros de massas e valores de índice de Kovats (IK) com o banco de dados do sistema Wiley 6th ed. e compostos conhecidos descritos na literatura (ADAMS, 2007). Os índices de retenção foram calculados a partir dos tempos de retenção dos componentes dos OEs utilizando-se uma série de n-alcenos (C7-C26).

Os bioensaios realizados para avaliação do crescimento micelial *in vitro* ocorreram de forma quantitativa, no qual o OE testado sofreu uma diluição em série solubilizado em metanol e 'tween 20' a 0,8% e testou-se a sensibilidade a um gradiente definido de concentrações. Foram dispensadas na superfície do meio de cultura BDA alíquotas de 40 µL de emulsões de cada OE, no qual consistiram em diferentes doses: 12,8; 6,4; 3,2; 1,6; 0,8 µL e o controle.

O fungo *M. phaseolina* foi isolado em meios de cultura BDA e ágar-água, caracterizado morfológicamente, conforme a literatura e chaves sistemáticas de identificação (DHINGRA; SINCLAIR, 1978), e a seguir foi cadastrado (SisGen: AB1F3D3).

Em condições assépticas, um disco de meio BDA de 5 mm de diâmetro com o micélio de cultura pura de *M.*

*phaseolina* crescido a dez dias foi transferido para as placas de Petri nos diferentes tratamentos. As placas foram imediatamente embaladas em papel filme e incubadas em câmara BOD (Biochemical Oxygen Demand), no escuro, a uma temperatura de 27°C. Para o controle foi utilizado o solvente metanol e 'Tween 20' a 0,8%. As avaliações consistiram em aferições dos diâmetros de crescimento. O diâmetro médio da colônia foi determinado por meio de mensurações em dois sentidos perpendiculares e calculada a taxa de inibição do crescimento micelial (ICM), com base nos diâmetros de crescimento fúngico da testemunha em relação ao crescimento do tratamento medidos ao 6º dia de incubação conforme a Equação 1 (COSTA et al., 2015).

$$ICM (\%) = \frac{\text{Controle} - \text{Tratamento}}{\text{Controle}} * 100 \quad (01)$$

A taxa de crescimento micelial (TxCM) foi mensurada a partir de diâmetros de crescimento fúngico com três e seis dias de incubação, em relação à testemunha conforme a Equação 2 (COSTA et al., 2015).

$$TxCM = \left( \frac{\text{Diâmetro do tratamento}}{\text{Diâmetro do controle}} \right) \quad (02)$$

De acordo com Dhingra e Sinclair (1978), a taxa de crescimento vegetativo de *M. phaseolina* é acelerada a princípio e atinge o máximo em mais ou menos 5 dias, logo após, há um decréscimo na taxa de crescimento. Por esse motivo, o crescimento micelial no presente estudo foi medido até o 6º dia de incubação.

### 3. RESULTADOS

A qualidade dos OEs foi verificada para a confiabilidade dos componentes presentes na sua composição. Os resultados das análises químicas dos OEs utilizados nesta pesquisa revelaram que os constituintes químicos majoritários mais frequentes nas amostras analisadas são monoterpênicos (Tabela 2), compostos altamente voláteis e de grande interesse por suas propriedades biológicas e potencial de uso para fins medicinais.

As colônias de *M. phaseolina* crescidas inicialmente eram brancas a cremes e progressivamente escureciam, conforme

se formavam os escleródios, até ficarem totalmente com a coloração preta. As hifas se ramificavam formando ângulos retos e após a ramificação, paralelas. Na Figura 1, observa-se o enovelamento de hifas para a formação de microescleródios que, quando totalmente formados apresentavam coloração preta. Nos meios de cultura BDA e ágar-água, os microescleródios se apresentavam tanto expostos na superfície do meio cultura, como aéreos ou ainda, penetrado no ágar e envolto às hifas. As características morfológicas foram conforme às características típicas de *M. phaseolina*.

Tabela 2. Principais constituintes químicos (%) dos óleos essenciais.  
Table 2. Main chemical constituents (%) of essential oils.

Constituintes químicos (%)	Man <sup>2</sup>	Ore <sup>3</sup>	Gen <sup>4</sup>	Lar <sup>5</sup>	Cra <sup>6</sup>	Can <sup>7</sup>	Mel <sup>8</sup>	Cit <sup>9</sup>	Men <sup>10</sup>	Tom <sup>11</sup>
$\alpha$ -pineno*	1,56	1,88	1,3	2,9	--	1,26	2,34	--	0,25	0,64
Canfeno*	--	0,79	4,35	--	--	0,59	--	--	--	0,95
Mirceno*	--	--	1,35	1,8	--	--	--	--	0,53	0,54
$\alpha$ -terpineno*	--	--	--	--	--	--	8,53	--	0,84	5,68
Para-cimeno	--	2,25	--	--	--	--	4,17	--	--	21,9
Limoneno*	--	--	--	76,2	--	0,57	7,53	1,29	1,26	0,36
1.8-cineol*	15,6	0,95	10,85	--	--	1,26	6,39	--	0,68	0,53
Gama-terpineno*	--	2,25	--	--	--	--	19,2	--	--	4,72
Linalol*	21,76	--	1,8	8,92	--	0,85	--	--	--	2,35
Citronelol*	--	--	1,52	--	--	--	--	5,18	--	--
Cânfora*	11,86	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Citronelal*	--	--	0,74	1,25	--	--	--	23,2	--	--
Mentol*	--	--	--	--	--	--	--	--	90,2	--
Borneol*	--	0,68	1,2	--	--	0,7	--	--	--	--
Terpinen-4-ol*	2,46	1,04	--	--	--	1,18	37,3	--	--	--
$\alpha$ -terpineol*	--	--	--	--	--	1,72	5,58	--	--	--
Neral*	4,35	--	14	0,84	--	--	--	--	--	--
Geraniol*	--	--	5,68	--	--	--	--	33,7	--	--
Geranial	7,52	--	20,9	--	--	--	--	0,75	--	--
(E)- Cinamaldeído	--	--	--	--	--	93,8	--	--	--	--
Acetato de bornila	--	--	--	--	--	1,11	--	--	--	0,36
Timol*	--	1,45	--	--	--	--	--	--	--	41,2
Carvacrol*	--	74,9	--	--	--	--	--	--	--	3,53
Eugenol*	11,31	--	--	--	61,42	--	--	0,69	--	0,51
Cariofileno	--	1,16	--	--	19,95	--	--	--	--	--
Germacreno-D	--	--	--	--	--	--	--	1,15	--	--
$\alpha$ -zingibereno	--	--	2,97	--	--	--	--	--	--	--
Gama-Cadineno	--	--	--	--	--	--	--	1,02	--	--
$\alpha$ -Humeleno	--	--	--	--	2,87	--	--	--	--	--
Acetato de Eugenol	--	--	--	--	14,86	--	--	--	--	--

<sup>1</sup>Índice de Retenção, <sup>2</sup>Manjeriçã, <sup>3</sup>Orégano, <sup>4</sup>Gengibre, <sup>5</sup>Laranja, <sup>6</sup>Cravo, <sup>7</sup>Canela, <sup>8</sup>Melaleuca, <sup>9</sup>Citronela, <sup>10</sup>Menta, <sup>11</sup>Tomilho, \*Composto químico monoterpêneo.

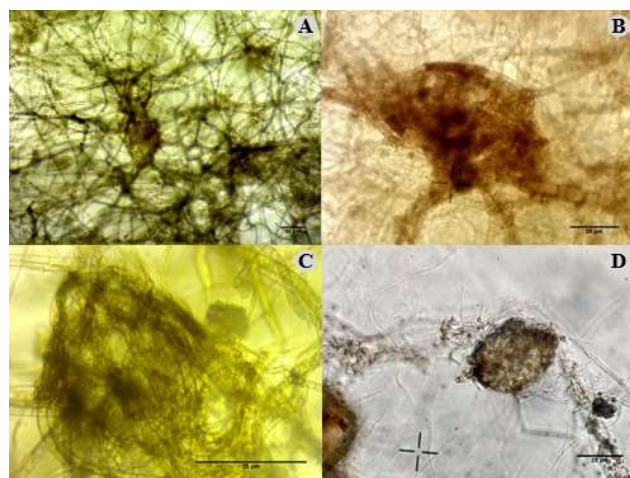


Figura 1. A; B; C; D. Massas de hifas enovelando-se para fusão e formação de microescleródios (estruturas de resistência) de *Macrophomina phaseolina*. Escala: 25  $\mu$ m

Figure 1. A; B; C; D. Mass of hyphae coiling for fusion and formation of a microsclerotia (resistance structures) of *Macrophomina phaseolina*. Escala: 25  $\mu$ m.

Conforme os dados apresentados na Figura 2, todos os OEs inibiram o crescimento micelial de *M. phaseolina* em ao menos duas das doses testadas. O melhor resultado, com a inibição de 100% do crescimento micelial em todas as doses testadas (12,8; 6,4; 3,2; 1,6 e 0,8  $\mu$ L), foi alcançado com o OE de canela, enquanto os OEs de orégano e cravo, inibiram totalmente o crescimento micelial do fungo a partir da dose 3,2  $\mu$ L. Os OEs de manjeriçã, melaleuca, citronela, menta e tomilho alcançaram uma inibição total do crescimento micelial a partir da dose 6,4  $\mu$ L. As inibições de crescimento micelial menos significativas foram obtidas com os OEs de gengibre e laranja, os quais alcançaram a inibição máxima de 36,67 e 39,78% respectivamente, à medida que a dose foi aumentada até 12,8  $\mu$ L.



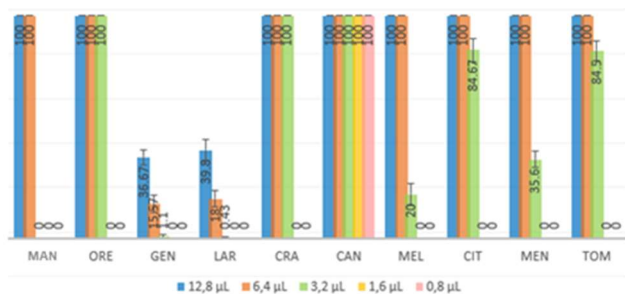


Figura 2. Taxa de inibição do crescimento micelial (%) de *Macrophomina phaseolina* frente a óleos essenciais em diferentes dosagens. MANManjerição, OREOrégano, GENGengibre, LARLaranja, CRACravo, CANCanela, MELMelaleuca, CITCitronela, MENMenta, TOMTomilho.

Figure 2. Mycelial growth inhibition rate (%) of *Macrophomina phaseolina* against essential oils at different dosages.. MANBasil, OREOregano, GENGinger, LAROrange, CRACravo, CANCinnamon, MELTea tree, CITCitronella, MENMint, TOMThyme.

A Figura 3 apresenta o crescimento micelial de *M. phaseolina* em meio de cultura BDA tratado com diferentes óleos essenciais no sexto dia de incubação, na dosagem 3,2 µL, sendo esta dose, aquela que para maioria dos OEs utilizados obteve maior percentual de inibição do crescimento micelial. Com exceção ao tratamento com OE de canela, no qual não houve crescimento micelial, nos demais tratamentos com OEs em diferentes dosagens percebe-se que a taxa de crescimento micelial inicialmente foi reduzida em relação ao controle até a primeira medição com três dias de incubação e posteriormente, na segunda medição com seis dias de incubação, a taxa de crescimento micelial comparou-se ao controle (Figura 4). A alta volatilidade dos OEs propiciou este comportamento no crescimento micelial observado no sexto dia de incubação, no qual verificou-se um comportamento fungistático de OEs sobre *M. phaseolina*.

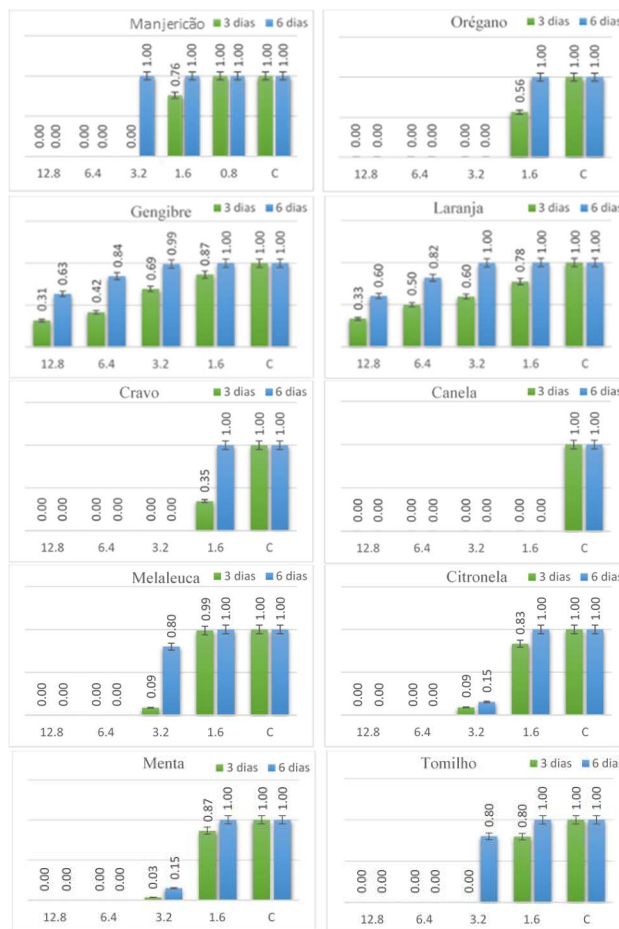


Figura 4. Taxa de crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* aos três e seis dias após as inoculações frente a diferentes doses de óleo essencial.

Figure 4. Mycelial growth rate of *Macrophomina phaseolina* three and six days after inoculation with different doses of essential oil.

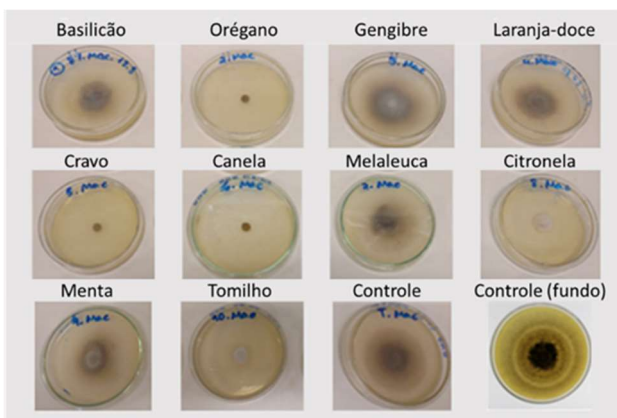


Figura 3. Crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* em meio de cultura BDA tratado com diferentes óleos essenciais na dosagem de 3,2 µL com seis dias de incubação.

Figure 3. Mycelial growth of *Macrophomina phaseolina* in PDA culture medium treated with different essential oils at a dosage of 3.2 µL with six days of incubation.

#### 4. DISCUSSÃO

Knaak; Fiuza (2010) relatam que os OEs se apresentam como moléculas voláteis, que têm como principais constituintes os monoterpenos, seguidos pelos sesquiterpenos, além de compostos aromáticos de baixo peso molecular, do mesmo modo como nesta pesquisa.

O tratamento com OE de manjerição na dose de 3,2 µL no 3º dia de incubação apresentou seu crescimento micelial 100% inibido e posteriormente, no 6º dia de incubação a taxa de crescimento micelial foi equivalente ao controle. Esse comportamento de alta inibição do crescimento micelial ocorre pela vaporização dos constituintes presentes no óleo essencial. Este comportamento também foi observado nos estudos de Martinazzo et al. (2019). Os mesmos autores relataram que o OE de capim-limão na dose de 0,6 µL mL<sup>-1</sup> após ter inibido 100% o crescimento micelial de *Aspergillus flavus*, no 8º dia de incubação a ICM caiu para 53% e decresceu progressivamente.

Pesquisadores, com objetivos análogos utilizaram OEs das mesmas espécies adotadas no presente estudo e comprovaram a eficácia na inibição do crescimento micelial para diferentes fitopatógenos. Pereira et al. (2006) obtiveram um ótimo desempenho do OE de orégano sobre o desenvolvimento micelial dos fungos *Fusarium* sp., *Aspergillus ochraceus* e *A. flavus* em todas as concentrações testadas (500; 1000; 1500 e 2000 mg mL<sup>-1</sup>); e *A. niger*, a partir da concentração de 1000 mg mL<sup>-1</sup>. Os autores também citam o OE de manjerição na concentração de 1500 mg mL<sup>-1</sup> com um efeito pronunciado contra os mesmos fungos.

Os OEs de tomilho e orégano na concentração de 0,1% foram relatados como eficazes antifúngicos contra os fungos

*Peyronellaea pinodella*, *P. pinodes*, *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*, *Phomopsis longicolla*, *Ascochyta lentis* e *Colletotrichum gloeosporioides*, com a inibição total do crescimento micelial. Os autores, da mesma forma relataram que os OEs de melaleuca e menta inibiram totalmente o crescimento micelial desses fitopatógenos de sementes de leguminosas nas concentrações 1% e 0,25%, respectivamente (MARINELLI et al., 2012).

Rodrigues et al. (2018) utilizaram OEs no controle do desenvolvimento de *C. musae* e da intensidade da antracnose em banana 'Prata Anã'. Os autores mencionaram maior eficiência na redução do crescimento micelial, germinação e esporulação, para os OEs de cravo e tomilho nas doses testadas (80 a 320 µL). Os OEs de melaleuca e gengibre reduziram a severidade da antracnose nas frutas, nas doses de 160 e 240 µL.

Sharma; Tripathi (2008) constataram o efeito do OE de laranja sobre o crescimento e morfogênese de *A. niger*. O crescimento micelial foi inibido nas concentrações de 2,5 e 3,0 µg.ml<sup>-1</sup> de OE em caldo de batata-dextrose e meio ágar-água, respectivamente. Os autores também relataram alterações morfológicas irreversíveis nas hifas de *A. niger*, como a perda de citoplasma e ruptura da parede celular.

De acordo com Fialho; Papa (2015), os OEs de laranja, citronela, cravo e tomilho inibiram *in vitro* esporos de *Sphaceloma ampelinum* nas concentrações 0,3 a 1%. Nas mesmas condições, os OEs de cravo e tomilho proporcionaram os melhores efeitos sobre a inibição do crescimento micelial de *S. ampelinum*.

A atividade antifúngica do OE de cravo na concentração de 500 e 1000 µg ml<sup>-1</sup> foi efetivo em estudos para o controle de *Alternaria alternata*. Os autores notificaram que o crescimento micelial do fungo foi reduzido em 31% em comparação ao controle e além disso, alterações morfológicas nas hifas foram constatadas (CASTRO et al., 2017).

O efeito volátil do OE de canela foi analisado nos experimentos de Lorini et al. (2016). Os autores verificaram a inibição do desenvolvimento dos patógenos *Penicillium*, *Rhizopus*, *A. flavus* e *A. niger* em amêndoas de castanhas expostas à ação volátil do OE, depositados sobre papel de filtro em uma lâmina no centro de placas de Petri, contendo cinco amêndoas ao redor.

Nos estudos de Chidi et al. (2020) o OE de melaleuca em diferentes concentrações em meio de cultura interrompeu completamente a produção de ácido terrestre e acratoxina A por *P. griseofulvum*, bem como seu crescimento micelial foi inibido. Os mesmos autores demonstraram ainda o mesmo efeito no crescimento e produção de micotoxinas em *P. verrucosum*. Alves (2019) relata efeito fungitóxico do OE de melaleuca sobre *A. alternata* em condições *in vitro*, no qual o fungo teve seu crescimento micelial reduzido e atingiu a inibição completa a partir da concentração de 0,2%.

Conforme Peixinho et al. (2016) o OE de menta em suplemento ao meio de cultura BDA em placas de Petri foi capaz de inibir em 100% o crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae* *in vitro*, nas concentrações testadas de 0,25 a 2%.

Queiroz et al. (2020) testaram o OE de citronela na concentração de 5.000 ppm contra os fungos *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii*, isolados de soja. Os autores concluíram que os OEs inibiram totalmente o crescimento micelial dos fungos testados.

O OE de tomilho foi relatado como boa opção para o controle do fungo *Lecanicillium fungicola*, causador da doença

bolha seca em champignon. O crescimento micelial do patógeno *L. fungicola* foi inibido a partir da concentração de 0,8% do OE de tomilho (SANTOS et al., 2017). Já Bernardi et al. (2019) verificaram a inibição da formação de escleródios com o OE de tomilho na dosagem de 15 µL. De acordo com Amorim (2011) muitos patógenos desenvolvem estruturas especializadas de resistência, muito eficientes para auxiliar na sobrevivência durante o período de condições adversas do ambiente. Entre estes patógenos estão os gêneros *Sclerotium*, *Macrophomina*, *Verticillium*, *Rhizoctonia*, *Botrytis*, entre outros. *M. phaseolina* no presente estudo também teve a formação de seu microescleródio inibida sob o efeito de todos os OEs avaliados, o que é muito interessante já que este propágulo seria uma forma do patógeno garantir a cadeia infecciosa.

Compostos químicos constituintes dos OEs como o eugenol, timol, carvacrol, também são destacados em diversos estudos sobre ação antimicrobiana. Diferentes pesquisas revelam alta atividade fungicida e efeitos sinérgicos entre os compostos químicos no controle de fungos fitopatógenos como *A. alternata*, *C. fructicola*, *Fusarium verticillioides*, *Rhizopus stolonifer* e outros, como *Candida* não-albicans, por exemplo (NÓBREGA, et al., 2019; OCHOA-VELASCO, 2016). Assim como, o principal composto químico do OE de canela, cinamaldeído, tem sido utilizado por suas propriedades farmacológicas e biológicas, com poderosa atividade contra fungos e outros microrganismos (FIGUEIREDO et al., 2017).

Desse modo, a ação biológica dos OEs em diferentes pesquisas pode ter efeitos diversos, devido à variação em que podem ocorrer os constituintes químicos dos OEs. Os resultados da alta atividade antimicrobiana *in vitro* no presente estudo, torna viável a realização de testes *in vivo* para a determinação de dosagens seguras e ainda, maiores estudos são impulsionados na busca dos constituintes químicos responsáveis pelos efeitos biofungicidas. Dessa forma, os OEs que demonstraram ação fungicida neste estudo indicam potencial ingrediente para a fabricação de novos produtos para o manejo de fitopatógenos.

## 5. CONCLUSÕES

Os OEs testados neste estudo apresentaram atividade antimicrobiana sobre o crescimento micelial de *M. phaseolina*. O OE de canela demonstrou maior eficácia antifúngica com a inibição de 100% do crescimento micelial de *M. phaseolina* a partir da menor concentração, seguido pelos OEs de orégano e cravo.

## 6. REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy**. 4th ed. Illinois, USA: Ed. Carol Stream / Allured Publishing Corporation, 2007. 804p.
- ALMEIDA, A.M.R.; SEIXAS, C.D.S.; FARIAS, J.R.B.; OLIVEIRA, M.C.N.; FRANCHINI, J.C.; DEBIASI, H.; COSTA, J.M. da; GAUDÊ CIO, C. de A. **Macrophomina phaseolina em soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 55p.
- AMORIM, L. Sobrevivência do Inóculo. In: BERGAMIN-FILHO, A.; KUMATI, E.H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia**. vol. 1: princípios e conceitos. 5 ed. São Paulo, SP: Agronômica Ceres, 2011. p. 246-267
- BRASIL. **Resolução N° 185, de 18 de outubro de 2017**. Dispõe sobre a proibição do ingrediente ativo

- Carbofurano em produtos agrotóxicos no país e sobre as medidas transitórias de descontinuação de seu uso nas culturas de banana, café e cana-de-açúcar. MINISTÉRIO DA SAÚDE. DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO, 19 out.
- BERNARDI, C.; SIEGA, T.C.; REY, M.S. Influência de óleos essenciais no desenvolvimento de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, agente causal da Podridão Branca da Haste da Soja. **Summa Phytopathologica**, v. 45, n. 2, p. 227-228, 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/172270>
- CASTRO, J. C.; ENDO, E. H.; SOUZA, M. R.; ZANQUETA, E. B.; POLONIO, J.C.; PAMPHILE, J.A.; UEDA-NAKAMURA, T.; NAKAMURA, C.V.; DIAS FILHO, B.P.; ABREU FILHO, B.A. Bioactivity of essential oils in the control of *Alternaria alternata* in dragon fruit (*Hylocereus undatus* Haw.). **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 101-109, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.12.026>
- CHIDI, F.; BOUHOUDAN, A.; KHADDOR. Antifungal effect of the tea tree essential oil (*Melaleuca alternifolia*) against *Penicillium griseofulvum* and *Penicillium verrucosum*. **Journal of King Saud University – Science**, v. 32, n. 3, p. 2041-2045, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.02.012>
- COSTA, L.C.B.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; COSTA, J.C.B.; ALVES, P.B.; NICULAU, E.S. In vitro antifungal activity of *Ocimum selloi* essential oil and methylchavicol against phytopathogenic fungi. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 2, p. 428-435, 2015. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20150023>
- COSTA, R.V.; SIMON, J.; COTA, L.V.; ALMEIDA, R.E.M.; LANZA, F.E.; LAGO, B.C.; PEREIRA, A.A.; CAMPOS, L.J.M.; FIGUEIREDO, J.E.F. Yield losses in off-season corn crop due to stalk rot disease. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 54, p. 1-10, 2019. <https://doi.org/10.1590/s1678-3921.pab2019.v54.00283>
- DHINGRA, O.D.; SINCLAIR, J.B. **Biology and pathology of *Macrophomina phaseolina***. Viçosa, MG, Brasil: UFV, Imprensa Universitária, 1978. 166p.
- FIALHO, R. O.; PAPA, M. F. S. Atividade antifúngica in vitro de óleos essenciais sobre *Sphaceloma ampelinum*. **Cultura Agronômica**, v. 24, n. 1, p. 63-70, 2015.
- FIGUEIREDO, C.S.S.S.; OLIVEIRA, P.V.; SAMINEZ, W.F.S.; DINIZ, R.M.; RODRIGUES, J.F.S.; SILVA, M.S.M.; SILVA, L.C.N.; GRISOTTO, M.A.G. Óleo essencial da Canela (Cinamaldeído) e suas aplicações biológicas. **Revista de Investigação Biomédica**, v. 9, n. 2, p. 192-197, 2017.
- GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2002. 78p.
- JAVAID, A.; SADDIQUE, A. Control of charcoal rot fungus *Macrophomina phaseolina* by extracts of *Datura metel*. **Natural Product Research**, v. 26, n. 18, p. 1715-1720, 2017. <https://doi.org/10.1080/14786419.2011.605363>
- KNAACK, N.; FIUZA, L.M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 5, n. 2, p. 120-132, 2010. <https://doi.org/10.4013/4757>
- LORINI, A.; BONALDO, S.M.; MENDES, B.L. Efeito volátil de óleos essenciais no desenvolvimento de patógenos em amêndoas de castanhas-do-Brasil. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 15, n. 2, p. 121-126, 2014.
- MACHADO, J.C.; WAQUIL, J.M.; SANTOS, J.P.; REICHENBACH, J.W. Tratamento de sementes no controle de fitopatógenos e pragas. Sementes: inovações tecnológicas no cenário nacional. **Informe agropecuário**, v. 27, n. 232, p. 76-87, 2006.
- MARINELLI, E.; ORZALI, L.; LOTTI, E.; RICCONI, L. Activity of Some Essential Oils against Pathogenic Seed Borne Fungi on Legumes. **Asian Journal of Plant Pathology**, v. 6, n. 3, p. 66-74, 2012. <http://dx.doi.org/10.3923/ajppaj.2012.66.74>
- MARTINAZZO, A.P.; OLIVEIRA, F.S.; TEODORO, C.E.S. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* no controle do *Aspergillus flavus*. **Ciência e Natura**, v. 41, n. 20, p. 01-08, 2019. <http://dx.doi.org/10.5902/2179460X36055>
- MORAIS, L. A. S. Óleos essenciais no controle de fitopatógenos. Capítulo 9. In: Betiol, W.; Morandi, M.A.B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 139-152.
- NÓBREGA, J.R.; SOUZA, P.M.S.; MOTA, K.S.L.; CORDEIRO, L.V.; ANDRADE JÚNIOR, F.P.; OLIVEIRA, W.A. Antifungal activity of carvacrol and antifungal agent combinations against non-albicans *Candida* species. **Scientia Plena**, v. 15, n. 10, p. 1-7, 2019. <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2019.104601>
- OCHOA-VELASCO, C.E.; NAVARRO-CRUZ, A.; VERA-LÓPEZ, O.; PALOU, E. AVILA-SOSA R. Growth modeling to control (in vitro) *Fusarium verticillioides* and *Rhizopus stolonifer* with thymol and carvacrol Modelización del crecimiento in vitro para controlar *Fusarium verticillioides* y *Rhizopus stolonifer* con timol y carvacrol. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 50, n. 1, p. 70-74, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.11.010>
- PEIXINHO, G.S.; RIBEIRO, V.G.; AMORIM, E.P.R. Ação do óleo essencial de menta (*Mentha arvensis*) sobre o patógeno *Lasioidiplodia theobromae* em cachos de videira cv. Itália. **Summa Phytopathologica**, v. 43, n. 1, p. 32-35, 2017. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/2204>
- PEREIRA, M.C.; VILELA, G.R.; COSTA, L.M.A.S.; SILVA, R.F.; FERNANDES, A.F.; FONSECA, E.W.N.; PICCOLI, R.H. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 4, p. 01-08, 2006. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542006000400020>
- QUEIROZ, T.N.; PASCUALI, L.C.; SILVA, A.C.P.; PORTO, A.G.; CARVALHO, J.W. P. Extratos e óleos essenciais como alternativa no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Sclerotium rolfsii* isolados de soja (*Glycine max* L.). **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 13, n. 2, p. 737-753, 2020. <https://doi.org/10.17765/2176-9168.2020v13n2p737-753>
- RAJKUMAR, V.; GUNASEKARAN, C.; PAUL, C.A.; DHARMARAJ, J. Development of encapsulated peppermint essential oil in chitosan nanoparticles: characterization and biological efficacy against stored-grain pest control. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 170, p. e104679, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104679>



- RODRIGUES, M.L.M.; MIZOBUTSI, E.H.; NACARATH, I.R.F.F.; FERNANDES, M.B.; MIZOBUTSI, G.P.; RIBEIRO, R.C.F.; REIS, S.T.; PINHEIRO, J.M.S.; PRATES, P.J.L.; LAGE, G.G.A. Essential Oils in the Control of Anthracnose on 'Prata Ana' Banana. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 9, p. 116-124, 2018. <https://doi.org/10.5539/jas.v10n9p116>
- SANTOS, T.L.; BELAN, L.L.; ZIED, D.C.; DIAS, E.S.; ALVES, E. Essential oils in the control of dry bubble disease in white button mushroom. **Ciência Rural**, v. 47, n. 5, 2017. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20160780>
- SHARMA, N.; TRIPATHI, A. Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. **Microbiological Research**, v. 163, n. 3, p. 337-344, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.06.009>
- UNEP\_Ozone Secretariat United Nations Environment Programme. **The Montreal Protocol on substances that deplete the ozone layer**. Nairobi: UNON. Disponível em: <<http://www.unep.org/ozone>>. Acesso em: 29/01/2023.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Embrapa Agrobiologia e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio e suporte financeiro na execução do presente trabalho.

#### Contribuições dos Autores:

A.R.F.; LRS; LASM – Conceituação; metodologia; coleta de dados; análise estatística; supervisão; validação; redação (esboço original); redação (revisão e edição). Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

#### Financiamentos:

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

#### Revisão Institucional:

Não Aplicável.

#### Comitê de Ética da área:

Não Aplicável.

#### Disponibilização dos dados:

Os dados desse estudo podem ser obtidos mediante solicitação ao primeiro autor, via e-mail [ana.agroambiente@gmail.com](mailto:ana.agroambiente@gmail.com).

#### Conflito de interesse:

Os autores declaram que não existem conflitos de interesses. As entidades/instituições de apoio não tiveram nenhum papel na concepção do estudo, na coleta, análise ou interpretação de dados, na redação do manuscrito, ou na decisão de publicar os resultados.