

**INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CAMPUS CERES
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS SIMEIRE
FERREIRA DE JESUS**

**CONTROLE DE FUNGOS FITOPATÓGENOS POR MEIO DA VALIDAÇÃO DE
ÓLEOS ESSENCIAIS (*ENSAIO IN VITRO*)**

**CERES – GO
2023**

SIMEIRE FERREIRA DE JESUS

**CONTROLE DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS POR MEIO DA VALIDAÇÃO DE
ÓLEOS ESSENCIAIS (*ENSAIO IN VITRO*)**

Trabalho de curso apresentado ao curso de Licenciatura em Ciências Biológicas do Instituto Federal Goiano – Campus Ceres, como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas, sob orientação da Prof.^a. Dra. Flávia Oliveira Abrão Pessoa.

**CERES – GO
2023**

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

DSi589 De Jesus, Simeire Ferreira
c Controle de fungos fitopatogênicos por meio da
validação de óleos essenciais (ensaio in vitro) /
Simeire Ferreira De Jesus; orientadora Flávia
Oliveira Abrão Pessoa. -- Ceres, 2023.
25 p.

TCC (Graduação em Licenciatura em Ciências
Biológicas) -- Instituto Federal Goiano, Campus
Ceres, 2023.

1. Controle biológico . 2. Potencial fungitóxico.
3. Resultados . I. Oliveira Abrão Pessoa, Flávia ,
orient. II. Título.



INSTITUTO FEDERAL
Goiano

Repositório Institucional do IF Goiano - RIIF

Goiano

Sistema Integrado de Bibliotecas

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese | <input type="checkbox"/> Artigo Científico |
| <input type="checkbox"/> Dissertação | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia - Especialização | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input checked="" type="checkbox"/> TCC - Graduação | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ | |

Nome Completo do Autor:

Matrícula:

Título do Trabalho:

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: Não Sim, justifique: _____

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 27/11/23

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Ceres
Local

27/11/2023
Data

Simeira Ferreira de Jesus

Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

[Assinatura]

Assinatura do(a) orientador(a)

DEDICATÓRIA:

Dedico meu trabalho ao meu “PAI”, que me fortaleceu até aqui, aos meus filhos, meu esposo, aos meus professores e colegas e à minha orientadora.

AGRADECIMENTOS

É com grande orgulho e gratidão que cito aqueles que contribuíram para a realização desse trabalho e de minha conclusão nesse curso de graduação.

Primeiro e mais importante, meu “PAI”, Adonai, El Shadai, que me fortaleceu e permitiu a realização de um sonho antigo. Aos meus filhos por todo apoio e compreensão, ao meu esposo que me incentivou e amparou todos os dias, aos meus professores que contribuíram com meu conhecimento e aprendizagem, à minha orientadora, por sua visão, por acreditar em mim, por seu trabalho duro e seus ótimos comentários. Por último e não menos importante, aos amigos de curso que foram fundamentais para minha permanência até aqui, não citarei nomes, mas eles sabem quem são. Todos aqui mencionados, foram parte de meu alicerce na construção diária do conhecimento, da dedicação e persistência até aqui.

EPÍGRAFE:

“O que distingue os homens entre si.

É a capacidade do esforço e da tenacidade”.

Miguel Couto (1865-1934).

RESUMO

Atualmente, um dos grandes desafios da comunidade científica tem sido encontrar meios para o controle de microrganismos na agricultura, dentre esses, destaca-se os fungos fitopatogênicos. Esses fungos atingem a produtividade, causando perdas econômicas significativas. Diante disso, produtores vêm utilizando agentes químicos, ao longo dos tempos, devido à sua eficiência a curto prazo, no controle desses fitopatógenos. No entanto, o uso dos agrotóxicos estabelece uma fonte de contaminação para a fauna, flora, também oferecerem riscos à saúde humana, além de tornar esses organismos mais resistentes aos agrotóxicos. Nesse cenário, surgem os óleos essenciais despontando como uma alternativa promissora, evidenciando um potencial fungitóxico derivado de compostos metabólitos secundários de plantas medicinais ou aromáticas, em outras palavras, essas plantas constituem uma possibilidade para o avanço no uso de sistemas de cultivo que contribuem para o controle biológico natural. Em vista disso, fica evidente a necessidade de estudos mais aprofundados na busca por fungicida natural e eficiente como ferramenta de controle na ação de fungos fitopatogênicos. por esse motivo e da lacuna encontrada em pesquisas nesse sentido, o presente estudo, visa contribuir com a comunidade científica e produtores da região demonstrando resultados de ensaio *in vitro* de quatro óleos essenciais em cinco gêneros de fungos fitopatogênicos. Sendo que, na tabela 1, houve controle no crescimento superior ($P < 0,05$) de colônias do gênero *Fusarium* sp., no primeiro e segundo dia com óleos isolados (canela, cravo e orégano), já o resultado com o óleo essencial Blend, não se observou diferença com o grupo controle. A segunda tabela denotou-se o resultado com o gênero *Ovulariopsis* sp., o qual, demonstrou controle no crescimento nos tempos 24h e 48h, com os óleos isolados, porém, não houve diferença considerável para o tratamento com o óleo essencial blend. No entanto, na terceira tabela, o fungo do gênero *Malbranchea* sp., teve um comportamento dissemelhante, pois, no tempo 24h não houve diferença para o tratamento com os óleos e o grupo controle, entretanto, no tempo 48h, verificou-se efeito superior dos óleos de cravo-da-índia, orégano e blend, mas o óleo de canela demonstrou resultado igual ao grupo controle negativo. No tempo 72h, todos os óleos foram superiores ao

grupo controle ($P < 0,05$). Nas tabelas 4 e 5, o tratamento foi efetuado com os gêneros *Penicilium* sp., e *Aspergillus* sp., evidenciou-se controle no crescimento do diâmetro dessas colônias, o que representa um resultado promissor em vista desses gêneros de fungos fitopatógenos serem esporulados, de rápida proliferação

Palavras-chave: Controle biológico; Potencial fungitóxico; Resultados.

ABSTRACT

Currently, one of the greatest challenges for the scientific community has been finding ways to control microorganisms in agriculture, among which phytopathogenic fungi stand out. These fungi affect productivity, causing significant economic losses. Therefore, producers use chemical agents over time, due to their short-term efficiency, without controlling these phytopathogens. However, the use of pesticides establishes a source of contamination for fauna and flora, in addition to posing risks to human health. In this scenario, essential oils emerge as a promising alternative, highlighting a fungitoxic potential derived from secondary metabolite compounds of medicinal or aromatic plants, in other words, these specific plants are a possibility for advancing the use of cultivation systems that are cultivated for natural biological control. In view of this, the need for more in-depth studies in the search for a natural and efficient fungicide as a tool to control the action of phytopathogenic fungi is evident. For this reason and gaps found in research in this regard, the present study aims to contribute to the scientific community and producers in the region by demonstrating *in vitro* test results of four essential oils in five genus of phytopathogenic fungi. In table 1, there was control over the superior growth ($P<0.05$) of colonies of the genus *Fusarium* sp., on the first and second day with isolated oils (*cinnamon*, clove and oregano), whereas the result with the essential oil Blend, no difference was observed with the control group. The second table denoted the result with the genus *Ovulariopsis* sp., which demonstrated growth control at 24h and 48h, with the isolated oils, however, there was no considerable difference for the treatment with the essential oil blend. However, in the third table, the fungus of the genus *Malbranchea* sp., had a different behavior, as, at 24h, there was no difference between the treatment with the oils and the control group, however, at 48h, there was a superior effect. of clove, oregano and blend oils, but *cinnamon* oil demonstrated the same results as the negative control group. At 72h, all oils were superior to the control group ($P<0.05$). In tables 4 and 5, the treatment was carried out with the genus

***Penicilium* sp., and *Aspergillus* sp., showing control over the growth of the diameter of these colonies, which represents a promising result given that these genus of phytopathogenic fungi are sporulated, of rapid proliferation.**

Keywords: Biological control; Fungitoxic potential; Results.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Diâmetro de colônias de *Fusarium* sp. submetidas à óleos essenciais em diferentes tempos de incubação (h = horas) 08.

Tabela 2 – Diâmetro de colônias de *Ovulariopsis* sp. submetidas à óleos essenciais em diferentes tempos de incubação (h = horas) 09.

Tabela 3 – Diâmetro de colônia de *Malbranchea* sp. submetidas à óleos essenciais em diferentes tempos de incubação (h = horas) 10.

Tabela 4 – Diâmetro de colônias de *Penicillium* sp. submetidas à óleos essenciais em diferentes tempos de incubação (h = horas) 11.

Tabela 5 – Diâmetro de colônias de *Aspergillus* sp. submetidas à óleos essenciais em diferentes tempos de incubação (h = horas) 12

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	01
1.1 ÓLEOS ESSENCIAIS	02
1.2 OBJETIVO GERAL	03
2- REFERENCIAL TEÓRICO	04
2.1 ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO (<i>Origanum vulgare Linnaes</i>)	05
2.2 ÓLEO ESSENCIAL DE CANELA (<i>Cinnamomum verum</i>)	06
2.3 CRAVO-DA-ÍNDIA (<i>Syzygium aromaticum</i>)	07
3. MATERIAIS E MÉTODOS	08
3.1 Obtenção de óleos	09
3.2 Protocolo utilizado	10
3.3 Ensaio <i>in vitro</i> com óleos essenciais	12
4- ANÁLISES ESTATÍSTICAS	12
5- RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
6- CONCLUSÃO	20
14. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21

1- INTRODUÇÃO:

Os fungos fitopatogênicos possuem expressivo potencial para causar perdas em lavouras já que, em sua maioria, produzem grandes quantidades de esporos, que são disseminados facilmente por longas distâncias, levam plantas à morte e são de difícil erradicação (VELOSO, 2016).

Tais fungos são responsáveis por grandes perdas agrícolas em todo o mundo, gerando considerável impacto negativo na economia, com perdas de produtividade entre 30-60% em culturas de interesse econômico, como a soja, milho, arroz, trigo, cana-de-açúcar, café, entre outros (VELOSO, 2016).

Observa-se muitas características nas plantas que denotam a presença de fungos em suas estruturas, tais como: a podridão de raízes e colo contaminação do solo, doenças como a antracnose, ferrugens, mofo cinzento, entre outras.

Esses organismos fitopatogênicos colonizam diversos substratos, e os prejuízos nas colheitas e pós-colheitas, são significativos, o agravo também tem causado o desenvolvimento lento em plantas ornamentais de viveiros da região, que contabilizam défices.

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de alimentos, algodão, celulose e biocombustíveis, sendo líder no mercado do agronegócio, mas também é o maior consumidor mundial de agrotóxicos para o controle de pragas e doenças agrícolas (PIGNATI et al., 2017).

Por isso, é necessária a busca de estratégias para o controle de fungos fitopatogênicos. Tendo em vista que as plantas são fontes promissoras de compostos bioativos, que podem controlar estes organismos, diversas pesquisas com óleos essenciais e extratos brutos têm sido realizadas (ALCANTARA, 2015; HAGSTRUM E PHILLIPS, 2017; RADUNZ, 2017; TAVARES et al., 2018).

A contaminação por fungos é uma constante ameaça também para indústrias de processamento de alimentos e para o desenvolvimento saudável das culturas. Produções de cereais, frutas e vegetais, assim como medicamentos tradicionais chineses são facilmente contaminados pelo *Aspergillus link. Pe Penicillium link. Pe., Fusarium link. Fr.*, e outros fungos durante o plantio, colheita, processamento, transporte e principalmente armazenamento, devido à temperatura, umidade, oxigênio, luz e outros fatores, atraíram a atenção mundial (Li et al., 2016).

De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), aproximadamente 1 bilhão de toneladas de produtos agrícolas são poluídos por fungos e micotoxinas todos os anos (Li et al., 2016).

Diante de todo esse cenário, pesquisas envolvendo técnicas e produtos naturais estão sendo desenvolvidas numa crescente expectativa de controle biológico econômico e eficiente frente aos microrganismos fitopatogênicos.

Sob essa óptica, é desejável desenvolver recursos alternativos que possam coibir o crescimento dos fungos fitopatogênicos, que não sejam tóxicos para as plantas, nem para o solo, água e ar, assim como para a saúde humana. Por conseguinte, os óleos essenciais vêm sendo gradativamente estudados para o controle de fitopatologias, com intuito de substituir ou minimizar o uso de agrotóxicos.

Outro entrave do uso de fungicidas sintéticos é que seus constituintes ativos são potencialmente prejudiciais à saúde e seus resíduos têm sido encontrados em amostras de frutas de acordo com o Programa de Avaliação de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos- PARA (BRASIL, 2017).

1.1 Óleos essenciais:

Atualmente são conhecidos mais de 3.000 óleos essenciais, sendo que 300 são comercialmente importantes, tanto para indústrias farmacêuticas, agrônomas, alimentícias, como para sanitária, cosmética, perfumaria, entre outros.

Os óleos essenciais têm sido destaques como potentes fungicidas por alguns pesquisadores além de serem um meio natural de combater os organismos fitopatogênicos, podendo ser usados como possível alternativa no controle desses organismos, pois são biodegradáveis e não-tóxicos, são de fácil aquisição e baixo custo (SILVA, 2019).

A extração dos óleos essenciais de plantas tem se mostrado uma importante fonte de pesquisa tanto na área acadêmica quanto na indústria devido às suas inúmeras aplicações e utilidades, facilitando o estudo da ampla variedade de organismos vegetais e suas complexidades, o que fornece vários componentes químicos economicamente importantes (NASCIMENTO e PADRE, 2020).

Em um mesmo óleo essencial está contido cerca de 20 a 800 substâncias químicas, mas nesta composição, existem em concentrações variáveis em cada

óleo, sendo um deles majoritário, enquanto os demais em concentrações menores (FERRAZ, 2020, TEIXEIRA, 2009).

Uma mesma espécie de planta pode produzir tipos de óleos essenciais distintos, pois estas se desenvolvem em locais diferentes, tendo pequenas variações na sua composição química, estas são chamadas de quimiotipos (FERRAZ, 2020; TEIXEIRA, 2009).

Os óleos essenciais são importantes mecanismos de defesa das plantas, e geralmente são obtidos por destilação a partir de várias partes da planta, como flores, sementes, folhas, galhos, casca, fruto e raízes, sendo caracterizados por serem misturas naturais voláteis. São produzidos pelas plantas em condições adversas, apresentando aroma forte e alta volatilidade. (SEOW; YEO, 2017; OLIVEIRA, et al., 2021).

Segundo a autora Marcolina. M. (2021), diversas pesquisas relacionadas à óleos essenciais evidenciam que eles têm prospecção para controlar microrganismos patogênicos. A inibição do crescimento fúngico pode ser obtida por sua ação direta, restringindo a proliferação micelial e a germinação de esporos, ou induzindo resistência a vários patógenos.

Alguns autores discutem que a atividade antifúngica dos óleos essenciais testados advém, provavelmente, do resultado da penetração de quitina na parede das hifas, prejudicando a lipoproteína da membrana citoplasmática, levando a este extravasamento do citoplasma, bem como ao esvaziamento e murchamento das hifas, e presença de filamentos (ZAMBONELLI et al., 1996; CACCIONI, GUIZZARDI, 1994; SANTOS et al., 2013).

Outros autores afirmam que a possibilidade de determinado óleo essencial agir como agente antimicrobiano depende da capacidade de seus componentes hidrofóbicos interagirem ou não com a membrana das células. Sabe-se que os componentes ativos dos óleos conseguem provocar mudanças nas propriedades desses organismos, fazendo com que ocorra perturbação dos componentes.

Além disso, podem acontecer alterações na síntese proteica, secreção enzimática, conversão de energia e nutrição, processos vitais para o estabelecimento dos microrganismos. Logo, o que determina a eficiência de um óleo essencial como agente antimicrobiano é a sua capacidade de penetrar na membrana

das células, alterando o seu sistema (HACWYDRO; FLASINSKI; ROMANCZUK, 2017).

Dessa forma, de acordo com estudos, os óleos essenciais propiciam; devido aos seus inúmeros compostos, efeito bioinseticida, biofungicida e herbicida, tornando-os, alternativa natural na defesa de plantas.

Para Nascimento et al (2021), estudos que correlacionam a ação dos óleos essenciais com o controle de patógenos e qualidade fisiológica das sementes, o primeiro passo no desenvolvimento de novas formulações de produtos sustentáveis para a agricultura orgânica. A determinação do óleo e da dosagem a ser utilizada, ainda é o maior desafio. São necessários estudos nesse sentido e plataformas unificadas para consulta e divulgação dos resultados.

O presente estudo, visa validar a ação antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, orégano, canela e do blend (que consiste na sinergia dos óleos citados em associação numa proporção de 1: 1: 1), em cinco fungos fitopatogênicos dos gêneros *Fusarium*, *Malbranchea*, *Ovulariopsis*, *Penicillium* e *Aspergillus*. Através de ensaio *in vitro*, realizado no laboratório de microbiologia do Instituto Federal Goiano Campus Ceres.

1-2 OBJETIVO GERAL:

Validar a ação antifúngica de determinados óleos essenciais, frente a cinco gêneros de fungos fitopatogênicos

2 - REFERENCIAL TEÓRICO:

Segundo Magalhães (2015) as propriedades dos óleos essenciais para a produção de pesticidas sintéticos, tem sido o alvo de estudos que vem demonstrando grandes potencialidades deles. As substâncias que são extraídas das plantas (óleos essenciais ou substâncias voláteis) possuem propriedades de ovicida, inseticida, repelente, atraente, como também podendo inibir o crescimento dos insetos.

O emprego desses óleos essenciais pode substituir o uso de agrotóxicos e causar menos prejuízos ao meio ambiente, já que os óleos são mecanismos de defesa da própria planta da qual ele é extraído.

É sabido que esses produtos (agrotóxicos), podem afetar as populações de polinizadores, especialmente as abelhas *Apis mellifera* L. Outra consequência é inviabilizar o consumo do mel pelos resíduos desses produtos, afetando o meio ambiente e a saúde do trabalhador. Portanto, a busca de alternativas de controle natural tem sido crescente (BRAGA SOBRINHO et al., 2018).

Por ser um campo novo de pesquisa, há várias plantas sendo utilizadas para a extração de seus óleos e testes contra pragas agrícolas, entre eles está o orégano (*Origanum vulgare*), a canela (*Cinnamomum verum*) e Nim indiano (*Azadirachta indica*).

Óleos essenciais de plantas têm sido utilizados em todo o mundo, principalmente como repelentes de insetos e potenciais biocontroladores. A ação de compostos isolados extraídos de óleos essenciais de plantas tem atuado como fungicidas naturais inibindo a atividade fúngica e, um número significativo destes constituintes tem se mostrado eficaz (OOTANI et al., 2013; ISMAN et al., 2011; PEREIRA et al., 2006; PEREIRA et al., 2018).

Deste modo, a procura por novos agentes antimicrobianos a partir de plantas é intensa, por causa da crescente resistência dos microrganismos patogênicos frente aos produtos sintéticos presentes na atualidade (OOTANI et al., 2013; ISMAN et al., 2011; PEREIRA et al., 2006; PEREIRA et al., 2018).

Acredita-se que a atividade antifúngica dos óleos é devido ao comprometimento da parede celular do alvo, ao estabelecer um potencial de membrana, e pela inativação de enzimas essenciais para o metabolismo fúngico (TARIQ et al., 2019).

À vista disso, os óleos essenciais são indicativos de controle natural, sendo necessário analisar novas pesquisas utilizando novos óleos essenciais para analisar seus impactos e sua eficácia como defensivos agrícolas.

2.1 Orégano (*Origanum vulgare* Linnaeus):

O Orégano (*Origanum vulgare* Linnaeus) tem como característica seu perfume agradável, intenso e herbáceo, com um sabor quente e queimado. Onde deve ser consumido logo após sua colheita e ser cuidadosamente seco em sombra, para que suas características permaneçam intensas (RODRIGUES, 2002).

Foi utilizado o *Origanum vulgare* para o estudo, conhecido popularmente como Orégano, que foi originado da família lamiaceae. Esse óleo possui características antioxidantes devido à sua composição química: óleo essencial (0,15%-0,90%) na planta seca, sendo seus principais constituintes os fenóis: carvacrol, timol, Y-terpeno e p ameno, podendo variar de acordo com a localidade onde foi cultivada. Os altos níveis destes compostos são de grande importância para a eficácia desta espécie vegetal. (PRELA- PANTANO et al, 2009 apud TSINAS, 1999).

Tendo como principal característica do óleo essencial de orégano a sua capacidade antifúngica e antibacteriana, graças à presença do timol e o terpen-4-ol.

Segundo Koketsu & Gonçalves (1991), a obtenção do óleo essencial de orégano, se dá através do método de arraste a vapor, onde as folhas secas ficam em contato com a água em ponto de ebulição, assim dependendo da densidade do material ele irá ficar submerso ou flutuando na água.

2.2 Canela (*Cinnamomum verum*):

A canela é bastante utilizada em forma de talos de sua casca ou em pó para dar odor e sabor na culinária. A extração do óleo essencial da canela pode ser feita por arraste a vapor, tanto de suas folhas como de sua casca, desse modo o óleo extraído das suas folhas têm grandes quantidades de eugenol (possui propriedades antifúngicas e bactericidas), já sua casca é rica em aldeído cinâmico (possui propriedades antifúngicas, inseticidas e bactericidas) (KOKETSU, 1997).

Os constituintes químicos mais importantes da canela são os óleos voláteis (cinamaldeído, eugenol e ácido cinâmico), mucilagem, diterpenos e proantocianidinas. O cinamaldeído (aldeído cinâmico ou 3-fenil-2-propenal), um álcool terpeno cíclico, é o principal componente ativo do óleo essencial de canela (60-75%).

É aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) e tem sido amplamente utilizado em goma, sorvete, doces, bebidas, pães, cereais e cosméticos. No entanto, a aplicação do cinamaldeído (CND) na conservação de alimentos é limitada pelo seu sabor particular, volatilidade e natureza lipofílica (SILVA, et al, 2017).

Os óleos possuem várias atividades biológicas, incluindo atividade antimicrobiana de amplo espectro, antioxidantes e antiapoptótico. Além disso

possuem efeitos antidiabéticos, anticancerígenos, antitumoral, e inibem a neuroinflamação (SILVA, et al, 2017).

Possui ainda atividade cicatrizante, de mediador de monócitos e macrófagos, anticâncer e o óleo essencial, cinamaldeído, foi considerado pouco tóxico para os seres humanos (SILVA, et al, 2017).

Podendo, dessa forma, ter seu potencial explorado no controle de organismos fitopatogênicos, devido a seus compostos químicos.

2.3 Cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*):

É uma das principais fontes de compostos fenólicos entre as fontes vegetais, sendo que o composto majoritário do óleo essencial de cravo é o eugenol, seguido de acetato de eugenol e cariofileno (MBAVENG; KUETE, 2017).

O eugenol atua ao inibir a síntese do ergosterol na membrana celular das células fúngicas, comprometendo sua integridade e causando morte celular (SINGH et al., 2020).

O óleo essencial de cravo apresentou atividade contra os seguintes fungos: espécies de *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Scopulariopsis*, além de outros fungos que atacam plantas e animais, como *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus* sp., *Mucor* sp., *Trichophyton rubrum* e *Microsporium gypseum*. Foi registrada também atividade anticâncer, antidiabetes, anti-inflamatória, antiviral, antiparasitária e antioxidante (MBAVENG; KUETE, 2017).

As plantas aromáticas são consideradas de usos múltiplos por serem utilizadas para vários fins terapêuticos, além de serem usadas como inseticidas, repelentes e adubos verdes (RAMOS; SOUZA, 2021).

Sabe-se que os componentes ativos dos óleos conseguem provocar mudanças nas propriedades desses organismos, fazendo com que ocorra perturbação dos componentes. Extratos de plantas e produtos de origem natural, como os óleos essenciais, têm ganhado destaque por apresentarem metabólitos ativos contra agentes patogênicos (MATROSE et al., 2020).

Além disso, podem acontecer alterações na síntese proteica, secreção enzimática, conversão de energia e nutrição, processos vitais para o estabelecimento dos microrganismos. Logo, o que determina a eficiência de um óleo essencial como agente antimicrobiano é a sua capacidade de penetrar na membrana

das células, alterando o seu sistema (HACWYDRO; FLASINSKI; ROMANCZUK, 2017).

Nesse panorama, observa-se que, estudos realizados com variedades de plantas medicinais e aromáticas, “abrem um leque” em relação às várias formas de utilização dessas plantas, seja como óleo essencial ou como extrato, a eficácia é notável, quer sejam usados farmacologicamente, ou na área de conservação de alimentos, ou na área agrícola.

3. MATERIAL E MÉTODOS:

A análise atual do projeto de pesquisa, investigou algumas pesquisas bibliográficas onde foram observados resultados satisfatórios relacionados ao uso de óleos essenciais como biocidas em diferentes cultivares de plantas.

Essas pesquisas bibliográficas foram o alicerce para o presente estudo no intuito de testar e validar o efeito inibitório de óleos essenciais.

Respalda-se que o protocolo adotado foi desenvolvido e testado pelo grupo de pesquisa envolvido, baseado no levantamento de métodos usados na literatura e adaptação para viabilidade de execução da realidade do laboratório de pesquisa e facilidade de produção.

O atual projeto de pesquisa, viabilizou o processo de obtenção dos óleos essenciais de forma menos complexa, adquirindo o material vegetal já processado em sua forma comercializada.

Os fungos fitopatogênicos previamente isolados de estudos no campus já se encontravam armazenados na micoteca do Instituto Federal Goiano e seguiram para reativação e testes de inibição.

A etapa seguinte do projeto consistiu na execução de protocolos laboratoriais para a reativação dos fungos fitopatogênicos oriundos da micoteca do IF Goiano Campus Ceres.

- Após o processo de reativação dos fungos fitopatogênicos, eles foram armazenados na BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio, ou seja, BOD é um equipamento utilizado para o controle do oxigênio consumido pelos microrganismos) a 37° C por 7 dias.
- O processo de reativação consistiu na transferência ou espalhamento de uma pequena amostra de fungos contidos em tubos de ensaio, para placas de

Petri com meio de cultura esterilizado, preparado anteriormente, sendo utilizado meio de cultura Sabouraud (SB) acrescido de Cloranfenicol (45g de SB, 300 mg de Cloranfenicol para 1 litro de água destilada ou deionizada), dessa forma, foram reativadas 5 cepas de fungos fitopatogênicos e levados à BOD por um período de 7 dias.

Nessa etapa do estudo, foram utilizadas placas de Petri com meio de cultura estéril, beckers, alça de Pasteur, no período em que se aguardava o crescimento das colônias dos fungos fitopatogênicos na BOD, foi concluído o processo de obtenção dos óleos essenciais para teste fungicida.

Respalda-se que o protocolo adotado foi desenvolvido e testado pelo grupo de pesquisa envolvido, baseado no levantamento de métodos usados na literatura e adaptação para viabilidade de execução da realidade do laboratório de pesquisa e facilidade de produção.

O atual projeto de pesquisa, viabilizou o processo de obtenção dos óleos essenciais de forma menos complexa, adquirindo o material vegetal já processado em sua forma comercializada.

3.1 Obtenção dos óleos essenciais:

São diversas as formas de se obter óleos essenciais de plantas, a escolha ideal do protocolo de obtenção desses óleos, vai depender da quantidade que será necessária para utilização, será citado apenas alguns dos métodos, de baixo custo e de protocolo simplificado e prático.

Os óleos voláteis vegetais das plantas funcho, hortelã e alecrim foram adquiridos no comércio, para assegurar seu grau de pureza e concentração. Os óleos não foram diluídos. Para a preparação dos extratos de sementes de funcho, folhas de hortelã e folhas de alecrim, o material vegetal foi lavado com água destilada e deixado em repouso em solução de NaClO (Hipoclorito de Sódio) na concentração de 0,5% por 15 min.

Em seguida, o material vegetal foi seco em temperatura de 26 °C. Foram utilizados 50 g de folhas de hortelã, 50 g de sementes secas do funcho e 50 g de folhas de alecrim. Após separação, os materiais foram triturados em moinhos de facas e imersos em 150 ml de etanol absoluto (1:3), separadamente, e ficaram por

72 horas em maceração com renovação de solvente a cada 24 horas para contribuir no esgotamento (SOUSA, 2007).

Em seguida foi realizada a filtração com papel filtro para separar da solução, o solvente foi evaporado com auxílio do rotaevaporador, sendo pesado e calculado o rendimento, equivalente a 5,4%. Posteriormente, os extratos foram diluídos com etanol 70% na concentração de 100 mg/ml (SOUSA, 2007).

Por terem baixo rendimento na extração, a escolha do método a ser utilizado é de extrema importância, uma vez que, falhas nesta etapa do processo podem influenciar na qualidade e na quantidade de óleo essencial extraído (COSTA, 2022). As plantas, das quais se obtém os óleos, possuem constituintes químicos que podem variar seu estado a depender de fatores extrínsecos, como, por exemplo, condições climáticas e do solo, época de coleta, agressões por agentes externos (inseto, chuva e vento fortes, herbívoros etc.). Além do mais, observa-se que o rendimento do óleo, a nível de cultivo em porcentagem, pode variar sob condições agroclimáticas e sazonais (SIMÕES et al., 2016).

Desse modo, os óleos essenciais são obtidos a partir de métodos de extração, como destilação por arraste, a vapor com água ou por espremedura. É importante salientar que as plantas possuem estruturas específicas, estas podem possuir células oleíferas e a extração do óleo ocorre entre a membrana celular e a cutícula, e ainda em alguns casos a depender das espécies nas escamas glandulares (OLIVEIRA; MAIOR; DRESCH, 2018).

3.2 Protocolo utilizado nesta pesquisa:

A obtenção dos óleos essenciais foi por meio de infusão a vapor, a execução é artesanal e simplificada.

- consistindo no aquecimento lento e uniforme por 3h, de partes da planta *Cinnamomum verum* (canela), *Origanum vulgare* (orégano) e *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia), em 50 ml de *Helianthus annuus*, óleo vegetal de girassol (o suficiente para encobrir os compostos das plantas utilizadas), esse óleo vegetal, contribui para extrair os compostos químicos das plantas manuseadas.
- A aquisição dos constituintes químicos contidos nas plantas para a extração de óleos essenciais se deu numa proporção de 10g de cada

planta mencionada, em 200ml de óleo de girassol como carreador (foi utilizado 50 ml do óleo de girassol para a extração dos compostos químicos das plantas), depois do período de 3h, já com os compostos químicos dos óleos extraídos e em temperatura ambiente, adiciona-se o restante do óleo de girassol. Esse processo para extração dos óleos essenciais pode ser feito 15 dias antes de seu uso.

- Em seguida, para melhor concentração de seus constituintes químicos, esperou-se uma semana para só então coar esse óleo com uma peneira fina, tecido fino ou filtro de papel, armazenar o obtido em utensílio de vidro na cor âmbar, devido a característica de fotossensibilizador dos óleos essenciais, e armazenar esse óleo obtido, em local adequado, sem a incidência direta do sol.
- Para a obtenção do óleo Blend (mix dos óleos citados), obteve -se 10g de cravo-da-índia, 10g de canela e 10g de orégano (obtidos em sua forma comercial).
- O processo adotado para a obtenção do Blend, é igual ao processo anterior utilizado, mas agora se associou o cravo-da-índia, a canela em pau e o orégano (10g para cada), ao óleo vegetal de girassol.

Embora tenha se optado pelo processo acima citado na extração dos óleos essenciais, faz-se necessário enfatizar, que há muitos outros processos descritos em estudos realizados, assim como há discrepâncias entre autores sobre a obtenção de óleos essenciais com ou sem a presença de aquecimento, alguns defendem a extração dos óleos a frio, outros preferem a aquisição por meio do vapor, com calor ou sem os óleos essenciais demonstraram constituintes com ação antimicrobiana.

Os óleos essenciais, por definição internacional, são obtidos a partir de uma planta ou de parte dela por hidrodestilação, destilação ou destilação a seco, ou ainda pela aplicação de algum processo mecânico sem a utilização de aquecimento (VIEIRA et al., 2018).

Considerando a possibilidade de novos estudos com meios de extração distintos, a fim de se obter novos dados científicos sobre o potencial inibitório dos óleos essenciais, além de protocolos precisos e unificados na extração desses compostos químicos das plantas.

O processo de maceração por exemplo, se mostra eficaz e de baixo custo também, podendo ser incluído em estudos futuros.

Maceração consiste no processo ao qual as plantas, devidamente secas, entram em contato com um solvente, podendo ser com álcool, óleos vegetais e até água, onde vai se dissolvendo e liberando seus princípios ativos. As plantas devem estar em pedaços pequenos, para que possam ter um contato maior com o solvente, sendo agitado diariamente o recipiente para ajudar na extração (EVANGELISTA, ARCE, 1997; TREVIZANI, 2019; VILAR, 2019).

Este processo é lento, pode demorar horas, dias, e até meses, mas ele extrai todos os compostos das plantas, demonstrando um método bem eficaz. Há fatores que influencia na extração, um deles é a estabilidade térmica do óleo escolhido, para não oxidar no calor, além disso, temos a cor, o odor, a vida útil e viscosidade (EVANGELISTA, ARCE, 1997; TREVIZANI, 2019; VILAR, 2019).

3.3 Ensaios *in vitro* com óleos essenciais:

Para o ensaio *in vitro* dos óleos essenciais obtidos, nos fungos fitopatogênicos dos gêneros *Fusarium*, *Malbranchea*, *Ovulariopsis*, *Penicillium* e *Aspergillus*, foi verificado a atividade inibitória dos óleos da seguinte forma:

- Foram feitas soluções padronizadas em escala Mac farland 0,5 com os fitopatogênicos (corresponde a 10^6 UFC/ml), sendo acrescida e espalhada 0,2 ml da suspensão em placas de Petri (10 repetições por tratamento) sob o meio SB.
- Em seguida, foi inoculado o fungo fitopatogênico pontualmente no centro da placa de Petri, já com 0,2 ml de óleo espalhado, com a utilização de palitos esterilizados. A quantidade de óleo essencial usada na placa com meio de cultura SB, foi definida depois de pesquisa bibliográfica, buscou-se utilizar uma concentração de 0,2 ml de óleo essencial, porém observa-se uma grande lacuna na descrição de metodologia de ensaio *in vitro* de óleos essenciais frente a cepas de organismos fitopatogênicos.

4. ANÁLISES ESTATÍSTICA:

Adotou-se um delineamento inteiramente ao acaso (DIC), os dados obtidos com o estudo foram restritos à análise de variância, comparando-se as médias do

crescimento micelial pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa Sisvar ®. (BONETT, et al., 2011).

Foram investigados a variância com dois isolados (*Fusarium* spp. e *S. sclerotiorum*), comparou -se as médias do crescimento micelial pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade e oito concentrações de óleo essencial (0,0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2 e 1,4? L·mL⁻¹), com dez repetições. Os óleos essenciais inibiram o crescimento micelial dos fungos em diferentes concentrações, sendo seu potencial justificado pela presença de compostos químicos antifúngicos (FONTANA, et al, 2020).

Em seguida:

→ A mensuração do crescimento das colônias foi efetuada em três tempos: 24h, 48h e 72h, com a utilização de um paquímetro.

A atividade antifúngica dos óleos se dá devido a sua natureza lipofílica, que facilita sua penetração através dos limites celulares do patógenos, levando a uma cadeia de reações que geram efeitos tóxicos.

Os compostos ativos presentes nos óleos essenciais interferem diretamente na toxicidade, e sua interação permite uma ação sinérgica com atividade contra um amplo espectro de patógenos (MOSSA et al., 2021).

A atividade antifúngica é considerada positiva quando o halo de inibição for superior ou igual a 10 mm de diâmetro. Para isso, foi adotado o auxílio de um paquímetro para as mensurações (Nunes et al., 2006).

Dessa forma, organismos fitopatogênicos foram selecionados para o ensaio *in vitro*:

- ❖ Os fungos fitopatogênicos selecionados para a pesquisa atual, foram oriundos da micoteca da própria instituição, foram selecionados 5 gêneros de fungos:
- ❖ *Fusarium*;
- ❖ *Malbranchea*;
- ❖ *Ovulariopsis*;
- ❖ *Penicillium* e
- ❖ *Aspergillus*.

Os quais foram submetidos a ensaio *in vitro* com objetivo de acompanhar o desenvolvimento micelial frente ao uso dos óleos essenciais.

Os óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas que foram utilizadas para o ensaio *in vitro* foram:

- ★ *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia);
- ★ *Cinnamomum verum* (canela);
- ★ *Origanum vulgare* (orégano);
- ★ Blend (Associação dos óleos acima citados).

O ensaio *in vitro* foi realizado e as mensurações das colônias dos fungos se deu em 3 tempos (24h 48h e 72h). Obtendo assim diâmetros de crescimento distintos entre os fungos selecionados.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Tabela 1 – Diâmetro em (mm) de colônias de *Fusarium* sp. submetidas a óleos essenciais em diferentes tempos de incubação (h = horas).

Tratamento	24h	48h	72h
Blend	1,90 a	11,0 a	18,5 a
Cravo	1,20 b	4,7 b	14,5 a
Orégano	0.45 b	6,6 b	16,5 a
Canela	0,90 b	6,4 b	16,5 a
Controle	2,50 a	9,3 a	25,5 a
P- Valor	< 0,001	0,0029	0, 2416

Nota: Letras distintas na coluna indicam diferença por Scott Knott (5%).

Na tabela 1 nota-se que a princípio, nos tempos de 24h e 48h, o crescimento micelial foi lento, no entanto o óleo Blend teve resultados semelhantes ao grupo controle, ou seja, a associação dos compostos químicos presentes nos óleos essenciais não teve uma sinergia esperada e de alguma forma, comprometeu a ação

inibitória destes, no entanto os dados são preliminares, demandando por estudos mais aprofundados, tanto na obtenção dos óleos, como na concentração desses e ensaios *in vitro*.

Pesquisadores, com objetivos análogos, utilizaram óleos essenciais das mesmas espécies adotadas no presente estudo e comprovaram a eficácia na inibição do crescimento micelial para diferentes fitopatógenos.

Santos e Mendes (2021) avaliaram a ação antifúngica de óleos essenciais no tratamento de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*) e os efeitos sobre a fisiologia das sementes.

O óleo essencial de cravo reduziu a incidência de fungos em sementes de feijão, com níveis de controle significativamente iguais aos do fungicida comercial utilizado na pesquisa.

Foram constatadas baixa incidência de *Fusarium* spp., além da ausência de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. nas sementes que receberam esse tratamento.

O tratamento com óleo essencial 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 inicial, que decresce com o passar do tempo de incubação ocorre pela vaporização dos constituintes presentes no óleo essencial. Este comportamento também foi observado nos estudos de Martinazzo et al. (2019).

É interessante essa diversificação de métodos para que se possa comparar os resultados, pois, às vezes, se trata dos mesmos óleos essenciais, patógenos semelhantes, mas técnicas distintas, que apresentam resultados promissores em diferentes áreas de aplicabilidade dos óleos essenciais.

Na tabela 1 pode-se observar que o crescimento micelial do gênero *Fusarium* teve seu desenvolvimento lento nos dois primeiros tempos, frente aos óleos essenciais de cravo-da-índia, orégano e canela, diferentemente do resultado do Blend, que se assemelhou com o controle e não apresentou potencialidade na inibição do crescimento fúngico, porém, foi possível averiguar que houve inibição no desenvolvimento fúngico.

No entanto, analisando os meios para a obtenção dos óleos essenciais contidos na literatura, observa-se que ao extrair os compostos químicos do óleo essencial

utilizando o etanol como solvente, pode alterar ou até diminuir o efeito do óleo essencial sobre patógenos.

Diferentemente de Pinho et al. (2011), que em seu trabalho com extratos hidroalcóolicos obtidos das folhas de alecrim-pimenta não encontraram atividade antimicrobiana em cepas de *S. aureus* e *E. coli*, o extrato de alecrim apresentou atividade inibitória.

Mendonça (2004), estudando o efeito dos óleos essenciais de cravo-da-índia, orégano e manjerição sobre *Staphylococcus aureus*, verificou efeito inibitório a partir das concentrações de 1,5 e 10 %, respectivamente.

Para o tempo de 72 horas não foi encontrada diferença estatística entre os tratamentos ($P>0,05$), o que indica a importância da intervenção precoce com óleos essenciais, visto que passados três dias de infecção estes já não inibem o crescimento fúngico.

Tabela 2 – Diâmetro em (mm) de colônias de *Ovulariopsis* sp. submetidas à óleos essenciais.

Tratamento	24h	48h	72h
Blend	2,70 a	7,5 b	15,4 b
Cravo	1,45 c	8,2 b	19,5 b
Orégano	1,60 c	11,0 b	23,0 b
Canela	1,10 c	8,3 b	19,5 b
Controle	2,20 b	24,0 a	41,0 a
P- Valor	>0,001	<0,001	<0,001

Nota: Letras diferentes na coluna, distinguem-se por Scott Knott (5%).

Os mesmos óleos essenciais testados *in vitro* em colônias de *Ovulariopsis*, também apresentaram superior inibição do crescimento fúngico nas primeiras 24h e 48h, sendo que o Blend, isto é, a associação de vários compostos dos óleos

essenciais manipulados na pesquisa presente, comprometeu a ação inibitória e não demonstrou resultados satisfatórios, conforme estudos realizados com o óleo em associação com compostos químicos dos óleos isolados.

O que nos remete a ideia de que, por algum motivo, a sinergia dos constituintes dos respectivos óleos essenciais, para algumas cepas de fungos fitopatogênicos, não inibe o crescimento fúngico, a melhor opção fica por conta dos óleos isolados.

Podemos remeter esses resultados aos óleos, pelo protocolo recorrido. Poderia o aquecimento na obtenção dos óleos, ter interferido nesses atuais resultados?

Seria a dosagem empregada no protocolo ter sido insuficiente?

Ou também poderia ser a própria metodologia? Seja como for, fica evidente a necessidade de pesquisas aprofundadas nesse campo ainda repleto de lacunas.

A ausência de atividade antibacteriana pode ser decorrente da concentração do extrato usado, qualidade das folhas (alterada por condições de solo, sazonalidade, tipo de colheita e teor de ativos) ou mesmo da menor sensibilidade dos microrganismos estudados (PINHO, et al., 2011).

Procurando em literaturas diversas, pesquisas semelhantes a essa, não foi possível encontrar estudos relacionados ao fitopatogênico *Ovulariopsis* sp. Haja visto, a imensa dificuldade em pesquisar temas relevantes como esse.

México (BRAUN e COOK, 2012). Até onde sabemos, este é o primeiro relato deste fungo na Colômbia. Em 1998 e 1999, um severo caso de oídio (doença encontrada nas folhas de soja) em Las Cruces, causada pelo fungo fitopatogênico *Ovulariopsis* spp.

Esse caso, de acordo com os autores, foi tratado com pulverizações com fungicida Azoxistrobina, devido a gravidade e a rapidez em que a doença se alastrou. Com isso, se percebe a falta em pesquisas que contribuam com a comunidade científica, para definição de protocolos padronizados.

Tabela 3 – Diâmetro (mm) de colônias de *Malbranchea* sp. submetidas à óleos essenciais.

Tratamento	24h	48h	72h
Controle	0.003a	0.010a	0.034a

Blend	0.000a	0.000b	0.014b
Canela	0.000a	0.006a	0.019b
Cravo	0.000a	0.000b	0.020b
Orégano	0.000a	0.000b	0.022b
P-Valor	0.4175	0.0173	0.0019

Nota: Letras diferentes na coluna, se diferem por Scott Knott (5%).

Para *Malbranchea* sp. foi observado comportamento diferente dos fungos acima. Ou seja, é evidenciado a ausência de diferenças ($P>0,05$) de efeito dos óleos nas primeiras 24h. Contudo, com o passar do tempo (48 h) frente à exposição do agente antagonista (óleos essenciais), verifica-se efeito superior dos óleos de cravo, orégano e do blend. O óleo de canela foi semelhante ao controle negativo.

Já com 72h, todos os óleos são superiores ao tratamento controle ($P<0,05$). Acredita-se que como esse é um fungo de crescimento mais lento, a evidência da ação inibitória passa a ser mais clara com o progresso do tempo de exposição aos óleos testados.

Segundo Silva et al. (2009) o óleo essencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume - Lauraceae) frente a linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* foi efetivo no controle do desenvolvimento bacteriano. O *S. aureus* apresentou maior susceptibilidade frente à ação do óleo, enquanto concentrações maiores foram necessárias para inibir o crescimento de *E. coli*.

Uma possível explicação para isso pode ser as diferenças na estrutura da parede bacteriana das bactérias gram. positivas (presença de lipopolissacarídeos) e das bactérias gram. negativas (ausência de lipopolissacarídeos).

Resultados semelhantes foram relatados por outros autores quando usaram estes mesmos óleos essenciais sob outros microrganismos.

Tabela 4 – Diâmetro (mm) de colônias de *Penicillium* sp. submetidas à óleos essenciais.

Tratamento	24h	48h	72h
Controle	0.010a	0.032a	1.065a
Blend	0.000a	0.007b	0.028a
Canela	0.002a	0.013b	0.028a
Cravo	0.002a	0.004b	0.021a
Orégano	0.003a	0.012b	0.026a

P-Valor	0.1484	<0.001	0.3702
---------	--------	--------	--------

Nota: Letras distintas na coluna, se diferem por Scott Knott (5%).

O tratamento efetuado com óleos essenciais frente ao fungo *Penicillium* sp. demonstrou superior inibição nas primeiras 24h e 48h, apresentando um resultado promissor, visto que fungos como *Penicillium* e *Aspergillus* sp. São fungos esporulados e de fácil propagação aérea, sendo que o fungo *Penicillium* sp. é causador de prejuízos por onde passa, espalhando seus esporos, causando mofo em alimentos, mas também em plantas.

Penicillium spp. e *Rhizopus stolonifer* apresentam alta incidência e causam doenças como “Podridão Verde” e “Podridão Negra”, nesses casos, o óleo essencial de cravo-da-índia puro, apresentou eficiência nos testes antifúngicos (Lavínia Cipriano, 2022).

Pereira (2008), analisando os óleos essenciais de cravo-da-índia e orégano, observou atividade fungicida sobre o fungo *Penicillium commune*, com inibição total no crescimento a partir das concentrações de 250 mg. L⁻¹ e 2000 mg. L⁻¹, respectivamente.

Analisando algumas literaturas com experiências semelhantes, percebe-se que há muito o que estudar ainda, pois, precisa-se chegar a uma concentração ideal, encontrar meios de produzir mais pesquisas referentes aos óleos essenciais e seus metabólitos secundários, entende-se que esse é o caminho, mas precisamos reunir mais literaturas com pesquisas práticas, e através das comparações, podemos chegar à produtos naturais eficientes para o controle de fitopatologias.

Tabela 5 – Diâmetro (mm) de colônias de *Aspergillus* sp. submetidas à óleos essenciais.

Tratamento	24h	48h	72h
Controle	0.006a	0.027a	10.800a
Blend	0.000b	0.015b	0.047b
Canela	0.000b	0.013b	0.047b
Cravo	0.000b	0.016b	0.044b
Orégano	0.000b	0.010b	0.061b
P-Valor	0.0785	0.0075	<0.001

Nota: Letras desiguais na coluna, se diferem por Scott Knott (5%).

Na tabela 5 pode-se observar que os óleos essenciais mantiveram um resultado satisfatório em comparação com o controle, evidenciando assim, a possibilidade da utilização de óleos essenciais como controle biológico assim como, ferramenta coadjuvante associativa com produtos agrotóxicos. Muitos estudos apontam o uso de óleos essenciais como potentes biocidas, o desafio é encontrar a dosagem certa, pois há outras variedades de plantas com compostos antifúngicos de acordo com alguns estudos.

Zanchettin, Mellide (2021), testou alguns óleos essenciais em fungos filamentosos como o *Aspergillus flavus* e *Fusarium verticillioides*, os respectivos óleos essenciais foram o de *Citrus aurantium bergamia* (bergamota), *Melaleuca alternifolia* (árvore do chá), *Pogostemon cablin* (Patchouli) e *Syzygium aromaticum* (Cravo-da-índia).

A avaliação interativa foi realizada pelo método de Checkerboard através da concentração inibitória fracional (CIF) entre os óleos essenciais de árvore do chá e cravo-da-índia possibilitando a observação de um efeito sinérgico em ambas as combinações, sendo assim, possível aumentar a eficácia dos óleos em concentrações inferiores.

A atividade antimicrobiana tem maior destaque, pois os óleos essenciais apresentam o potencial de inibir o crescimento de bactérias (SAMBA et al. 2020), fungos (FERRÃO et al., 2020) e vírus (ALHAJJ; QASEM; AL-MUFARREJ, 2020).

Como podemos constatar, há estudos concernentes aos efeitos antimicrobianos e antifúngicos em óleos essenciais extraídos de diversas famílias de plantas, essa área de pesquisa ainda necessita de muitos estudos, para se conhecer as reais propriedades dos compostos químicos secundários encontrados em plantas medicinais e / ou plantas aromáticas.

6. CONCLUSÃO:

Neste estudo, pode-se concluir que óleos essenciais de canela, cravo e orégano, isolados ou em blend, possuem ação antagonista variada em função da espécie fúngica desafiada.

Outrossim, é inegável as propriedades antimicrobianas e antifúngicas presentes nos constituintes dos óleos essenciais, o que demanda ainda mais conhecimento envolvendo essa área.

7- REFERÊNCIAS:

AK SAKALLI, Ezgi et al. In vitro and in silico evaluation of ACE2 and LOX inhibitory activity of Eucalyptus essential oils, 1, 8-cineole, and citronellal. **Natural Product Communications**, v. 17, n. 6, p. 1934578X221109409, 2022.

AMOABENG, Blankson W. et al. Cost: benefit analysis of botanical insecticide use in cabbage: implications for smallholder farmers in developing countries. Inglês (EUA). **Crop protection**, v. 57, p. 71-76, 2014.

AND ALTERNATIVE MEDICINE, Evidence-Based Complementary. Retracted: Essential Oils Loaded in Nanosystems: A Developing Strategy for a Successful Therapeutic Approach. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2021, p. 1-1, 2021.

BARRETO, Hosana Carolina dos Santos et al. Óleos essenciais de plantas condimentares e medicinais no controle de contaminantes da micropropagação de *Myrciaria dubia*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 45, p. e-879, 2023.

CAMPOS, N. G. et al. Orégano (*Origanum vulgare*). **Orégano (*Origanum vulgare*)**, 2022.

ÇETİN, BÜLENT; ÇAKMAKÇI, SONGÜL; ÇKMAKÇI, Ramazan. The investigation of antimicrobial activity of thyme and oregano essential oils. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 35, n. 2, p. 145-154, 2011.

CINTRA, Warlen Xavier. OBSERVAÇÃO DA DECOMPOSIÇÃO DA SEMENTE DE GOIABA À VERIFICAÇÃO EM TERRA E EM GELADEIRA NA GERMINAÇÃO. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 8, n. 5, p. 756763, 2022.

CIPRIANO, Lavínia. Potencial antifúngico de nanoemulsões de óleo essencial de Cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*). 2022.

COSTA, A. R. T. et al. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & LM Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 13, p. 240-245, 2011.

COSTA, Leonardo Duarte da. Revisão bibliográfica sobre comparação de metodologias convencionais de extração de óleos essenciais. 2022.

DA SILVA BONAPAZ, Lidiane et al. POTENCIAL FUNGITÓXICO DE ÓLEOS VOLÁTEIS E EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE ALTERNATIVO IN VITRO DE FUNGOS DOS GÊNEROS *Aspergillus* E *Fusarium*. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 13, n. 3, p. 07-16, 2019.

DE ALMEIDA, Jhenyfer Caroliny; DE ALMEIDA, Priscila Prates; GHERARDI, Sandra Regina Marcolino. Potencial antimicrobiano de óleos essenciais: uma revisão de literatura de 205 a 2018. **Nutr. Time**, v. 17, n. 01, p. 8623-8633, 2020.

DE FIGUEIREDO, Ana Rosa de Figueiredo; DA SILVA, Leirson Rodrigues; DE MORAIS, Lilia Aparecida Salgado. Atividade antifúngica de óleos essenciais frente a *Macrophomina phaseolina*. **Nativa**, v. 11, n. 1, p. 75-81, 2023.

DE FREITAS COELHO, Ana Paula et al. Controle alternativo de fitopatologias: uso de óleos essenciais no tratamento sanitário de sementes. **CONTRIBUCIONES A LAS CIÊNCIAS SOCIALES**, v. 16, n. 9, p. 13857-13878, 2023.

DO NASCIMENTO OLIVEIRA, Isadora *et al.* Atividade antimicrobiana in vitro de extratos vegetais sobre bactérias isoladas de degelo de peixe. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e306997406-e306997406, 2020.

ESTUFA BOD – PARA QUE SERVE ESSE EQUIPAMENTO DE LABORATÓRIO consulte o fabricante. Splabor, 2018. Disponível em: <<https://www.splabor.com.br/blog/incubadora-b-o-d/estufa-bod-para-que-serve-esseequipamento-de-laboratorio/>> Acesso em: 01-05-2022.

Fernández-Pavía SP, Valenzuela-Vázquez M. First Report of *Ovulariopsis* on *Lupinus havardii*. *Plant Dis.* 2000 Apr;84(4):487. doi: 10.1094/PDIS.2000.84.4.487B. PMID: 30841176.

FONTANA, Daniele Cristina et al. Potencial fungicida de óleos essenciais no controle de *Fusarium* spp. e *Sclerotinia sclerotiorum*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 87, 2020.

HELAL, Ismail M. et al. Antimicrobial efficiency of essential oils from traditional medicinal plants of Asir region, Saudi Arabia, over drug resistant isolates. **BioMed research international**, v. 2019.

JU, Jian et al. Major components in Lilac and Litsea cubeba essential oils kill *Penicillium roqueforti* through mitochondrial apoptosis pathway. **Industrial crops and products**, v. 149, p. 112349, 2020.

JUNIOR; Gerson Zanusso; SARTO; Marcela P. Mansano, ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS, ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS, **Revista UNINGÁ REVIEW**, vol.20, n.1, pp.98-102 (out – dez 2014).

LACAZ, Carlos da S. *et al.* **Guia para Identificação Fungos Actinomicetos Algas:** de interesse médico. 1, São Paulo: Sarvier, 1998.

KNAAK, Neiva, FIUZA, Lídia Mariana. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology & Conservation**, v. 5, n. 2, 2010.

MAIA, Tatiana Faria; DONATO, Alexandre de, FRAGA, Marcelo Elias. Atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 17, n. 1, p. 105-116, 2015.

MARCOLINA, Marzy. **Óleos essenciais: estudo de extração e atividade antimicrobiana**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

MATTER, Leticia Beatriz; MULLER, Nilvane T. Ghellar; SAUSEN, Cristiane Raquel. Isolamento e identificação de fungos filamentosos. **Lume**, Disponível em: https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/88935/Resumo_200006.pdf?sequence=1&isAllowed=y Acesso em: 01-05-2022.

MILAGRE, Luciana Pasqualini. Caracterização de metabólitos secundários produzidos por isolados do gênero *Streptomyces* com atividade contra fungos fitopatogênicos. 2017.

REZENDE, Lucas Felipe de et al. Carreadores lipídicos nanoestruturados de óleos essenciais de orégano e canela na inibição de Salmonella Heidelberg. 2023.

SANTOS, Naiara Alves dos. A Utilização de Óleos essenciais e Aromaterapia como Terapia Integrativa: uma revisão de literatura. 2022.

SILVA, Rosicleia Matias da et al. **Bioatividade de extratos botânicos sobre *Plutella xylostella* L. 1758 (Lepidoptera: Plutellidae).** 2022.

WELTER, Telmar Moraes. Emulsão de óleo essencial de alecrim-do-campo (*Baccharis Dracunculifolia*) No controle de doenças e indução de resistência em Tomateiro. 2022.

ZANCHETTIN, Mellide. **Efeito antifúngico de óleos essenciais isolados e combinados frente a fungos filamentosos.** 2021. Trabalho de Conclusão de Curso.

Universidade Tecnológica Federal do Paraná.