UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

CONTROLE DE *Alternaria solani* EM TOMATEIRO (*Lycopersicon esculentum*) COM ÓLEOS ESSENCIAIS

CARLOS LUIZ MILHOMEM DE ABREU
Engenheiro Agrônomo

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Campus de Botucatu, para obtenção do Título de Doutor em Agronomia – Horticultura.

BOTUCATU-SP
Fevereiro - 2006

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

CONTROLE DE *Alternaria solani* EM TOMATEIRO (*Lycopersicon esculentum*) COM ÓLEOS ESSENCIAIS

CARLOS LUIZ MILHOMEM DE ABREU

ORIENTADOR: PROF. DR. FRANCISCO LUIZ ARAÚJO CÂMARA

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Campus de Botucatu, para obtenção do Título de Doutor em Agronomia – Horticultura.

BOTUCATU-SP

Fevereiro - 2006

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Abreu, Carlos Luiz Milhomem de, 1956-
A162c Controle de *Alternaria solani* em tomateirode (*Lycopersicon esculentum*) com óleos essenciais / Carlos Luiz Milhomem de Abreu. - Botucatu : [s.n.], 2006.
ix, 71 f. : il. color., gráfs, tabs.

Tese (Doutorado)-Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2006
Orientador: Francisco Luiz Araújo Câmara
Inclui bibliografia.

1. Hortaliças. 2. Tomate. 3. Ecologia agrícola. 4. Essencias e óleos essências. 5. Fungicidas. I. Câmara, Francisco Luiz Araújo . II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: **"CONTROLE DE *Alternaria solani* EM TOMATEIRO (*Lycopersicon esculentum*) COM ÓLEOS ESSENCIAIS"**

ALUNO: CARLOS LUIZ MILHOMEM DE ABREU

ORIENTADOR: PROF. DR. FRANCISCO LUIZ ARAÚJO CÂMARA

Aprovado pela Comissão Examinadora:

PROF. DR. FRANCISCO LUIZ ARAÚJO CÂMARA

PROF. DR. EDSON LUIZ FURTADO

PROF. DR. NILTON LUIZ DE SOUZA

PROFA. DRA. KATIA REGINA F. SCHWAN-ESTRADA

PROF. DR. VICENTE WAGNER DIAS CASALI

Data da Realização: 10 de fevereiro de 2006.

“A terra que absorve a chuva que cai, produz erva útil para aqueles que a cultivam sob a benção de Deus”.

HEBREUS 6:7

Dedico este trabalho a meus filhos Juliana, Danilo e Patrícia; meus pais: Eustáquio e Ivanildes; irmãos: Raquel, Lucia, Regina, Éster, Aparecida, Epitácio, Fábio, Clóvis “in memória” e Eudes; cunhados: Sizenando, Sidney, Pedro, Jésus, Jesus, Lucineide.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por estar presente na minha vida e ter abençoado a todos nós envolvidos na realização desse trabalho.

À EMPAER-MT pela liberação para o curso de Doutorado.

À Eliane Castilho de Carvalho de Abreu, mãe de meus filhos, pelo carinho, incentivo e apoio.

Ao Professor Dr. Francisco Luiz Araújo Câmara, pelo acolhimento, amizade e orientação.

Ao professor Dr. Edson Luiz Furtado, pelo apoio na execução desse trabalho e atenção e amizade.

À professora Drª Márcia Ortiz Mayo Marques pela colaboração na análise dos óleos essenciais.

Aos professores Dr. Lin Chau Ming e Drª Rumy Goto, Dr. Ismael, Drª Regina e Drª Sarita pela atenção, compreensão e espírito profissional.

À colega Mariana Zatarim pela convivência, amizade e apoio nos dias difíceis.

Ao colega Chrystian Iezid Maia e Almeida pela convivência, amizade e colaboração nas análises estatísticas.

Às secretárias Elizabete, Rosemeire e todos funcionários do Departamento de Produção Vegetal – Setores de Horticultura e Defesa Fitossanitária.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da F. C. A - UNESP-Botucatu, pelo carinho e atenção.

Aos colegas gratidão, pelos momentos alegres e tristes vividos e proporcionados pelo curso de pós-graduação.

À FAPESP pela concessão de recursos financeiros para realização desse trabalho.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo.

Às famílias: Didi Baldini , Antônio Benedicto, Takao, Mitsu Hino e todos agricultores da Associação dos Produtores Orgânicos de Botucatu-SP, pela convivência.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE TABELAS VIII

LISTA DE FIGURAS IX

RESUMO..... 1

ABSTRACT..... 2

1. INTRODUÇÃO..... 3

2. REVISÃO DE LITERATURA..... 5

2.1 Aspectos da doença..... 5

2.2 O patógeno..... 6

2.3 Óleos essenciais no controle de doenças de plantas..... 7

2.3.1 *Eucalyptus citriodora* Hook..... 10

2.3.2 *Cinnamomum zeylanicum* Breym..... 11

2.3.3 *Citrus* [(*Citrus limon* (Linn.) Osbeck) e *Citrus sinensis* var. *dulcis*.] (Linn.) Osbeck)..... 12

2.3.4 *Cymbopogon citratus* Staph..... 13

2.3.5 *Cymbopogon Martini* Staph..... 15

2.3.6 *Melaleuca alternifolia* Cheel..... 16

2.3.7 *Mentha piperita* L..... 16

2.3.8 *Piper hispidinervium* (C.DC.)..... 17

2.3.9 *Rosmarinus officinalis* L..... 18

2.3.10 *Syzygium aromaticum* Merril et Perry 18

3 MATERIAL E MÉTODOS..... 20

3.1 Local de execução..... 20

3.2 Obtenção e manutenção de isolados..... 20

3.3 Obtenção de conídios..... 21

3.4 Óleos essenciais e sua composição..... 21

3.5 Avaliação “in vitro” do crescimento micelial do isolado de *Alternaria solani* sob ação dos óleos essenciais..... 22

3.6 Avaliação “in vitro” da germinação de conídios de isolado de *Alternaria solani* sob ação de óleos essenciais..... 23
3.7 Controle de *Alternaria solani* em tomateiro em ambiente protegido com uso de óleos essenciais de plantas..... 24
3.8 Controle de *Alternaria solani* em tomateiro cultivado a campo com uso de óleos essenciais..... 25
3.9 Vida útil pós-colheita de frutos de tomateiro cultivado a campo com uso de óleos essenciais para controle de *Alternaria solani*..... 26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 27
4.1. Óleos essenciais e sua composição..... 27
4.2 Avaliação “in vitro” do crescimento micelial de *Alternaria solani* sob ação dos óleos essenciais..... 30
4.3 Avaliação “in vitro” da germinação de conídios de *Alternaria solani* sob ação de óleos essenciais..... 39
4.4 Controle de *Alternaria solani* em tomateiro em ambiente protegido com uso de óleos essenciais..... 41
4.5 Controle de *Alternaria solani* em tomateiro cultivado a campo com uso de óleos essenciais..... 43
4.6 Vida útil pós-colheita de frutos de tomateiro cultivado a campo com uso de óleos essenciais para controle de *Alternaria solani*..... 48
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 53
6 CONCLUSÕES..... 55
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 56
8 APENDICE..... 67

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1	Resultados das análises dos óleos essenciais. Botucatu-SP. 2003.....	28
Tabela 2	Coeficientes angulares do crescimento micelial de *Alternaria solani* "in vitro", sob efeito de diferentes óleos essenciais e suas concentrações. Botucatu, 2003.	30
Tabela 3	Coeficientes angulares do crescimento micelial de *Alternaria solani* "in vitro", sob efeito de diferentes óleos essenciais e suas concentrações. Botucatu, 2003.	38
Tabela 4	Germinação de conídios de *Alternaria solani* "in vitro" sob ação dos óleos essenciais. Botucatu-SP, 2003.	39
Tabela 5	Folhas e folíolos com sintomas de *A. solani* em tomateiro cv. Santa Clara, cultivados em vasos, sob ambiente protegido, tratado com diferentes óleos essenciais e concentrações, avaliados aos 57 dias após transplantio. Botucatu-SP, 2003.	41
Tabela 6	Produção de frutos (kg/parcelas) e índice de doenças, de tomateiro c.v. Rio Grande cultivado a campo, sob aplicação de óleos essenciais para controle da *Alternaria solani*. Botucatu-SP, 2005.	44
Tabela 7	Porcentagem de frutos descartados de tomateiro tratados com óleos essenciais no controle de *Alternaria solani*, armazenados à temperatura ambiente. Botucatu, 2005.	49
Tabela 8	Análise química do solo do local do experimento a campo. Botucatu, 2004.	68
Tabela 9	Dados climáticos registrados na Fazenda Experimental Lageado no período de 17/10/2004 a 0/01/2005. Botucatu-SP, 2005.	69

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Coeficientes angulares para crescimento micelial de *Alternaria solani* sob efeitos de óleos essenciais. Botucatu, 2003.	32, 33, 34
Figura 2	Óleos essenciais e suas concentrações na inibição total do micélio de *A. solani*. Botucatu, 2003.	36, 37
Figura 3	Efeitos dos óleos essenciais e TM + C (tiofanato metílico + chlorothalonil) no controle da *Alternaria solani* do tomateiro cultivado a campo.Botucatu, 2005.	45
Figura 4	Conservação pós-colheita de frutos de tomateiro cultivado a campo, tratadas com TM + C (tiofanato metílico + chlorothalonil) e óleos essenciais, para controle de *Alternaria solani.* Botucatu, 2005.	50

CONTROLE DE *Alternaria solani* EM TOMATEIRO (*Lycopersicon esculentum*) COM ÓLEOS ESSENCIAIS

Autor: CARLOS LUIZ MILHOMEM DE ABREU
Orientador: Prof. Dr. FRANCISCO LUIZ ARAÚJO CÂMARA

RESUMO

O tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) é uma das principais hortaliças de valor econômico no mundo e é a segunda solanácea mais cultivada, sendo superada apenas pela batata. Essa espécie está sujeita a várias doenças que comprometem seu desenvolvimento, e dentre ela está a pinta preta, provocada pela ação do fungo *Alternaria solani* (ELL. & Martin) Jones & Grout. É a doença mais freqüente nos cultivos de tomate oque resulta no uso indiscriminado de defensivos agrícolas com alta toxicidade, comprometendo a qualidade do alimento. Neste contexto, estudou-se a ação inibitória dos óleos essenciais de diversas espécies de plantas no desenvolvimento fungo *Alternaria solani*, "in vitro", e no controle da pinta preta em tomateiro cultivado. Na avaliação "in vitro", os óleos essenciais das espécies *Cinnamomum zeylanicum, Cymbopogon citratus* e *Syzygium aromaticum* inibiram totalmente o crescimento micelial e a germinação dos conídios a partir da concentração 750 $\mu L/L^{-1}$; *Eucalyptus citriodora* e *Melaleuca alternifolia* a partir da concentração de 2000 $\mu L/L^{-1}$, e *Mentha piperita* na concentração de 5000 $\mu L/L^{-1}$. No tomate cultivado em ambiente protegido, os óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum, Cymbopogon martini, Cymbopogon citratus* e *Syzygium aromaticum*, aplicados de forma preventiva, em intervalos de 3 dias, inibiram a doença na planta a partir de 750 $\mu L/L^{-1}$, e *Eucalyptus citriodora* a 5000 $\mu L/L^{-1}$. No cultivo a campo, os óleos essenciais de *Eucalyptus citriodora, Cinnamomum zeylanicum* e *Cymbopogon citratus* inibiram a doença, mas não foram tão eficientes quanto o fungicida tiofanato metílico + chlorothalonil. Os frutos do tomateiro cultivado a campo submetido a pulverizações com óleos essenciais e o fungicida para controle de A. *solani* apresentaram maior vida útil pós-colheita, em ambiente natural.

Palavras-chave: doenças fúngicas, manejo alternativo, agroecologia.

CONTROL OF *Alternaria solani* IN TOMATO (*Lycopersicon esculentum*) USING ESSENTIAL OILS.

Author: CARLOS LUIZ MILHOMEM DE ABREU
Adsiver: Prof. Dr. FRANCISCO LUIZ ARAÚJO CÂMARA

ABSTRACT

Lycopersicon esculentum Mill is one of the main vegetable crop with economic value in the world and is the second solanacea cultivated, being surpassed only for the potato. This species is vulnerable to some diseases that compromise its development, and among them here is the black dot, caused by *Alternaria solani* fungi (ELL. & Martin) Jones & Grout. This disease is the most usual in tomato crop, and as a consequence, results in the abusive use of agricultural defensives with high toxicity. In this context, it was studied inibitory action of essential oils of several species of plants in the development of *Alternaria solani*, "in vitro", and in the control of the black dot in cultivated tomato. In the evaluation "in vitro", the essential oil of species *Cinnamomum zeylanicum, Cymbopogon martini, Cymbopogon citratus* and *Syzygium aromaticum* totally inhibited the micelial growth and the germination of the conidia at concentration 750 $\mu L/L^{-1}$; *Eucaliptus citriodora* and *Melaleuca alternifolia* at the concentration of 2000 $\mu L/L^{-1}$, and *Mentha piperita* at 5000$\mu L/L^{-1}$. In the tomato cultivated protection, the essential oil of *Cinnamomum zeylanicum, Cymbopogon martini, Cymbopogon citratus* and *Syzygium aromaticum*, applied in a preventive form, in intervals of 3 days, inhibited the symptom in the plant at 750 $\mu L/L^{-1}$, and the *Eucaliptus citriodora* 5000 $\mu L/L^{-1}$. In field condictions the essential oils of *Eucaliptus citriodora, Cinnamomum zeylanicum* and *Cymbopogon citratus* inhibited the symptons, but werenit so efficient as fungicide methylic tiofanate + chlorothalonil. The fruits harvested in field experiment which sumitted to sprayings with essential oil and the fungicide control, presented greater post-harvest,shelft life in the natural storage.

Keywords: fungi diseases, alternative management, agroecology.

1 INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) é uma das principais hortaliças de valor econômico no mundo e é a segunda solanácea mais cultivada, sendo superada apenas pela batata.

A espécie está sujeita a várias doenças que comprometem seu desenvolvimento, e dentre elas está a pinta preta causada pelo fungo *Alternaria solani* (ELL. & Martin) Jones & Grout, que se caracteriza como a doença mais freqüente em cultivos de diversas regiões brasileiras.

A doença ocorre em plantas de cultivares e híbridos com baixos níveis de resistência. Toda a parte aérea da planta pode ser afetada em qualquer idade, mas por ocasião da colheita, quando os frutos encontram-se em diferentes estágios de desenvolvimento, botões florais, frutos verdes e maduros, sua ação é maior.

Para o controle desta doença, um conjunto de medidas pode ser usado, como tratamento de sementes com fungicidas, rotação de culturas com poáceas, escolha de local evitando as áreas de baixadas, adubação equilibrada, uso de matéria orgânica e pulverizações preventivas com fungicidas, à base de mancozeb e chlorotalonil, dentre outros, com intervalo de aplicação de 3 a 7 dias. Esta prática, todavia, coloca em

risco a saúde do agricultor e do consumidor, quando não são obedecidos os períodos de carência, uma vez que o tomate é colhido diariamente.

Novas alternativas devem ser estudadas, visando à conservação do meio ambiente e à qualidade de vida dos consumidores e trabalhadores, com práticas de controle de doenças com uso de produtos ou substâncias naturais, objetivando otimizar a produção de alimentos saudáveis, de alta qualidade e menor impacto ao meio ambiente.

As pesquisas com o uso de substâncias orgânicas vegetais para o controle de pragas e doenças na agricultura e pecuária intensificaram-se no mundo inteiro, dentro do novo enfoque de desenvolvimento tecnológico que se tem proposto para a exploração agrícola, revendo e revelando novos conceitos de sustentabilidade.

Esse trabalho teve por objetivo estudar a ação inibitória dos óleos essenciais de diversas espécies de plantas no desenvolvimento do fungo *Alternaria solani*, “in vitro” e no controle da pinta preta em tomateiro cultivado.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos da doença

A pinta preta, causada por *Alternaria solani* (ELL. & Martin) Jones & Grout, ocorre com freqüência em tomateiro, atacando as hastes, folhas e frutos (DUARTE; ALBUQUERQUE, 1971; CHOI; PARK, 1982; TELLO MARQUINA; De La VEGA, 1995, KUROZAWA; PAVAN, 1997). A doença se manifesta com sintomas de lesões foliares necróticas, pardo-escuras, com anéis concêntricos e bordos definidos que ocorrem isoladamente ou em grupos, também podendo ocorrer ou não halo clorótico. Nos caules e pecíolos podem ocorrer lesões alongadas e deprimidas, sendo que manchas pardas ocorrem também nos pecíolos, cálices das flores e frutos contaminados (GARBOR; WIEB, 1997). Os sintomas nos frutos são manchas escuras, deprimidas e com anéis concêntricos, localizadas na região do pedúnculo (MAFFIA et al., 1980, DATAR; MAYEE, 1981; MIZUBUTI; BRONMONCHENKEL, 1996). As sementes podem ser infectadas por *A. solani*, quando na fase de produção de mudas e a doença pode manifestar-se na pré e pós-emergência das plântulas, com podridão e anelamento do colo, tombamento e morte

prematura, ainda no estádio de plantas jovens (WALKER, 1965, TELLO MARQUINA; De LA VEGA, 1995).

O estágio avançado da doença é caracterizado pela redução da área foliar e do vigor da planta, com quebra das hastes, queda dos frutos e morte das plantas (SHERF; MACNAB, 1986, VALE et al., 2000). A idade da planta e o início da frutificação predispõem a planta a vulnerabilidade, de forma que os sintomas começam a manifestar-se a princípio nas folhas mais velhas, e posteriormente, nas demais partes das plantas (DOUGLAS; PAVEK, 1972; MESSIAEN et al., 1995). Tokeshi; Carvalho (1980) e Hooker (1981) relatam que embora o patógeno ataque com maior intensidade os tecidos mais velhos, a doença pode ocorrer em qualquer idade da planta.

A pinta preta, quando estabelecida num cultivo comercial de tomateiro, causa grandes prejuízos econômicos devido à agressividade com que se desenvolve, prejudicando a qualidade dos frutos e, conseqüentemente, o rendimento da lavoura (DIAZ CARRASCO et al., 1977; DOROZHIN; INVANYUK, 1979; JONES et al., 1993).

2.2 O patógeno

O fungo *Alternaria solani*, agente causal da pinta preta foi verificado pela primeira vez infestando a planta da batata em 1882, em New Jersey - EUA (ELLIS; MARTIN, 1882), mas os relatos da confirmação como agente patogênico ocorreram em 1896 (VALE et al., 2000).

Na bibliografia consultada são verificados vários sinônimos com relação ao fungo: *Alternaria solani* (Soraue), (1896); *Spirridesmium solani* var. *varians vanha* (1904), *Alternaria porri* (Ell.) Neerg. f. sp. *solani* (Ell. & Martin) Neerg. (1945) e *Alternaria dauci* (Khün) Groves & Sholko f. sp. *solani* (Ell. & Martin) Neerg. (1945), (WALKER, 1965).

Os isolados de *A. solani* proveniente de tomateiro, segundo Fancelli (1991), devem ser denominados de *Alternaria solani* f. sp. *Lycopersici* devido às diferencias culturais, eletroforéticas, serológicas e de especificidade entre isolados oriundos de batata e tomateiro.

È um fungo mitospórico, pois possui conídios com 150 a 300 µM de comprimento e 15 a 19 µM de largura, individuais ou raramente catenulados, retos ou levemente curvo, corpo oblongo ou elipsoidal e afina-se em direção ao ápice, com bico comprido, sinuoso ou ramificado com 2,5 a 5,0 µM de comprimento. Possui uma coloração parda, ouro claro ou palha, geralmente apresentam 9 a 11 septos transversais. Nos conidióferos septados retos ou sinuosos que ocorrem isolados ou em grupos, com 6 a 10 µM de diâmetro e 100 a 110 µM de comprimento, onde estão inseridos os conídios, da qual possui a mesma coloração (ELLIS, 197; HOOKER, 1981).

Na população de *A.solani* em tomateiro é característico a heterogeneidade morfológica quanto a coloração do micélio, presença ou ausência de esporulação em condições artificiais, produção de pigmentos em meio de cultura (DOROZHIN; INVANYUK, 1979).

A baixa capacidade de esporulação ou a ausência é uma característica comum em *A. solani*. Diferentes métodos são indicados para induzir esporulação com variação de luz (CHARLTON, 1953; HONDA; YUNOK, 1981; STEVENSON; PENNYPACKER, 1988), ferimentos do micélio (LUKENS, 1960), temperaturas (SINGH, 1967), idades das colônias (PRASAD; DUTT, 1975) e meios de cultura (SHAHIN; SHEPARD, 1979).

O meio de cultura V8 associada com o uso da luz negra, ferimento do micélio, temperatura de 18ºC e fotoperíodo de 12 horas com luz negra foi o método que Tofoli; Kurozawa (1993) conseguiu para obter uma boa esporulação de *A. solani.*

2.3 Óleos essenciais no controle de doenças de plantas

Óleos essenciais são substâncias obtidas de partes de plantas por meio de destilação por arraste de vapor d'água, segundo definição da ISO (International Standard Organization). Seus constituintes são complexos e variáveis, como os hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas e compostos de enxofre, dentre os quais destacam-se aqueles de baixo peso molecular, como os

monoterpenos com 10 carbonos e sesquiterpenos com 15 carbonos. Possuem características peculiares odoríferas, lipofílicas, líquidas, e voláteis, conhecidos também como óleos voláteis, óleos etéreos ou essências, apresentam-se em diferentes concentrações, ocorrendo sempre um composto majoritário, e outros em menores quantidades (SIMÕES et al., 1999; SIMÕES; SPITZER, 2000 e DORAN; BROPHY, 1990).

As espécies de plantas com óleos essenciais em quantidades relativas são denominadas de plantas aromáticas. Os óleos são localizados, nas plantas, em células diferenciadas como as células secretoras externas e internas. Todas as estruturas secretoras externas são da epiderme e suas modificações, pêlos glandulares ou tricomas excretores. A produção do óleo nas estruturas secretoras internas se acumula entre as células do tecido parenquimático, e podem se diferenciar para glândulas lisígenas e esquizolisígenas, e podem transformar-se em canais oleíferos (HAAGEN-SMIT, citado por SAITO; SCRAMIN, 2000).

A utilização dos óleos essenciais vem de tempos remotos, e segundo Buchbauer et al. (1992), na época da Rainha Cleópatra do Egito, eram aplicados tanto em Medicina, como para fins de desinfestação de ambiente. Entretanto, segundo Carvalho (2003), os compostos aromáticos começaram a ser comercializados na Idade Média, quando os muçulmanos introduziram o processo de destilação.

Consagrados pela sua importância econômica na utilização em indústrias alimentícias, cosméticas e farmacêuticas, no final do século passado, começaram a surgir muitos estudos com óleos essenciais para uso como conservantes em alimentos processados, devido à conscientização ecológica e reivindicações dos consumidores, entidades não governamentais e órgãos oficiais, para substituição dos preservativos químicos sintéticos. Com isso, a indústria alimentícia começou a adotar alternativas naturais para manutenção ou aumento da vida de prateleira dos produtos, com as ervas e seus óleos essenciais, por possuírem atividade antimicrobiana (NYCHAS, 1995).

Também o uso indiscriminado e incorreto de defensivos agrícolas nos ambientes rural e urbano, vem causando prejuízos aos ecossistemas, e tem motivado o desenvolvimento de métodos e produtos alternativos no controle de doenças de plantas, em que os óleos essenciais têm potencial (FERNANDES, 2000).

Piper et al. (2001) relatam que a ação dos óleos essenciais e suas substâncias em contato com os microorganismos promovem a permeabilidade das células, causando vazão dos seus constituintes.

Os componentes fenólicos dos óleos essenciais têm sido utilizados no processo da atividade antimicrobiana, e alguns são classificados como substâncias de reconhecimento de proteção (GRAS), e usados preventivamente nos alimentos para inativar o crescimento das bactérias contaminantes. Esses compostos podem interagir com fosfolipídios da membrana das células, causando aumento da permeabilidade e vazamento dos constituintes vitais intracelulares ou prejudicando as enzimas do sistema bacteriano (SINGH, et al, 2002).

De acordo com os estudos os óleos essenciais afetam a integridade da membrana das células, como o óleo de "tea tree" *(Melaleuca alternifolia*), causando dano à membrana de *Candida albicans*, e que os óleos e seus componentes têm rompido a permeabilidade da membrana das células de leveduras (BARD et al. 1988; COX et al., 2000).

Em outras investigações (MUCCIARELLI et al., 2001), notou-se que terpernóides promoveram grande inibição da respiração da raiz de pepino, sugerindo que a inibição era provavelmente devido à interação com a parede celular e membrana plasmática.

As interações dos terpenóides com a membrana plasmática causaram a inativação de uma série de respostas fisiológicas via transdução do fluxo intracelular (KOMBRINK; SOMSSICH,1995). A interação dos terpenos permite alterar a permeabilidade iônica e fluxos através da membrana plasmática, possibilitando a reação oxidativa em sistemas de células de plantas após tratamentos elicitores (NÜRNBERGER et al.,1994).

Os óleos essenciais também são conhecidos pelas características antioxidantes naturais, atuando na peroxidase, e por isso vem sendo muito estudados para serem utilizados na mistura dos alimentos, visando ao aumento do tempo útil de prateleira. O conhecimento das condições naturais de como essas enzimas reagem com os oxidantes naturais é importante no desenvolvimento das condições de estocagem, aumentando a sobrevida dos produtos hortícolas minimamente processados (PONCE et al, 2004).

2.3.1 *Eucalyptus citriodora* Hook

O eucalipto citriodora, espécie pertencente à família Mytaceae, tem como centro de origem a Austrália, é remédio dos nativos como poderoso antisséptico, para aliviar tosse e resfriados e outras afecções respiratórias, usado nas misturas com outros medicamentos. A planta está disseminada por todos os continentes, principalmente por suas múltiplas utilidades: madeira, na indústria de celulose e química pela qualidade do óleo essencial como aromatizante.

Os óleos essenciais de eucalipto são compostos formados pela complexa mistura de componentes orgânicos voláteis, freqüentemente envolvendo de 50 a 100, deles ou até mais componentes isolados, e apresentando grupos químicos como: hidrocarbonetos, alcoóis, aldeídos, cetonas, ácidos e ésteres. Em geral, os óleos essenciais são constituídos de terpenos mais complexos, como o citronelal e o cineol; outros constituintes da essência incluídos na porcentagem de 20 a 30 % são: α-pineno, piperitona, felandreno, butiraldeído, hexanal (CHARLES; SIMON, 1990).

Estudo da composição química e da atividade antibacteriana do óleo essencial das folhas do *Eucalyptus citriodor*a, mostrou rendimento de 0,3%, e que os metabólitos secundários encontrados foram o Citronellal (72,7), Citronellol (6,3%) , Eugenol (3,5%), Caryophyllene (2,6%), α-Pinene (2,3%), Citronellyl acetate (2,3%), b-Pinene (1,7 %), α-Terpenyl acetate (1,5%), *cis*-Linalool oxide (1,3%), 1,8-Cineole (1,2%), α-Terpineol (0,7%), Myrcene (0,6%), Methyleugenol (0,6%), Camphene (0,3%), γ-Terpinene (0,3%) e Linalool (0,1%), e, que o óleo essencial mostrou-se eficiente na inibição micelial de 77% entre 22 bactérias avaliadas (CIMANGA et al, 2002). Trabalhando diferentes espécies de eucalipto (*Eucalyptus urophylla, E. camaldulensis* e *E. citriodora.)* na inibição micelial “in vitro” de *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Bipolaris sorokiniana* Shoemaker e *Botrytis cinerea* Pers., Salgado et al (2003) concluíram que todas as espécies tiveram efeitos fungistáticos nas concentrações de 500 mg/kg, mas o *Eucalyptus urophylla* obteve o melhor desempenho, e isso foi atribuído à presença do composto globulol.

2.3.2 *Cinnamomum zeylanicum* Breyn

A canela, espécie da família Lauraceae é considerada entre as especiarias, uma das mais antigas no oriente; misturada com outros produtos servia para embalsamamento de cadáveres. É essencialmente utilizada como especiaria, na indústria de doces, na composição dos aromatizantes para bebidas e na produção de incenso. Na medicina tradicional é estimulante, eupéptica, carminativa e antidiarréica. O óleo essencial da canela é de alta qualidade e bastante valorizado. O rendimento de óleo da casca está em torno de 2%, e das folhas 1%. A composição do óleo essencial é muito variável, de 60 a 90% de aldeído cinâmico e 10% de eugenol na casca e 10% de aldeído cinâmico e 60 a 95% de eugenol nas folhas. A produção mundial da canela no ano de 1991 foi de 57.080 toneladas, tendo como maiores produtores a Indonésia (22.000 t), China (21.000 t) e Sri-Lanka (10.500) (ALBUQUEQUE, 1989)

Ouattara et al. (1997), ressaltam que o óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum* tem efeito inibidor da deterioração de alimentos por organismos. Como têm demonstrado Singh et al. (1995) em seus trabalhos, o óleo da casca tem propriedades fungitóxicas contra micoses do aparelho respiratório e *Aspergillus niger*, e contra *A fumigatu*s, A. *nidulan*s e A. *flavu*s. Montes-Belmont e Carvajal (1998), adicionando óleo de canela a sementes de milho contra *A. flavus,* observaram inibição no crescimento do fungo e que os dois componentes do óleo, cinnamaldehidos e o eugenol também demonstraram propriedades inibitórias contra o fungo.

Trabalhos que mostram atividade antimicrobiana do óleo da folha de *C. zeylanicum* Bl., Hili et al. (1997) têm comprovado atividade antibacteriana contra três bactérias e quatro raças de leveduras. Esses resultados têm demonstrado que o óleo da folha inibe completamente o crescimento da *E. coli, S. aureus e P. aeruginosa,* na concentração de 500 ug/mL. Outro trabalho mostra que o MICs (concentração mínima para inibições) de *C. zeylanicum* para controle de *E. coli* e *S. aureus* foi de 0,05 e 0,04%, respectivamente (SMITH-PALMER et al., 1998).

Wilson et al. (1997), avaliando óleos essenciais e extratos de vegetais sobre *Botrytis cinerea* observaram que os extratos de *Allium* e de *Capsicum*, e

óleos essenciais de *Cymbopogon, Thymus e de Cynamomum* apresentaram maior ação fungicida, e apresentaram, como constituintes em maiores freqüências, o d-limoneno, cineol e b- mirceno. Da mesma forma, Caccioni e Guizzardi (1994), avaliando os monoterpenos sobre a ação inibitória em fungos verificaram que as substâncias E-anetol, p-anialdepido, carvacrol, carvone, 1,8-cineol, limoneno, mirceno, α-felandrreno, e α-pineno inibiram a germinação dos fungos *Botrytis cinerea, Monilia laxa, Mucor piriformis, Penicillium digitatum, Penicillium italicum, P. expansum e Rhizopus stolonifer*, mas que dentre eles, o carvacrol destacou-se dos demais na concentração de 125 ppm, inibindo o crescimento micelial de todos os patógenos, com exceção de *P. italicum*, e nesta mesma concentração inibiu o crescimento dos esporos de *M. laxa, M. piriformis e R. stolonifer.*

2.3.3 *Citrus* [(*Citrus limon* (Linn.) Osbeck) e *Citrus sinensis* var. *dulcis*.] (Linn.) Osbeck)

O limoeiro e a laranja doce, espécies pertencentes à família Rutaceae, originárias das regiões tropicais e subtropicais da Ásia e do arquipélago Malaio, estendem-se desde a Índia, norte da China, Nova Guiné até Austrália. É uma espécie cultivada em todos os continentes e foi introduzida na América pelos portugueses e espanhóis. Conhecida na medicina popular como planta milagrosa na cura ou prevenção de mais de 150 enfermidades, uma das maiores fontes de vitamina C e, segundo Albuquerque (1989), o seu suco serve para combater a acidez estomacal, além de ser diurético, antiescorbuto, anti-reumático, antidiarréico, adstringente e febrífugo.

Norman et al. (1967) e McCalley; Torres-Grifol (1992) têm demonstrado que os danos nas laranjas liberam grande quantidade de terpeno do óleo constituinte da casca de frutos sadios. Presume-se que o conídio do *Penicillium* spp. se mantém impossibilitado de germinar ao entrar em contato com o óleo essencial, desempenhando importante papel no processo patogênico.

Os óleos essenciais de *Citrus* estão presentes nos frutos em grandes quantidades. *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc. e *Penicillium italicum* Whem, que são patógenos nocivos na pós-colheita dos frutos cítricos, infectam os frutos com ocorrência de pequenas manchas na casca durante a colheita e processamento. Lesões na casca podem

acarretar o rompimento das glândulas, provocando evasão dos os óleos essenciais e favorecendo o crescimento dos patógenos.

Estudos realizados por Caccioni et al. (1998), com óleos essenciais de *Citrus sinensis, Citrus aurantium, Citrus deliciosa, Citrus paradisi, Citrus limon e* híbridos Citrang*e* no controle dos fungos de pós-colheita *Penicillium italicum* e P. *digitatum*, mostraram que existem respostas variáveis entre os óleos dessas espécies, sendo que os de citrange (Carrizo e Troyer) e o de limão (Femminelo), foram os que apresentaram maior eficiência. Embora o limoneno seja o principal componente dos citros, variando de 60,20 a 95,29%, não houve correlação positiva entre quantidade de limoneno e inibição do fungo, e sim na quantidade de monoterpenos. Os óleos de *Citrus sinensis* foram os que apresentaram menor eficiência.

2.3.4 *Cymbopogon citratus* Staph

O capim limão, espécie pertencente à família Poaceae, é originário da Índia e bastante difundido no Brasil, pelo seu uso na medicina popular e no plantio em curvas de nível e cordões de contorno para prevenção da erosão.

A aplicação do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (capim limão) como opção no controle fitossanitário vem sendo estudada em vários trabalhos. Onawunmi; Ogunlana (1986), estudando em laboratório o uso do óleo como bactericida, observaram que é eficiente na inibição das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Devi et al. (1982) observaram efeito letal no desenvolvimento micelial de *Rhizoctonia solani*, e quando utilizaram doses de 0,4% de concentração de óleo em *C. flexuosus*, a germinação de esclerócios foi completamente inibida.

Pauli; Knobloch (1987) e Mishra; Dubey (1994) demonstraram que o *C. citratus* tem propriedades antifúngicas e bactericidas, juntamente com o *Thymus vulgaris*, e é comumente usado para temperos de alimentos. Mishra; Dubey (1994), avaliando o efeito do óleo essencial de *C. citratus* contra o crescimento micelial de *Fusarium moniliforme, Aspergillus flavus e Aspergifllus fumigatus*, observaram a

efetividade contra germinação conidial e crescimento radial dos três fungos, nas concentrações de 800, 1000 e 1200 ppm.

Nguefack et al. (2004) avaliando o efeito do óleo essencial do *C. citratus* no crescimento micelial de fungos "in vitro", observaram que o óleo reduziu em 64% o desenvolvimento de *F. moniliforme* na concentração de 200 ppm, *A. flavus* em 48% e *A. fumigatus* em 77% na concentração de 500 ppm. O controle total ocorreu a 300 ppm para *F. moniliforme* e 1200 ppm para *A. flavus* e *A. fumigatus.*

Cimanga et al. (2002) estudando a composição química e a atividade antibacteriana dos óleos essenciais de algumas plantas medicinais aromáticas que se desenvolvem na Republica Democrática do Congo, verificaram que a concentração do óleo de *Cympobogon citratus* foi de 0,3%, e que os metabólitos secundários encontrados em maiores quantidades foram o gerenial (32,7%), nerol (12,5%), neryl acetate (6,3%), borneol (3,7%), limoneno (3,1%), mirceno, (3,5%), a-pineno (1,1%), camphene (0,9%), aromandendrene (0,6%), terpin-4-ol (0,5%), eugenol (0,3%), citronellal (0.2%), linalool (0,2%), 1,8-Cineole (0,2%) e geranyl acetate (0,1%), e foi constatado que o óleo foi efetivo no controle das bactérias *Citrobacter diversus* 1, e mostrou-se eficiente no controle de 77% de 22 bactérias avaliadas.

Singh et al. (1980), avaliando o óleo essencial de *C. martini, C. oliveri, C. citratus, Trachyspermun ammi* e *Ocimum kelmandescherium,* na concentração de 1%, encontraram eficiência contra o fungo *Helminthosporium oryzae,* e até mais promissor que alguns fungicidas sintéticos recomendados.

Adegoke; Adesola (1996), também observaram o efeito do óleo essencial de *C. citratus*, sobre os fungos *A . flavus, A . fumigatus, Macrophomina phaseoli, Penicillium,* e algumas bactérias *(Escherichia coli, Pseudomonas aeruginos, Pseudomonas fluorescens, Bacillus subtilis e Staphylococcus aureus),* agentes de biodeterioração de milho e caupi armazenados. Baratta et al. (1988) obtiveram as mesmas respostas.

Shukla et al. (1985) trabalhando com óleos essenciais de *Carum copticum* e *Cymbopogon citratus,* em batata, observaram que houve redução em 100% de efetividade dos vírus "X" e "Y" da batata, na diluição de 4:1.000.

Trabalhos com aplicação de extrato de *C. citratus*, em pós-colheita de repolho, mostram o controle total da podridão mole causada pela *Erwinia carotovora* pv.

carotovora (ACEDO et al.,1999).

Sweelam (1990), aplicando exudatos de “marigold” (*Tagetes erecta), C. citratus* e *Aloe arborecens* em tomate no controle do nematóide *Meloidogyne javanica*, verificou que aos 60 dias após a inoculação, a população foi reduzida para 69,5; 64,8 e 55,4%, respectivamente, bem próximo dos resultados conseguidos com o inseticida sintético fenamiphós que proporcionou um controle de 87,9%.

Estudando o controle de doenças pós-colheita em mamão, Palhano et al. (2004) afirmam que o controle do *Colletotrichum gloeosporioides* é eficiente com alta pressão hidrostática a 350 MPa por 30 minutos; com a aplicação de 0,75 mg/L de citral e óleo essencial de capim limão, a pressão hidrostática foi reduzida para 150 MPa por 30 minutos.

2.3.5 *Cymbopogon Martini* Staph

A palma-rosa, uma espécie da família Lamiaceae, tem como origem a Índia e é muito conhecida por seu emprego na medicina popular e pela importância do seu óleo essencial no comércio mundial por ter ação antifúngica, e o geraniol o principio ativo responsável por esta (BARD et al.,1988). Segundo Delespaul et al. (2000), esse óleo tem ação fungistática contra *Aspergillus niger, Chaetomium globosum e Penicillium funiculosum.*

Segundo Sahoo & Dutta (1982), o geraniol como componente mais importante do *C. martinii* var. *moita*, pode variar de 38 a 97% de concentração, de acordo com as seleções varietais que ocorrem dentro da variedade.

Verificando a ação do óleo essencial de palma-rosa contra três espécies de *Aspergillus* (*A . flavus, A . fumigatus e A . parasiticus*), nas doses de 3.000, 2.000 e 900 ppm, respectivamente, Misra et al. (1988) observaram um efeito fungitóxico sobre todas as espécies, e investigando os componentes químicos do óleo essencial, descobriram que o geraniol é o maior constituinte.

Prashar et al. (2003), estudando o óleo essencial de *C. martini* em *Saccharomyces cerevisiae,* observaram que a concentração de 0,1% do produto promoveu

totalmente o crescimento da levedura. Analisando a composição verificaram que continha 65% de geraniol e 20% de acetato de geranyl.

2.3.6 *Melaleuca alternifolia* Cheel.

A “tea tree”, espécie pertencente à família Myrtaceae, nativa da Austrália, é uma tradicional planta medicinal utilizada pelos aborígines daquele continente.

O óleo essencial de “tea tree” é conhecido como um dos mais importantes antissépticos naturais no combate a bactérias e fungos, e usado em dores agudas, picadas, queimaduras, feridas e uma série de infecções.

Ponce et al. (2003), analisando o poder antimicrobiano do óleo essencial da *Melaleuca alternifolia* constataram que a concentração de 0,05 – 0,08 mL/100 mL, foi o suficiente para inibição do crescimento de bactérias pelo método mínimo de concentração.

Trabalhos com óleos essenciais no controle de estirpes de *E. coli*, executados por Moreira et al. (2005) mostram que o óleo de “tea tree” apresentou média eficiência na inibição da bactéria, necessitando de 0,5 a 0,6 mL/100mL.

2.3.7 *Mentha piperita* L.

A menta ou hortelã-pimenta, espécie pertencente à família Lamiaceae, tem como origem a Europa, na região do Mediterrâneo. É tida como um híbrido das espécies *Mentha spicata* L., *M. aquatica* L., *M. longifolia* Huds. e *M. rotundifolia* Huds. O óleo essencial da planta é empregado na indústria farmacêutica, no tratamento de problemas gastrintestinais e respiratórios, em produtos de higiene bucal, como flavorizante, aditivo em alimentos, carminativa, eupéptica, espasmolitico e apresenta ação microbiana (SIMÕES; SPITZER, 2000).

Tassou et al. (2000), avaliando o efeito de diferentes concentrações de óleo essencial de menta *(M. piperita*) no crescimento e sobrevivência das bactérias *Salmonella enteritidis* e *Staphylococcus aureus* no caldo de nutrientes, usando de

método de cálculo de viabilidade e medida de condutância, verificam que o óleo essencial de menta a 1,2% reduz a viabilidade total das duas bactérias.

Rech et al. (2000) analisando a composição química do óleo essencial de *M. piperita* cultivada em Caxias do Sul-RS, Montevideu-Uruguai, Campinas-SP e Cuneo-Italia, verificaram que os principais componentes, em quantidades, são mentol com concentração de 44,9, 46,6; 29,6; 42,6%, a mentona 20,6; 29,4; 11,8 e 26,2%, o mentofurano 3,5; 2,4, 19,8, 4,4 e o acetato de metila com 2,3, 2,4, 16,1 e 1,7, mostrando uma variação de conteúdo por local de origem dos materiais, mas com grande discrepância no conteúdo de componentes para a menta cultivada em Campinas.

Singh et al. (1993) demonstraram "in vitro" o efeito fungicida e fungistático do óleo essencial de menta sobre 23 espécies de microorganismos, entre elas *Alternaria* sp, *Curvalaria lunata, Fusarium moniliforme, F. solani* e *Rhizoctonia bataticola;* os autores usaram concentrações que variam de 500 a 10.000 mg/mL de óleo de menta nos respectivos meios de cultura, e observaram inibição de 100% do crescimento micelial, a partir de 2.000 mg/mL.

Em estudos feitos com 11 óleos essenciais de espécies aromáticas para inibição da bactéria *Bacillus cereus* em cenoura processada, o óleo de canela foi o mais eficiente, na dosagem de 5 uL/100m l caldo de cenoura, sendo que o alecrim foi eficiente na dose de 35, menta 50, cravo 35, sassafrás 40 (VALERO; SALMERÓN, 2003).

2.3.8 *Piper hispidinervium* (C.DC.)

A espécie *Piper hispidinervium*, conhecida como pimenta longa, espécie da família Piperaceae, de ocorrência no estado do Acre, desenvolve-se em áreas degradadas onde algumas populações apresentam o óleo essencial safrol, de grande utilidade nas indústrias, sendo a principal espécie com potencial para substituir o sassafrás, espécie em extinção, que por muito tempo foi a principal opção como fonte de safrol no sul do Brasil.

Segundo Maia et al. (1987), a pimenta longa produz de 3 a 4% de óleo essencial, do qual o safrol é o principal composto com 90 a 94%, e é utilizado como agente de fragrância e sinergismo com inseticidas e herbicidas biodegradáveis.

2.3.9 *Rosmarinus officinalis* L.

O alecrim, planta da família Labiatae, originária do litoral dos países em volta do Mar Mediterrâneo, é muito utilizada como medicinal e principalmente aromática. Testes feitos com o óleo essencial de alecrim (0,5%) em meio BHI Agar promoveu a inibição do crescimento da *Listeria monocytogenes*, e foi constatado que somente o α-pineno tem efeito antilisterial. A adição de 1% de óleo essencial de alecrim em lingüiça, carne de porco ou fígado antes do cozimento, atrasa o crescimento listerial quando armazenados sob refrigeração (PANDIT; SHELEF, 1994)

Trabalhos com óleos essenciais no controle de estirpes de *E. coli*, executados por Moreira et al. (2005) concluíram que o óleo de alecrim apresentou baixa eficiência na inibição da bactéria, necessitando de 0,6 a 0,7 mL/100mL, quando comparado com o óleo de cravo que apresentou a melhor eficiência a 0,25 a 0,30 mL/100mL.

Em estudos realizados com óleo essencial de alecrim no controle de *Botrytis cinerea, Fusarium solani* var. *coeruleum* e *Clavibacter michiganensis* subsp.*michiganensis* "in vitro", Daferera et al. (2003), verificaram que nas concentrações estudadas não houve bom desempenho na inibição desses microorganismos, pois só a partir de 606 e 668 μg/mL ocorreu redução de 50% do crescimento micelial dos fungos *B. cineria* e *Fusarium*, respectivamente. Eucaliptol (31,5%) e borneol (14.2%) foram os componentes encontrados em maior concentração no óleo.

2.3.10 *Syzygium aromaticum* Merril et Perry

O cravo, da família Myrtaceae, originária da Malásia, sempre foi valorizado no mercado das especiarias, e algumas referências afirmam ser conhecida na Europa e Egito desde século IV a.C. A principal utilização do cravo é como especiaria, na culinária ou na indústria alimentícia com aromatizante de molhos e outros produtos. Na Indonésia o maior consumo do cravo é na confecção de cigarros e é tão elevado que o país não é auto-suficiente. Um subproduto do cravo, de grande importância no mercado é o óleo essencial, sendo o eugenol como principal componente, muito valorizado na indústria

farmacêutica e perfumaria. Segundo Formácase e Kubecza, citados por Mendes Ferrão (1993), o eugenol representa 84,4% dos componentes do óleo essencial.

Analisando o poder antimicrobiano do óleo essencial do *Syzygium aromaticum,* Ponce et al. (2003), constataram que a concentração de 0,04 a 0,05 mL/100 mL, foi suficiente para inibição do crescimento de bactérias pelo método mínimo de concentração.

Souza et al. (2004), trabalhando com óleo essencial de *Syzygium aromaticum,* nas concentrações de 200; 400; 600 e 800 µg/mL., para inibição de *Rhizopus* sp.; *Penicillium* spp., *Eurotium repens* e *Aspergillus nige*r, isolados de pães envelhecidos, observaram que o óleo essencial da canela inibiu completamente o desenvolvimento dos fungos a partir da primeira concentração.

Óleo essencial de cravo a 250 µg/mL foi inibidor do desenvolvimento e da produção de toxina de *Aspergillus parasiticu*s, ao passo que o eugenol, principal constituinte desse óleo essencial, apresentou efeito inibidor a 125 µg/mL, segundo Bullerman et al. (1977).

Em investigações feitas com 11 óleos essenciais de espécies aromáticas para inibição da bactéria *Bacillus cereus* em cenoura processada, o óleo de canela foi o mais eficiente, na dosagem de 5 µL/100mL em caldo de cenoura, sendo que o alecrim foi eficiente na dose de 35µL/100mL, menta 50µL/100mL, cravo 35µL/100mL, sassafrás 40µL/100mL (VALERO; SALMERÓN, 2003).

Trabalhos com óleos essenciais no controle de estirpes de *E. coli*, executados por Moreira et al. (2005) mostram que o óleo de cravo apresentou alta eficiência na inibição da bactéria, necessitando de 0,25 a 0,03 mL/100mL.

O carvacrol, outro componente metabólito secundário do óleo essencial de cravo tem sido investigado por seu efeito bactericida mostrando evidência significativa de função antioxidante (SCHAUENBERG; PARIS,1977).

Assim, a literatura citada demonstra que há várias possibilidades do uso de óleos no controle fitossanitário.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de execução

O presente trabalho foi desenvolvido na Fazenda Experimental Lageado, no Departamento de Produção Vegetal, Setores de Defesa Fitossanitária, e de Horticultura, Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, localizada no município de Botucatu, Estado de São Paulo.

3.2 Obtenção e manutenção de isolados

O fungo utilizado no trabalho foi obtido de tomateiro com sintomas de pinta preta, em propriedades rurais no município de Botucatu-SP, e isolado no laboratório de Micologia e Fitopatologia Florestal do Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômicas/UNESP/Botucatu-SP. As características morfológicas dos conídios e sua disposição permitiram concluir que se tratava de *Alternaria solani.*

3.3 Obtenção de conídios

A metodologia utilizada para a obtenção de conídios de *A. solani*, para os experimentos, foi a mesma adotada por Töfoli; Kurozawa (1993), com cultivo do isolado em placas contendo meio de cultura V8 (200 mL), de suco V8 Campbell, 4 g de $CaCO_3$, 12 g de ágar e água destilada para completar 1000 mL, por 7 a 10 dias no escuro a 25°C. Outra metodologia utilizada para obtenção de conídio foi a desenvolvida por Shahin; Shepard (1979), com o cultivo do isolado em placas de Petri contendo o meio de cultura 40 g de $CaCO_3$, 20 g de Agar e 20 g de sacarose e água destilada para completar 1000 mL. As placas foram mantidas por 72 horas em BOD à temperatura de 18º C na ausência de luz, depois submetidas à raspagem do micélio com auxílio de pincel e água destilados estéreis, e repetidos a cada 24 horas.

3.4 Óleos essenciais e sua composição

Foram utilizados os óleos essenciais das seguintes espécies: *Cymbopogon citratus* (capim limão), *Eucaliptus citriodora* (eucalipto), *Piper spidinervium* (pimenta longa), *Cymbopogon martini* (palma-rosa), *Rosmarinus officinalis* (alecrim), *Syzygium aromaticum* (cravo), *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Mentha piperita* (menta), *Citrus limonum* (limão), *Citrus sinensis* var. *dulcis* (laranja doce) e *Melaleuca alternifolia* (“tea tree”), todos adquiridos na Bioessência Produtos Naturais Ltda, localizada no município de Barra Bonita – SP.

As caracterizações fitoquímicas dos óleos essenciais foram realizadas no Centro de Genética, Biologia Molecular e Fitoquímica do Instituto Agronômico de Campinas, em Campinas - SP.

A análise foi realizada em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM), marca Shimazdu modelo QP-5000 dotado de coluna capilar DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm), gás de arraste Hélio (fluxo 1,0 mL/min.), injetor a 240ºC e detector a 230ºC na seguinte programação: 50ºC(5’) – até 160ºC, 3ºC por

minuto; 160ºC – 220ºC, 10ºC por minuto, split 1/35. A diluição utilizada foi de 2 mg de óleo em 1 mL de Acetato de etila e injetado 1 μL. Para a identificação das substâncias comparou-se os resultados obtidos com o banco de dados do sistema CG-EM (Nist. 62 Libr.) e literatura (MCLAFFERTY et al., 1989), determinando-se o Índice de Retenção de Kovats, comparando os mesmos com os da literatura (ADAMS, 1995).

Os óleos essenciais foram submetidos à avaliação contra o fungo *A. solani* seguindo as etapas:

- Avaliação "in vitro" do efeito dos óleos e suas concentrações na inibição do crescimento micelial e inibição da germinação dos conídios. Este procedimento é muito prático, rápido, de baixo custo e pode avaliar maior quantidade de tipos de óleos, se comparado ao teste em plantas cultivadas em ambiente aberto, onde as condições são totalmente instáveis.

- Os óleos essenciais utilizados para testes contra *A. solani* em tomateiro cultivado em ambiente protegido foram aqueles que apresentaram efeitos inibitórios nas condições de laboratórios.

- Para avaliação dos óleos no controle da *A. solani* em tomateiro cultivado a campo, foram escolhidos aqueles que apresentaram efeitos positivos nas menores concentrações, com menores preços, encontrados em abundância no mercado regional, e os óleos originários de espécies cujos metabólitos secundários eram diferentes.

3.5 Avaliação "in vitro" do crescimento micelial do isolado de *A. solani* sob ação dos óleos essenciais

O experimento foi realizado no período de 30 de outubro a 09 de novembro de 2003 no Laboratório de Patologia Florestal do Setor de Defesa Fitossanitária do Departamento de Produção Vegetal. Foram utilizados os óleos essenciais das seguintes espécies: *Cymbopogon citratus* (capim limão), *Eucaliptus citriodora* (eucalipto), *Piper spidinervium* (pimenta longa), *Cymbopogon martini* (palma-rosa), *Rosmarinus officinalis* (alecrim), *Syzygium aromaticum* (cravo), *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Mentha piperita* (menta), *Citrus limonum* (limão), *Citrus sinensis* var. *dulcis* (laranja doce) e *Melaleuca alternifolia* ("tea tree"), nas concentrações de 0, 250, 500, 750, 1000 e 5000

$\mu L/L^{-1}$. Os óleos de *Melaleuca alternifolia*, *Mentha piperita* e *Eucaliptus citriodora* foram avaliados nas concentrações de 0, 1000, 2000, 3000, 4000 e 5000 $\mu L/L^{-1}$. Cada óleo foi misturado com o detergente Twin 80 na proporção de 1:1 e adicionados ao meio de cultura BDA, após autoclavagem e antes de vertê-lo em placas (9 cm de diâmetro). A repicagem para o meio BDA, contendo os tratamentos, foi feita pela retirada de discos de 0,5 cm de diâmetro do isolado dos bordos de colônias com 7 dias de idade e transferidos para o centro das placas. Após as repicagens, as placas foram mantidas em câmara tipo BOD, em ambiente escuro, à temperatura de 25º C por 8 a 10 dias.

A avaliação foi realizada por medição diária dos diâmetros (mm) das colônias em dois sentidos perpendiculares entre si, tomando-se como valor de crescimento a média das duas medidas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 11 x 5, ou seja, 11 óleos, 5 concentrações e 5 repetições, sendo cada repetição representada por uma placa. Os resultados foram submetidos ao teste de paralelismo e de intercepto, contrastados pelo teste de média de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade.

3.6 Avaliação "in vitro" da germinação de conídios de isolado de *Alternaria solani* sob ação de óleos essenciais

O experimento foi realizado no período de 11 a 13 de dezembro de 2003, no Laboratório de Micologia e Patologia Florestal do Setor de Defesa Vegetal do Departamento de Produção Vegetal.

Os testes "in vitro" da ação de óleos essenciais de plantas sobre a germinação de conídios de isolados de *A. solani* ocorreram em meio agar a 2% em água, nas concentrações de 0, 250, 500, 750, 1000 $\mu L/L$ dos óleos essenciais de *C. citratus* (capim limão), *C. martini* (palma-rosa), *S. aromaticum* (cravo), *C. zeylanicum* (canela) e *E. citriodora* (eucalipto). Os óleos foram incorporados após autoclavagem antes de vertê-los sobre a lâmina de vidro dentro de placas, com o auxilio de uma pipeta. Após a gelatinização dos meios, as laminas receberam a deposição de 10 μL de uma suspensão contendo 10^3 conídios/μL de *A. solani*. As placas foram mantidas em câmara tipo BOD por 24 horas a 25^o C e ausência de luz, e avaliados em microscópio ótico, quanto à inibição da germinação

dos conídios. Foram considerados conídios germinados aqueles que apresentaram tubos germinativos superiores ao comprimento do conídio analisado (NEELY, 1978). O delineamento foi o inteiramente casualizado em fatorial 5 x 5, sendo 5 óleos e 5 concentrações, com 3 repetições. Os dados foram transformados em porcentagem de inibição da germinação de conídios, submetidos à análise de variância e ao teste de médias Scott-Knott a 5 % de probabilidade.

3.7 Controle de *Alternaria solani* em tomateiro em ambiente protegido com uso de óleos essenciais

O experimento foi realizado no Setor de Defesa Vegetal do Departamento de Produção Vegetal.

Em condições de casa telada com cobertura plástica, a cultivar Santa Clara de tomateiro foi semeada em 20 de janeiro de 2004, em bandejas de isopor com 128 células contendo substratos indicados para tomate, e conduzidos com irrigações diárias. No dia 09 de fevereiro foram transplantadas duas mudas por vaso com capacidade de 6 litros contendo terra, areia e substrato Biomega, na proporção de 1:1:1, e mais 10 kg do adubo fórmula 4-14-08 por m^3. As plantas foram conduzidas na casa telada e a irrigação foi feita por aspersão com 5 mm de lâmina de água diariamente, e a adubação de cobertura com 3g de N, semanalmente. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x4, sendo 5 espécies (*C. citratus*, *E. citriodora*, *C. martini*, *S. aromaticum*, *C. zeylanicum)* em 4 concentrações (0, 500, 750 1000 $\mu L.L^{-1}$), com exceção para o *E. citriodora* que foi de 0, 750, 1000 e 5000 $\mu L.L^{-1}$, com 6 repetições por tratamento. Para que houvesse perfeita mistura do óleo com a água, primeiro foi misturado com o detergente Twin 80 na proporção de 1:1. Os óleos essenciais foram aplicados sistematicamente de 3 em 3 dias, pelo método de pulverização utilizando pulverizador costal manual, protegendo as parcelas com plástico no momento da aplicação. Um dia antes do início da aplicação dos óleos essenciais as plantas foram inoculadas com uma suspensão de 10^4 conídios/µL de *A. solani*, e repetida por duas vezes em dias seguidos.

As avaliações foram feitas aos 57 dias do transplantio. Os dados coletados foram número de folhas e de folíolos, transformados em porcentagem e analisados por variância, e a comparação das médias pelo teste de Scott-Knott a 5%.

3.8 Controle de *Alternaria solani* em tomateiro cultivado a campo com uso de óleos essenciais

O experimento foi realizado no Setor de Horticultura do Departamento de Produção Vegetal.

As mudas de tomateiro (cv. Rio Grande, crescimento determinado) foram produzidas em bandejas de isopor com 128 células contendo substratos indicados para tomate, em casa-de-vegetação, com semeio em 17 de setembro de 2004, e 30 dias após as mudas foram transplantadas para o campo. Para efeito de adubação, amostra de solo para análise foi coletada na camada de 0 a 20 cm profundidade na área, antes da instalação do experimento, e submetida à análise físico-química, no Laboratório de Fertilidade do Solo da Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu (Tabela 8). A adubação de plantio foi feita com 400 g de esterco de gado curtido e 30 g da fórmula 4-14-08, por cova. A irrigação foi feita por aspersão, quando foi necessário uma vez que o experimento foi conduzido na época das chuvas e calor, conforme verificado na Tabela 9 (precipitação, temperaturas máximas e mínimas, e umidade relativa do ar). O delineamento foi em blocos ao acaso, em fatorial 5 x 2 x 4, com óleos de 3 espécies (*C. citratus*, *C. zeylanicum*, *E. citriodora* e o fungicida tiofanato metílico + chlorothalonil (TM+C) 2000 $\mu L/L^{-1}$), 2 intervalos (3 e 6 dias) de aplicações e 4 concentrações (0, 1000, 3000 e 5000 $\mu L/L^{-1}$ e 0, 3000, 5000 e 7000 $\mu L/L^{-1}$ para *E. citriodora*), com 4 repetições, com 12 plantas por parcela e 4 plantas úteis. Após 8 dias de transplante as plantas foram pulverizadas com os óleos nas devidas concentrações de 3 em 3 dias, e de 6 em 6 dias. Para homogeneizar com a água, os óleos essenciais foram misturados com o detergente Twin 80 na proporção de 1:1 e aplicados por pulverização utilizando pulverizador costal manual. Um dia antes do início da aplicação dos óleos essenciais, as plantas foram inoculadas com uma suspensão de 10^4 conídios/mL de *A. solani* , por 3 vezes, de dois em dois dias por pulverizador costal na planta toda.

No experimento foram adotados todos os tratos culturais recomendados (capinas, adubações, manejo de pragas, etc.) para o cultivo do tomateiro rasteiro. Os dados coletados em 4 de janeiro de 2005 foram de produção total de frutos, porcentagem de frutos comerciais e índice de doenças. Para índice de doenças foi feita avaliação visual e atribuindo notas de 1 para plantas sem sintomas e até 10 para plantas completamente atacada pela pinta preta. Os dados foram submetidos à análise de variância e contrastados pelo teste de Scott-Knott a 5%.

3.9 Vida útil pós-colheita de frutos de tomateiro cultivado a campo com uso de óleos essenciais para controle de *Alternaria solani*

O experimento foi realizado entre os dias 10 e 30 de janeiro de 2005, no Setor de Horticultura do Departamento de Produção Vegetal.

De cada tratamento do experimento anterior (3.7), foram colhidos os frutos comerciais e selecionados uniformemente pela cor (na mudança de cor verde para vermelha) e colocados em bandeja de isopor, contendo 6 frutos em cada bandeja, armazenados à temperatura ambiente, variando entre médias mínimas de 23º C e médias máximas de 28º C no período. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 11 x 2, onde foram considerados como tratamentos, os óleos de *C. citratus* e *C. zeylanicum* concentrações (1000, 3000 e 5000 $\mu L/L^{-1}$), *E. citriodora* (3000, 5000 e 7000 $\mu L/L^{-1}$), o fungicida tiofanato metílico + chlorothalonil (TM+C) (2000 $\mu L/L^{-1}$) e a testemunha sem aplicação de produtos, com 2 intervalos (3 e 6 dias) de aplicações e 3 repetições . As leituras foram feitas aos 5, 10, 15 e 20 dias observando-se o estado de conservação dos frutos, descartando-se os deteriorados, murchos e atacados por doenças.

Os dados foram submetidos à análise de variância e contrastados pelo teste de Scott-Knott a 5%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Óleos essenciais e sua composição

Na avaliação da composição dos 11 óleos essenciais em estudo, conforme Tabela 1, pode-se verificar que as espécies contêm números variáveis de constituintes, com alguns óleos apresentando número mínimo de substâncias, como ocorreu com o *Citrus sinensis* var. *dulcis*, 3 componentes, *Cymbopogon martini*, 5 componentes, *Syzygium aramaticum* 5 componentes e outros óleos com maior quantidade de substâncias, como nas espécies *Melaleuca alternifolia*,17 componentes, *Cinnamomum zeylanicum*, 18 componentes e *Mentha piperita* com 20 componentes. Observa-se que apesar da quantidade variável das substâncias, sempre uma ou duas prevalecem em maior quantidade nos óleos essenciais. Esses resultados conferem com os citados por Simões et al. (1999); Simões; Spitzer (2000) e Doran; Brophy, (1990), quando comentam que nos óleos essenciais ocorre sempre um ou mais composto majoritário, e outros em menores quantidades.

Tabela 1. Resultados das análises dos óleos essenciais. Botucatu-SP. 2003							
Espécie	**Picos**	**Substâncias**	**(%)**	**Espécie**	**Picos**	**Substâncias**	**(%)**
Rosmarinus officinalis	*1*	*alfa-pineno*	*22.23*	*Eucalyptus citriodora*	1	alfa-pineno	0.45
	2	canfeno	10.63		2	beta-pineno	0.68
	3	beta-pineno	4.76		3	limoneno	0.33
	4	3-octanona	0.44		4	1,8-cineol	1.51
	5	mirceno	2.39		7	isopulegol	5.18
	6	orto-cimeno	1.87		8	citronelal	74.74
	7	limoneno	5.51		9	isso-isopulegol	4.33
	8	1,8-cineol	25.51		11	citronelol	6.26
	9	linalol	0.92		12	geraniol	2.96
	11	cânfora	18.64		13	acetato de citronelila	1.24
	12	borneol	2.48		14	acetato de geranila	0.28
	13	Alfa-terpineol	1.40		15	trans-cariofileno	0.72
	14	acetato de bornila	1.80		**Total**		**98.68**
	15	trans-cariofileno	1.15	*Melaleuca alternifolia*	1	alfa-pineno	2.32
	Total		**99.73**		2	sabineno	0.41
Syzygium aramaticum	1	eugenol	82.55		3	beta-pineno	0.80
	2	Alfa-copaeno	0.59		4	mirceno	0.82
	3	trans-cariofileno	11.98		5	delta-3-careno	0.34
	4	Alfa-humuleno	1.74		6	alfa-terpineno	7.51
	5	acetato de eugenila	3.13		7	orto-cimeno	4.38
	Total		**99.99**		8	limoneno	1.69
Cymbopogon citratus	1	canfeno	1.02		9	1,8-cineol	5.25
	2	6-metil-5-hepten-2-ona	1.28		10	gama-terpineno	18.16
	3	linalol	0.82		11	terpinoleno	2.84
	4	citronelal	0.25		12	4-terpineol	46.74
	5	isomentol	1.81		13	alfa-terpineol	3.43
	6	nerol	0.45		14	trans-cariofileno	0.37
	7	neral	34.34		15	aromadendreno	1.00
	8	geraniol	3.52		16	alfa-selineno	1.27
	9	geranial	46.91		17	gama-cadineno	0.99
	10	acetato de geranila	6.30		**Total**		**98.32**
	11	alfa-trans-bergamoteno	0.85				
	Total		**97.55**				

Continuação.....

Continuação.....**Tabela 1.** Resultados das análises dos óleos essenciais. Botucatu-SP. 2003							
Espécie	**Picos**	**Substâncias**	**(%)**	**Espécie**	**Picos**	**Substâncias**	**(%)**
Cymbopogon martini	1	trans-ocimeno	1.45	*Citrus sinensis* var. *dulcis*	1	alfa-pineno	0.52
	2	geraniol	86.98		2	mirceno	2.27
	3	geranial	0.41		3	limoneno	96.86
	4	acetato de geranila	9.03		**Total**		**99.65**
	5	trans-cariofileno	0.63	*Mentha piperita*	1	alfa-pineno	0.60
	Total		**98.50**		2	sabineno	0.38
Cinnamomum zeylanicum	1	alfa-pineno	1.24		3	beta-pineno	1.12
	2	canfeno	0.40		4	mirceno	0.12
	3	beta-pineno	0.47		5	3-octanol	0.25
	4	alfa-felandreno	1.32		6	ortho-cymeno	0.25
	5	orto-cimeno	1.11		7	limoneno	1.79
	6	beta-felandreno	1.10		8	1,8-cineol	7.03
	7	linalol	3.58		9	trans-beta-ocimeno	0.25
	8	alfa-terpineol	0.36		10	gamma-terpineno	0.70
	9	trans-cinalmadeído	0.77		11	mentona	22.54
	10	safrol	1.25		12	meta-acetato cresol	6.39
	11	eugenol	73.45		13	neo-mentol	2.88
	12	alfa-copaeno	0.75		14	mentol	45.18
	13	Cis-cariofileno	4.67		15	n.d.	0.72
	14	cis-acetato de cinamila	2.11		16	isomentol	0.47
	18	benzoato de benzila	2.92		17	pulegone	1.55
	Total		**95.44**		18	acetato de mentil	5.97
Citrus limon	1	tricicleno	0.33		19	trans-cariofileno	1.21
	2	alfa-pineno	1.61		20	gamma-muuroleno	0.59
	3	beta-pineno	1.75		**Total**		**98,19**
	4	mirceno	10.69	*Piper hispidinervium*	1	alfa-pineno	0.35
	5	gama-2-careno	1.98		2	mirceno	0.18
	6	para-cimeno	0.28		3	delta-3-careno	0.41
	7	limoneno	72.49		4	orto-cimeno	0.14
	8	gama-terpineno	8.06		5	limoneno	0.21
	9	terpinoleno	0.28		6	cis-ocimeno	0.35
	10	neral	0.49		7	trans-ocimeno	0.88
	11	geranial	0.89		8	terpinoleno	2.37
	12	alfa-trans-bergamoteno	0.36		9	safrol	93.85
	Total		**99.21**		10	trans-cariofileno	0.30
					11	bicliclogermocreno	0.62
					12	pentadecano	0.25
					Total		**99.91**

4.2 Avaliação "in vitro" do crescimento micelial de *Alternaria solani* sob ação dos óleos essenciais

Os óleos essenciais influenciaram de maneira diferenciada o crescimento micelial de *A. solani*, quando comparados entre si, considerando-se diferentes concentrações (Tabelas 2 e 3) e representados na Figura 1 e 2.

Nas comparações entre os óleos essenciais na concentração de 250 $\mu L/L^{-1}$, os óleos das espécies *M. alternifolia*, *Citrus limon, C. sinensis* var. *dulcis, R. officinalis* e *M. piperita* formam um primeiro grupo que menos inibiu o fungo, com valores de inibição de 12,5% inferior ao segundo grupo (*C. citratus, P. hispidinervium* e *C. martini*) e 23,6% inferior ao terceiro grupo (*E. citriodora*, *C. zeylanicum* e *S. aromaticum*), com diferenças estatísticas entre estes grupos.

Na concentração de 500 $\mu L/L^{-1}$, o óleo de *C. zeylanicum*, foi o que mais inibiu o fungo, 53% em relação aos do grupo formado por *C. martini, C. citratus* e *S. aromaticum*, 66% aos do terceiro grupo (*P. hispidinervium* e *C. sinensis* v. *dulcis*), e

Tabela 2. Coeficientes angulares do crescimento micelial de *Alternaria solani* "in vitro", sob efeito de diferentes óleos essenciais e suas concentrações. Botucatu, 2003.

	----------Concentrações *($\mu L.\ L^{-1}$)* ----------					Média
Espécies/Óleos	0	250	500	750	1000	R^2
Rosmarinus officinalis	10,47 Aa	9,29 Aa	9,63 Aa	9,59 Aa	10,02 Aa	0,94
Syzygium aromaticum	10,47 Aa	7,46 Cb	6,37 Cc	0,00 Dd	0,00 Dd	0,96
Cymbopogon citratus	10,47 Aa	8,44 Bb	6,30 Cc	0,00 Dd	0,00 Dd	0,94
Eucalyptus citriodora	10,47 Aa	7,85 Cb	10,17 Aa	9,46 Aa	9,35 Aa	0,93
Melaleuca alternifolia	10,47 Aa	10,25 Aa	10,28 Aa	8,61 Bb	6,44 Cc	0,95
Cymbopogon martini	10,47 Aa	8,86 Bb	6,00 Cc	0,00 Dd	0,00 Dd	0,96
Cinnamomum zeylanicum	10,47 Aa	7,36 Cb	2,91 Dc	0,00 Dd	0,00 Dd	0,94
Citrus limon	10,47 Aa	10,22 Aa	9,91 Aa	9,69 Aa	10,13 Aa	0,95
Mentha piperita	10,47 Aa	9,84 Aa	9,71 Aa	8,22 Bb	6,02 Cc	0,97
Citrus sinensis v. *dulcis*	10,47 Aa	9,91 Aa	8,77 Bb	9,97 Aa	9,73 Aa	0,96
Piper spidinervium	10,47 Aa	8,63 Bc	8,42 Bc	9,39 Ab	8,18 Bc	0,97
C.V. (10,80)						

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$).

70% em relação ao grupo *R. officinali,s M. piperita, C. limonum, E. citriodora* e *M. alternifolia* que se apresentaram como os menos eficientes na inibição do fungo.

Aos 750 μL/L^{-1}, o grupo dos óleos de *C. zeylanicum, C. martini, C. citratus* e *S. aromaticum* inibiu totalmente o crescimento micelial. O grupo de *M. piperita* e *M. alternifolia* tiveram 13% de eficiência em relação ao grupo de *P. hispidinervrum, E. citriodora, R. officinalis, C. limon* e *C. sinensis* var. *dulcis* que foram os menos eficientes.

Na concentração de 1000 μL/L^{-1}, o grupo dos óleos de *C. zeylanicum, C. martini, C. citratus* e *S. aromaticum* continuaram a inibir totalmente o crescimento micelial, enquanto que o grupo de *M. piperita* e *M. alternifolia,* foram 23% mais eficientes que *P. hispidinervium* e 37% mais que o grupo das espécies de *C. limon, R. officinalis, C. cinensis* var. *dulsis* e *E. citriodora* que menos inibiram o crescimento do fungo.

Na figura 1 (A a L) , os resultados estão representados em valores de coeficientes angulares, mostrando ângulos dos valores das linhas em relação ao eixo de X, como resposta do fungo *A. solani* aos óleos, pela leitura diária do crescimento micelial pelo período de 8 dias. Quanto mais os óleos inibem o crescimento micelial, mais as linhas de tendências de respostas ficam paralelas ao eixo de X, e, quando os valores de crescimento micelial for 0, as linhas de respostas estão sobrepostas ao eixo X.

Na comparação dos valores médios entre as concentrações 0 a 1000 μL/L^{-1}, dos óleos essenciais, as espécies *R. officinalis* e *C. limon, C. sinensis* var. *dulcis, E. citriodora* não inibiram o crescimento micelial, não apresentando diferença estatística significativa, com exceção de *E. citriodora* e *C. sinensis* var. *dulcis* que apresentaram diferenças nas concentrações de 250 e 500 μL/L^{-1}, respectivamente. Os dados de *P. hispidinervium* oscilaram quanto a inibição micelial entre as concentrações porém, com tendência de inibição à medida que se aproximou de 1000 μL/L^{-1}. O grupo das espécies de *M. alternifolia e M. piperita* com o mesmo comportamento de inibição micelial, com diferença significativa entre as concentrações a partir de 750 μL/L^{-1}, mas não inibiu totalmente o fungo a 1000 μL/L^{-1}. O grupo das espécies *S. aromaticum, C. citratus, C. martini,* e *C. zeylanicum* (Figura 1 B, C, D, E), que foi eficiente na inibição total

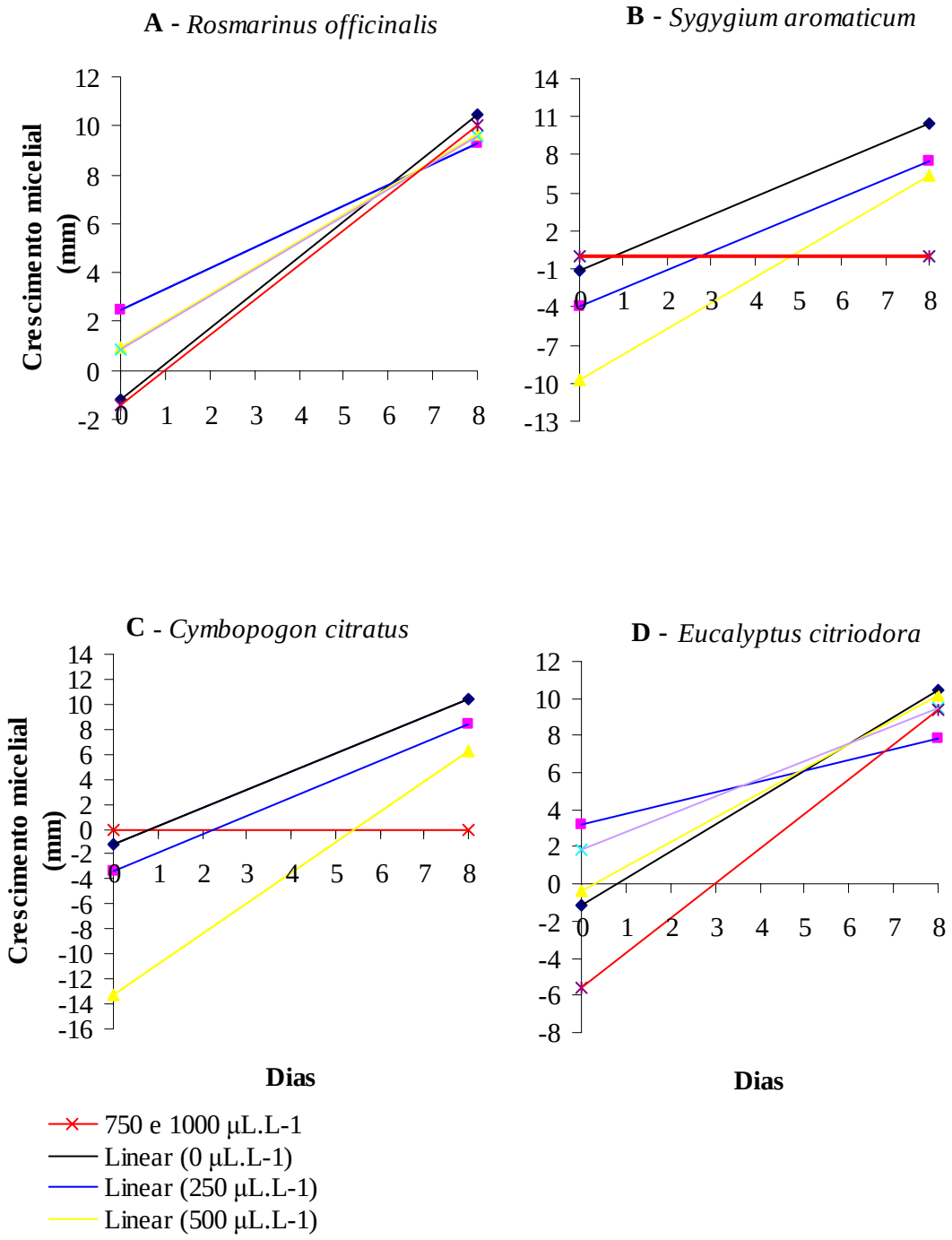
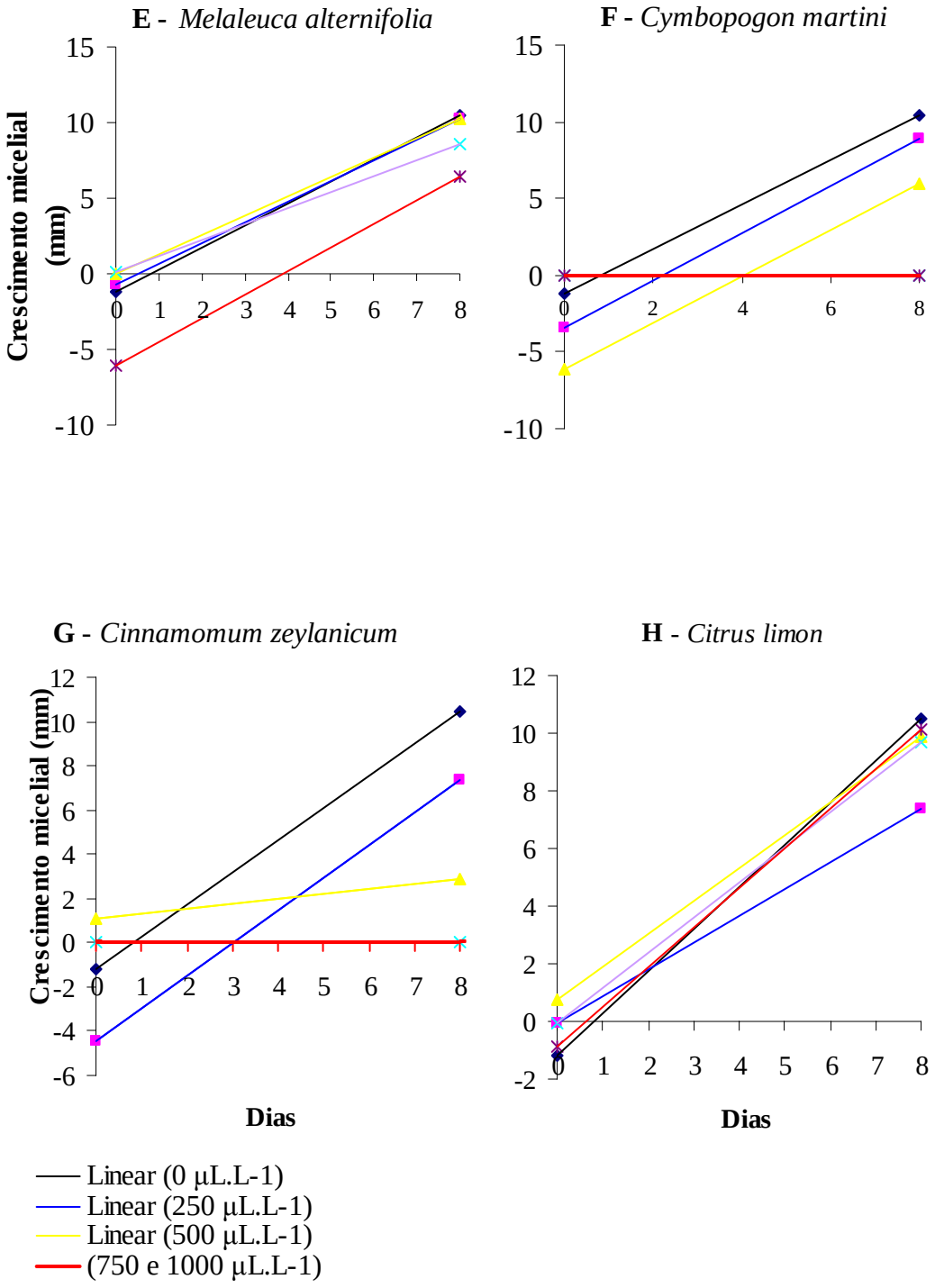


Figura 1. Coeficientes angulares para crescimento micelial de *Alternaria solani* sob efeitos de óleos essenciais. Botucatu, 2003.

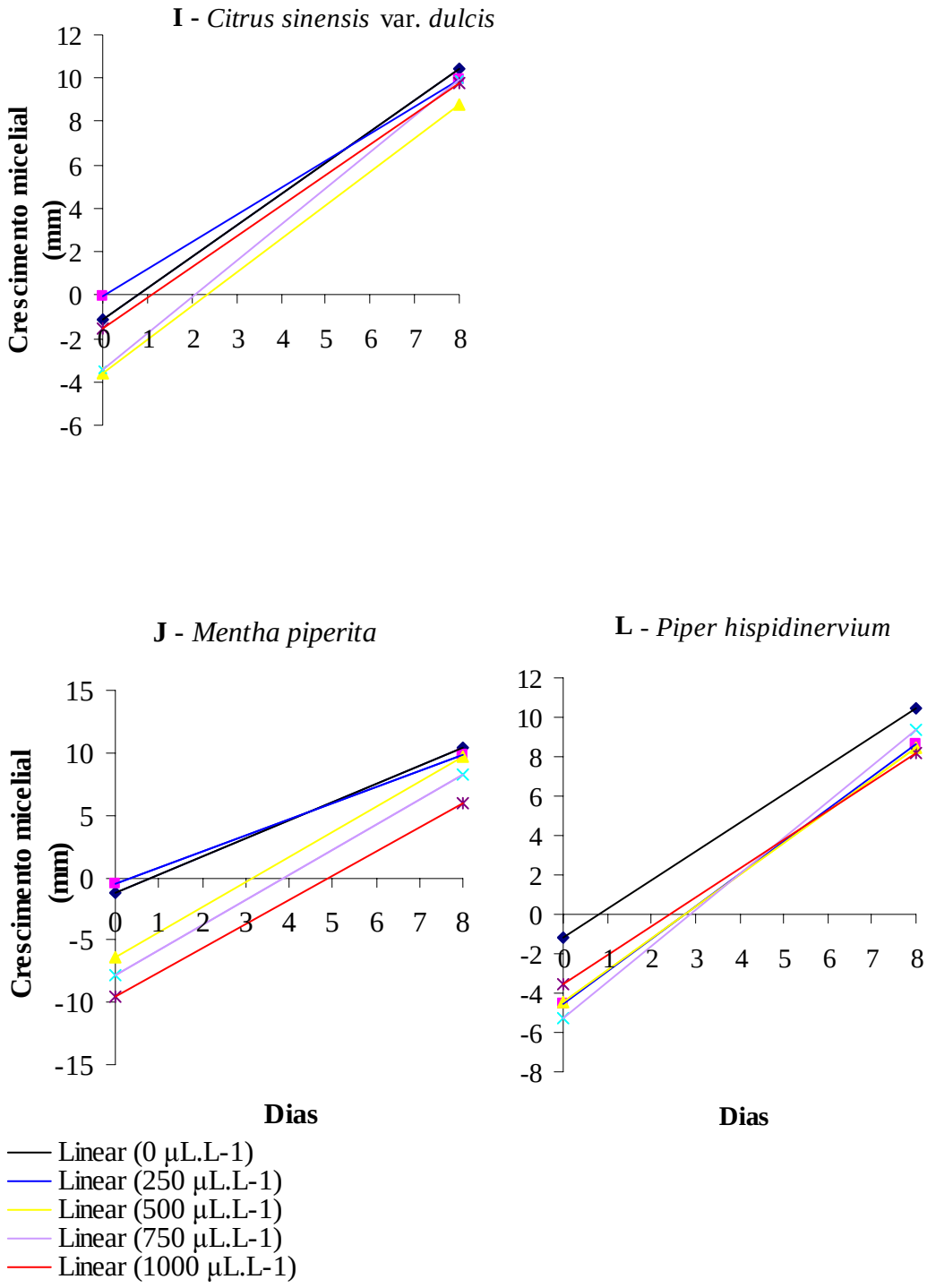
Continua.....

Figura 1. continuação.



Continua.....

Figura 1. Continuação.

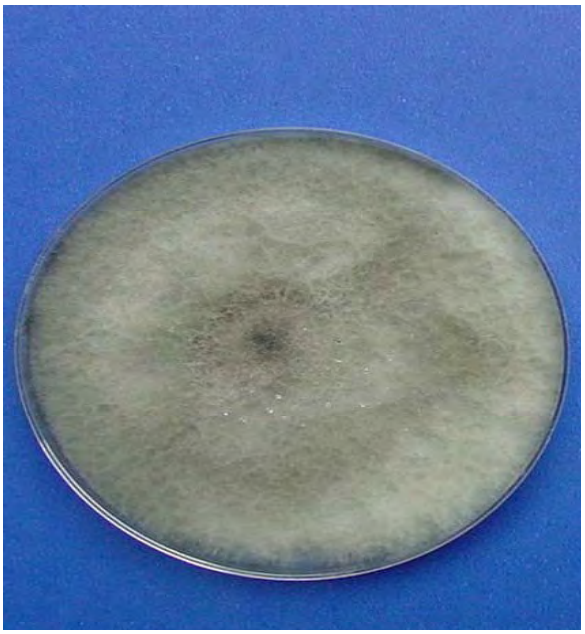


do micélio, apresentou as mesmas tendências de comportamento, à medida que se aumentou as concentrações, com diminuição do crescimento do fungo a partir de 250 μL/L^{-1}, com semelhanças de valores estatísticos e paralisação total do crescimento micelial a partir de 750 μL/L^{-1}.

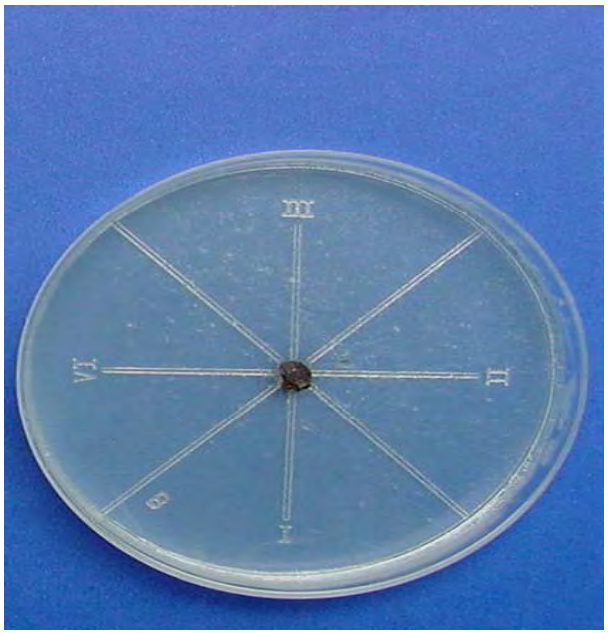
Na concentração de 1000 μL/L^{-1} os óleos *de M. piperita* e *M. alternifolia* (Tabela 3) inibiram em 66% o crescimento micelial de *A. solani* em relação ao de *E. citriodora*. Na concentração de 2000 μL/L^{-1} os óleos de *E. citriodora* e *M. alternifolia* a inibição micelial foi total, em *M. piperita* a inibição foi 40%, seguidos de 29,6% em 3000 μL/L^{-1}, 24,7% em 4000 μL/L^{-1}, e inibiu totalmente o fungo na concentração de 5000 μL/L^{-1}.

Entre concentrações para cada óleo, as três espécies apresentaram diferenças estatísticas entre 0 e 1000 μL/L^{-1}, com inibição micelial de 10,7% para *E. citriodora*, 42% para *M. piperita* e 38% para *M. alternifolia*. Já a partir da concentração de 2000 μL/L^{-1}, os óleos de *E. citriodora* e *M. alternifolia* (Figura 1 F e H) inibiram totalmente o micélio do fungo, enquanto que a *M. piperita* inibiu em 32% em relação à concentração anterior, 27% para 3000 μL/L^{-1} e 16% para 4000 μL/L^{-1}. Somente na concentração de 5000 μL/L^{-1} a *M. piperita* (Figura 1 G) inibiu totalmente o fungo.

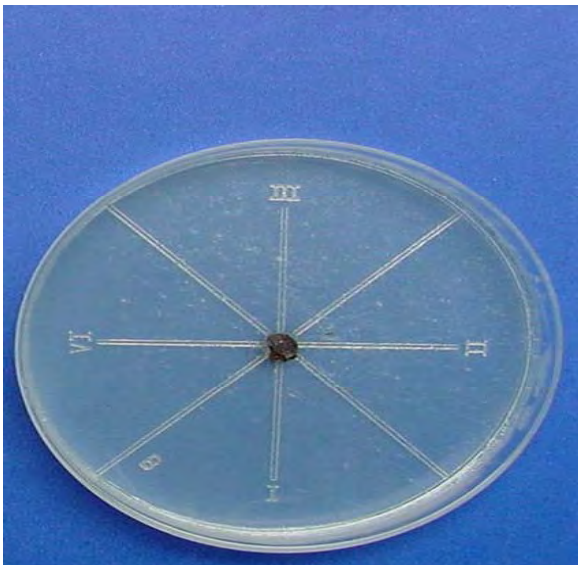
Esses resultados estão em conformidade com trabalhos de Bullerman et al. (1997) que mostraram que o óleo essencial de *S. aromaticum* tem propriedade inibitória sobre o fungo *Aspergillus parasiticus* a partir da concentração de 125 μg/mL e com inibição total a 200 μg/mL. Souza et al. (2004) verificaram que S. *aromaticum e C. zeylanicum* foram eficientes na inibição micelial dos fungos *Rhizopus sp, Penicillium sp, Eurotpium repens e Aspergillus niger*, nas concentrações de 200 a 800 μg/mL, e que o segundo óleo inibiu totalmente o fungo na primeira concentração. Outros trabalhos com óleo essencial de *C. zeylanicum* mostraram a eficiência em inibir outros fungos. Singh et al. (1995), verificaram a inibição de *A. niger, A. fumigatus, A. nidulans e A. flavus* e, Montes-Belmont; Carvajal (1998) também observaram a eficiência do óleo na inibição de *A. flavus* em sementes de milho, como o efeito inibitório do óleo em *Botrytis cinerea* (Wilson et al.,1997).



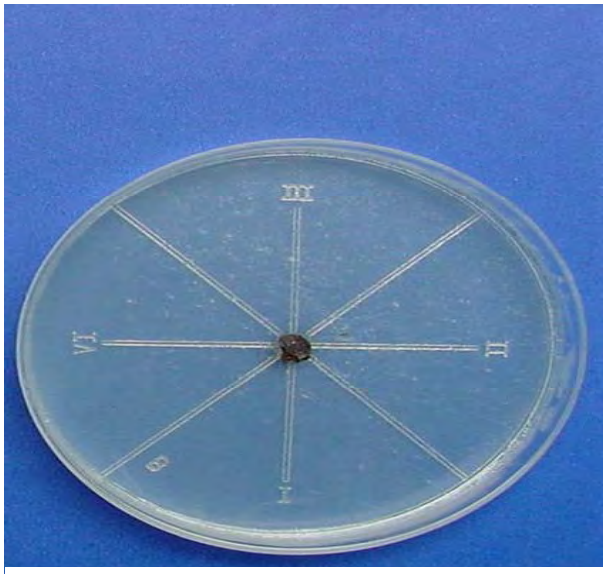
A - Testemunha



B - *Syzygium aromaticum* - 750 µL.L^{-1}



C - *Cymbopogon citratus* - 750 µL.L^{-1}

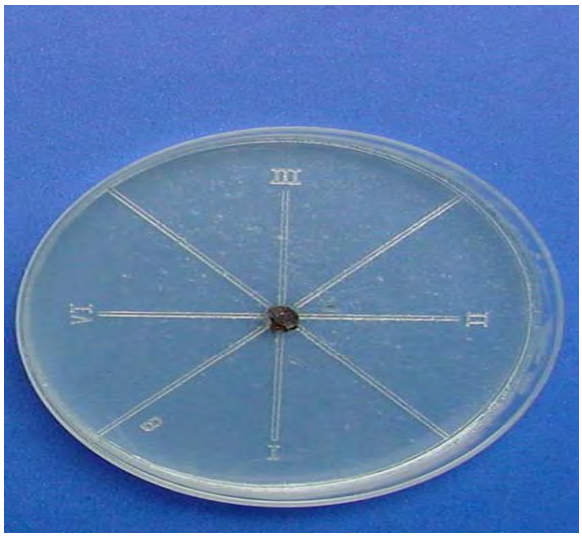


D - *Cymbopogon martini* - 750 µL.L^{-1}

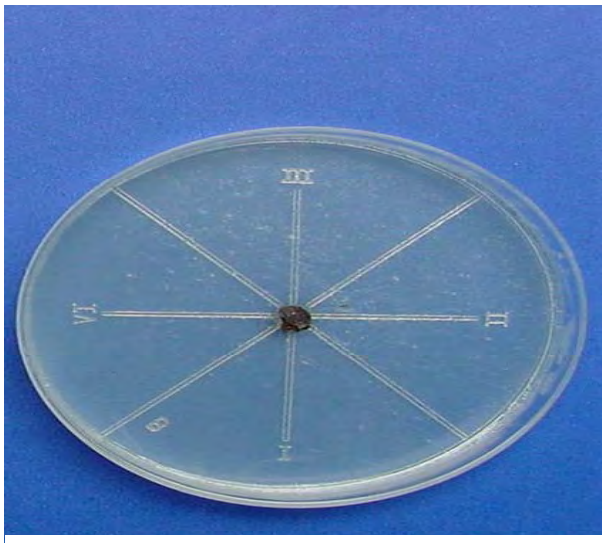
Figura 2. Óleos essenciais e suas concentrações na inibição total do micélio de *Alternaria solani*. Botucatu, 2003.

Continuação.....

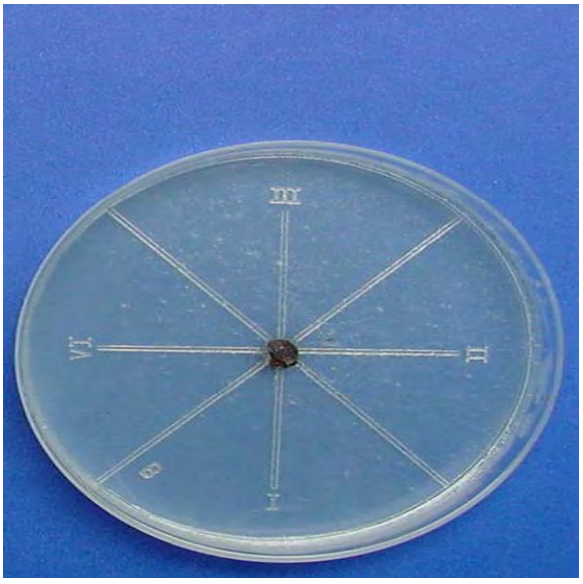
Figura 2. Continuação.



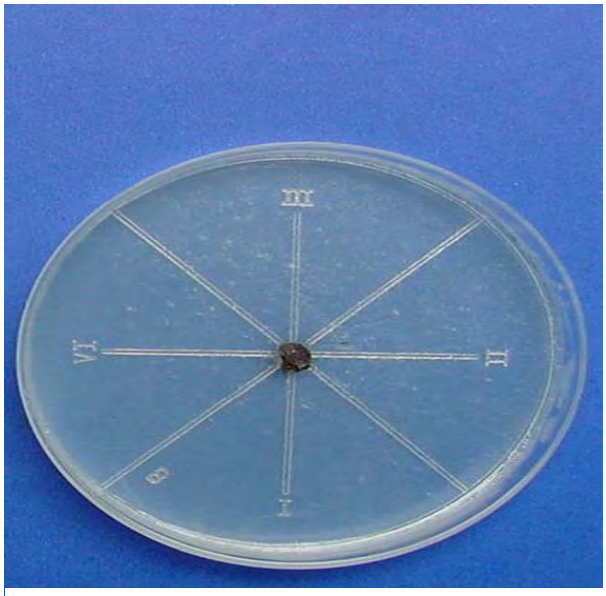
E -*Cinnamomum zeylanicum* - 750 μL.L^{-1}



F - *Eucalyptus citriodora* - 2.000 μL.L^{-1}



G – *Mentha piperita* - 5.000 μL.L^{-1}



H – *Melaleuca alternifolia* - 2.000 μL.L^{-1}

Tabela 3. Coeficientes angulares do crescimento micelial de *Alternaria solani* "in vitro", sob efeito de diferentes óleos essenciais e suas concentrações. Botucatu, 2003.

Óleos	----------Concentrações ($\mu L.\ L^{-1}$) ----------						
	0	1000	2000	3000	4000	5000	R^2
Eucalyptus citriodora	10,47Aa	9,34Ab	0,00Bc	0,00Bc	0,00Bc	0,00Ac	0,95
Mentha piperita	10,47Aa	6,01Bb	4,09Ac	2,96Ad	2,47Ad	0,00Ae	0,95
Melaleuca alternifolia	10,47Aa	6,43Bb	0,00Bc	0,00Bc	0,00Bc	0,00Ac	0,94
C.V (14,48)							

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$).

O efeito positivo do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* na inibição de *A. solani* confere com estudos de Devi et al. (1982) que observaram efeito letal do mesmo óleo contra o crescimento micelial do *Rhizoctonia solani*, e a mesma reação letal contra *Fusarium moniliforme, Aspergillus flavus e A. fumigatus foram* constatadas por Mishra; Dubey (1994). Quanto ao *Cymbopogon martini*, também se confirma, neste trabalho, o que foi observado por Singh et al. (1980), quando constataram que esse óleo e o de *C. citratus* na concentração de 1% foi eficiente contra *Helminthosporium oryzae*, e até mais eficiente que os fungicidas sintéticos. Com relação a *E. citriodora*, que inibiu o micélio de *A. solani*, Salgado et al. (2003) também obtiveram efeitos fungistáticos na concentração de 500mg/kg, "in vitro" quando utilizaram óleos essenciais de diversas espécies de *Eucalyptus* nos micélios dos fungos *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Bipolaris sorokiniana* Shoemaker e *Botrytis cinerea* Pers, mas *Eucaliptus urophylla* apresentou-se mais eficiente que as outras espécies, inclusive em relação ao *E. citriodora*. Sobre *M. alternifolia*, a efetividade na inibição do crescimento micelial *de A. solani* não é novidade, pois esse óleo essencial tem sido utilizado com muita propriedade na medicina humana para controle de fungos e bactérias. Estirpes de *E. coli* foram inibidas pelo óleo na concentração de 0,5 a 0,6 mL/100 mL, segundo estudos feitos por Moreira et al. (2005). Quanto a *M. piperita*, outros estudos afirmam o seu poder antimicrobiano e em relação ao controle de fungos fitopatogênicos, Singh et al. (2003) observaram que nas concentrações a partir de 2000 mg/mL, o óleo essencial foi letal aos fungos *Alternaria* sp., *Curvalaria lunata, Fusarium miniliforme, F. solani* e *Rhizoctonia batatícula.*

Os óleos essenciais das espécies de *C. limon, C. sinensis* var. *dulcis* não apresentaram efeitos de inibição total do crescimento micelial do fungo *A. solani.* Esses resultados estão de acordo com outros estudos em que esses óleos são pouco eficientes na inibição de microorganismos, ou tenham especificidade por algum fungo ou bactéria (NORMAN et al. 1967, McCALLEY; TORRES-GRIFOL, 1992). Quanto ao óleo de *R. officinalis,* segundo estudos conduzidos por diversos autores, também não é um bom produto para inibição do desenvolvimento de microorganismos, pois necessitaria de alta concentração para tornar-se eficiente. Para redução de 50% do crescimento micelial de *B. cinerea* e *Fusarium solani* foram necessários 606 e 668 μg/ml do óleo de *R. officinalis* (DAFERERA et al., 2003). Moreira et al. (2005) verificaram que para inibição da bactéria *E. coli*, foram necessários 0,6 a 0,7 mL/100mL, enquanto que o *S. aromaticum* inibiu a bactéria na concentração de 0,25 a 0,30 mL/100mL. Sobre o óleo essencial de *P. hispidinervrum*, a sua eficiência como agente antimicrobiano não tem sido verificada, e segundo Maia et al. (1987), essa espécie não apresenta eficiência devido à não constatação de componentes secundários específicos para tal.

4.3 Avaliação "in vitro" da germinação de conídios de *Alternaria solani* sob ação de óleos essenciais

Analisando-se os conídios de *Alternaria solani*, verificou-se que os óleos essenciais promoveram resultados variados entre as espécies e entre concentrações, mas com tendências de inibição da germinação dos conídios semelhantes aos apresentados para crescimento micelial (Tabela 4).

Tabela 4. Germinação de conídios de *Alternaria solani* "in vitro" sob ação dos óleos essenciais. Botucatu-SP, 2003.

	----------Concentrações ($\mu L.\ L^{-1}$)----------					
Óleos	0	250	500	750	1000	5000
	----------Conídios germinados (%)----------					
Syzygium aromaticum	100,0Aa	100,0Aa	100,0Aa	0,0 Ab	0,0 Ab	0,0 Ab
Cymbopogon citratus	100,0Aa	100,0Aa	100,0Aa	0,0 Ab	0,0 Ab	0,0 Ab
Cymbopogon martini	100,0Aa	100,0Aa	100,0Aa	0,0 Ab	0,0 Ab	0,0 Ab
Cinnamomum zeylanicum	100,0Aa	100,0Aa	100,0Aa	0,0 Ab	0,0 Ab	0,0 Ab
Eucalyptus citriodora	100,0Aa	100,0Aa	100,0Aa	100,0Aa	100,0Aa	0,0 Ab
(CV) = 0,023%						

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$).

Nas comparações entre óleos essenciais, verificou-se que nas concentrações 0, 250 e 500 μL/L^{-1} , as espécies de *S. aromaticum C. citratus*, *C. martini*, *C. zeylanicum* e *E. citriodora* não apresentaram diferenças estatísticas entre si, pois os mesmos não promoveram inibição da germinação, apresentando 100% de conídios germinados. Já a partir das concentrações de 750, 1000 e 5000 μL/L^{-1}, todos os óleos proporcionaram inibição total da germinação dos conídios, não diferindo estatisticamente entre si, com exceção de *E. citriodora* que apresentou diferenças em relação aos outros óleos nas concentrações de 750 e 1000 μL/L^{-1}. Nas concentrações de 5000 μL/L^{-1} todos os óleos apresentaram os mesmos resultados, inibindo totalmente a germinação dos conídios de *A. solani.*

Avaliando-se as concentrações para cada óleo essencial, os resultados foram semelhantes para *S. aromaticum C. citratus, C. martini, C. zeylanicum*, para os quais houve 100% de germinação conidial de 0 a 500 μL/L^{-1}, mas a partir da concentração de 750, 1000 e 5000 μL/L-1 os óleos proporcionaram inibição total dos conídios. Para o *E. citriodora*, nas concentrações de 0, 250, 500, 750 e 1000 μL/L^{-1} houve também 100% de germinação conidial, e, somente na concentração de 5000 μL/L^{-1} esse óleo promoveu inibição total dos conídios do fungo.

A inibição da germinação conidial é fundamental no controle da doença, pois essa estrutura é o ponto de partida para propagação e sobrevivência dos fungos, principalmente quando o ambiente está inadequado para desenvolvimento dos mesmos. Para sucesso da utilização de um óleo essencial como fungicida é preciso que ele iniba não apenas as hifas de um fungo, mas também a germinação dos conídios. Alguns trabalhos com óleos essenciais têm abordado a eficiência na inibição conidial. Estudos conduzidos por Caccioni; Guizzardi (1994) mostraram que as mesmas concentrações dos óleos de *C. zeylanicum* e *Cymbopogon* sp. que inibiram o crescimento micelial, também inibiram os esporos de *Monilinia laxa, Mucor piriformes* e *Rhizopus stolonifer*. Da mesma forma, o óleo essencial de *C. citratus* nas concentrações de 800, 1000 e 1200 ppm nos fungos *Fusaruim moniliforme, Aspergillus flavus* e *Aspergillus fumigatus* inibiram tanto o crescimento micelial como a germinação conidial (MISHRA; DUBEY, 1994). Estas informações estão de acordo com demais resultados conseguidos para *A. solani*, em que as concentrações dos óleos essenciais que inibiram os crescimentos miceliais, também

inibiram a germinação dos conídios.

4.4 Controle de *Alternaria solani* em tomateiro em ambiente protegido com uso de óleos essenciais

As avaliações das lesões das folhas do tomateiro por *A. solani*, mostraram que os óleos essenciais são promissores no controle da doença (Tabela 5).

Tabela 5. Folhas e folíolos com sintomas de *Alternaria solani* em tomateiro cv. Santa Clara, cultivados em vasos, sob ambiente protegido, tratado com diferentes óleos essenciais e concentrações, avaliados aos 57 dias após transplantio. Botucatu-SP, 2003.

Óleos	----------Concentrações ($\mu L.\ L^{-1}$)---------- 1	2	3	4
	----------Folhas doentes (%) ----------			
Cinnamomum zeylanicum	100,0 Aa	96,29 Aa	78,76 Ab	9,92 Ac
Cymbopogon citratus	100,0 Aa	94,44 Aa	76,65 Ab	10,48 Ac
Syzygium aromaticum	100,0 Aa	97,91 Aa	77,08 Ab	10,41 Ac
*Eucalyptus citriodora**	100,0 Aa	100,0 Aa	41,17 Bb	00,00 Bc
Cymbopogon martini	100,0 Aa	84,52 Bb	33,30 Bc	00,00 Bd
(C.V) = 11,07				
	----------Folíolos doentes (%) ----------			
Cinnamomum zeylanicum	80,69 Aa	59,81 Cb	30,67 Bc	04,06 Bd
Cymbopogon citratus	80,69 Aa	80,87 Aa	68,43 Ab	11,10 Ac
Syzygium aromaticum	80,69 Aa	80,25 Aa	72,50 Ab	06,94 Ac
*Eucalyptus citriodora**	80,69 Aa	70,21 Bb	11,47 Cc	00,00 Bd
Cymbopogon martini	80,69 Aa	17,93 Db	12,61 Cb	00,00 Bc
(C.V) = 11,93				

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$).
Concentração 1 = 0, 2 = 500, 3 = 750 e 4 = 5.000 $\mu L.L^{-1}$.
* Concentração 1 = 0, 2 = 750, 3 = 1000 e 4 = 5.000 $\mu L.L^{-1}$

A ação dos óleos essenciais na inibição da *A. solani* pode ser detectada já na concentração 2 , com o *C. martini* inibindo em 13% a doença nas folhas, em relação à média dos demais óleos. Na concentração 3, o grupo formado por *C. martini* e *E. citriodora* superou em 52% o grupo de *C. zeylanicum, C. citratus e S. aromaticum*. Para concentração 4, *C. martini* e *E. citriodora* promoveram a inibição total da *A. solani* nas

folhas, superando os demais óleos que apresentaram médias de 10% de folhas lesionadas pelo fungo.

Na comparação das porcentagens de folhas doentes em relação às concentrações dos óleos, *C. zeylanicum, C. citratus* e *S. aromaticum* apresentaram as mesmas tendências de inibição das doenças à medida que foram aumentando as concentrações, não diferindo estatisticamente as concentrações 1 para 2, mas, diminuindo em 23% para concentração 3, e 90% na concentração 4. Quanto ao óleo de *E. citriodora*, não houve diferenças entre as concentrações 1 e 2, mas para 3 a inibição foi de 59% e 100% para concentração 4. Em relação ao *C. martini*, houve diferenças em 15% da concentração 1 para 2, 66% para 3 e 100% de inibição para a 4.

Comparando os óleos essenciais para folíolos doentes, na concentração 2, o óleo essencial de *C. martini* foi 70% mais eficiente que *C. zeylanicum*, 75% em relação a *E. citriodora* e 79% mais eficiente que o grupo de *C. citratus* e *S. aromaticum*. Na concentração 3 o grupo de *E. citriodora e C. martini* foi 60% mais eficiente que *C. zeylanicum* e 83% mais eficiente que o grupo do *C. citratus* e *S. aromaticum*. Para a concentração 4, o grupo de *E. citriodora* e *C. martini* apresentou inibição total de folíolos doentes, mas não significativamente diferente de *C. zeylanicum*, enquanto que o grupo de *C. citratus* e *S. aromaticum* apresentou 8% de folíolos doentes a mais que os outros.

Na avaliação de folíolos doentes entre as concentrações de óleos, à medida que se aumentou as concentrações, houve tendência de diminuição da incidência da doença, com os óleos essenciais *C. citratus* e *S. aromaticum* não apresentando diferenças entre as concentrações 1 e 2, mas para a concentração 3 houve redução de 12%, enquanto que para concentração 4 a redução foi 90%. *C. zeylanicum* apresentou diferença de 26% entre a concentração 1 para 2, 62% para concentração 3 e 95% de inibição para folíolos doentes. O *E. citriodora* apresentou diferença entre a concentração 1 para 2 em 12%, para concentração 3 a porcentagem de inibição da doença nos folíolos foram para 86% e de 100% para concentração 4. Para *C. martini*, a diferença entre a concentração 1 para 2 foi grande, chegando a 78%, não ocorrendo diferenças entre a concentração 2 e 3, e chegando a 100% de inibição para a concentração 4.

Os resultados apresentados demonstraram que os óleos essenciais foram eficientes na inibição da *A. solani* nas folhas do tomateiro cultivado em ambiente protegido. Esses resultados talvez sejam inéditos, pois não foram encontrados, na literatura, trabalhos semelhantes, com o uso desses tipos de óleos na aplicação em plantas para controle de doenças, devido ao fato de que os óleos essenciais são bastantes voláteis e com alta facilidade de oxidação quando em contato com o ar. O fato das aplicações terem sido feitas de 3 em 3 dias, e em ambiente protegido serem mais estáveis, pode ser uma justificativa para esta ocorrência.

4.5 Controle de *Alternaria solani* em tomateiro cultivado a campo com uso de óleos essenciais

Avaliando-se a produção de frutos, porcentagens de frutos comerciais e índice de doenças, verificaram-se diferenças entre tratamentos com óleos essenciais no controle da *A. solani* (Tabela 6, Figura 3).

Quando se analisa a produção de frutos por parcela, para a concentração 1 no intervalo de aplicação de 3 dias, verifica-se que o tratamento com o fungicida TM + C foi superior em 37% ao grupo *E. citriodora* e C. *zeylanicum*, e 48% ao grupo testemunha e *C. citratus*. Entre os dois grupos a diferença é de 25%. No intervalo de aplicação de 6 dias o fungicida foi superior em 50% ao grupo formado pelos óleos e à testemunha.

Na concentração 2 e intervalo de aplicação de 3 dias, o fungicida foi superior em 23% o grupo de óleos essenciais e 55% em relação a testemunha. Para o intervalo de aplicação de 6 dias a produção de frutos de tomate das parcela tratada com o fungicida foi 40% ao grupo formado pelos óleos e a testemunha.

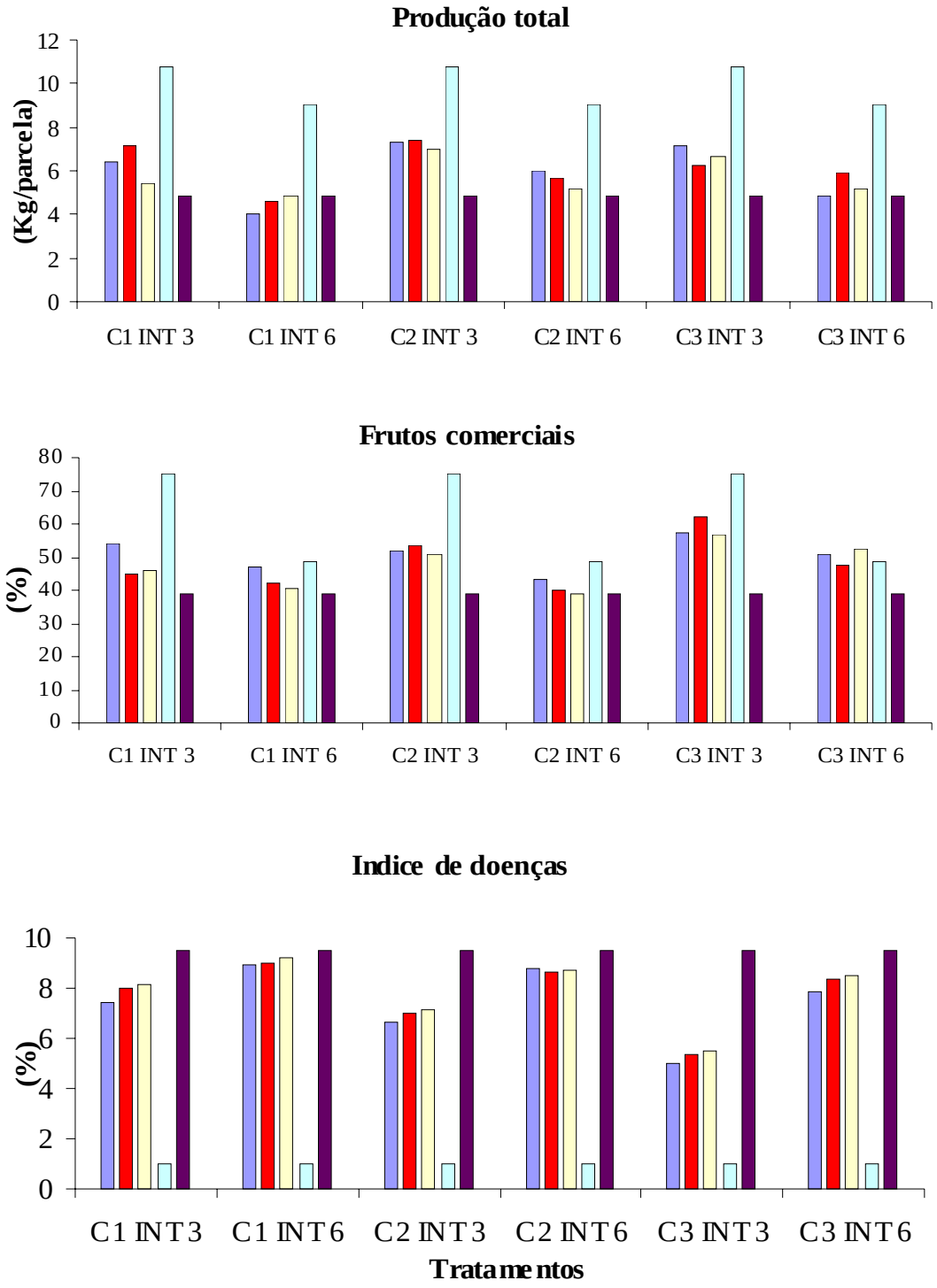
Para a concentração 3 e no intervalo de aplicação de 3 dias, a produção de frutos, na parcela tratada com o fungicida TM + C foi 37% superior ao grupo dos óleos essenciais e, o grupo dos óleos foi 27% superior à testemunha. No intervalo de aplicação de 6 dias, os resultados dos óleos essenciais e testemunha foram semelhantes entre si, mas 43% inferiores ao do fungicida.

Tabela 6. Produção de frutos (kg/parcelas) e índice de doenças, de tomateiro c.v. Rio Grande cultivado a campo, sob aplicação de óleos essenciais para controle de *Alternaria solani.* Botucatu-SP, 2005.

	Concentração μL/L^{-1}					
	1		2		3	
Produtos	Intervalos de aplicação (dias)					
	3	6	3	6	3	6
	Produção total (kg)					
*Eucalyptus citriodora**	6,45 Ba1	4,04 Bb2	7,35 Ba1	5,99 Ba2	7,17 Ba1	4,81 Bb2
Cinnamomum zeylanicum	7,18 Ba1	4,61 Bb2	7,43 Ba2	5,70 Ba1	6,21 Bb1	5,91 Ba1
Cymbopogon citratus	5,40 Cb1	4,81 Ba1	7,01 Ba1	5,15 Ba2	6,64 Ba1	5,20 Ba2
TM + C PM	10,7 Aa1	9,07 Aa2	10,7 Aa1	9,07 Aa2	10,7 Aa1	9,07 Aa2
Testemunha	4,88 Ca1	4,88 Ba1	4,88 Ca1	4,88 Ba1	4,88 Ca1	4,88 Ba1
C.V.(10,18)						
	Frutos comerciais (%)					
*Eucalyptus citriodora**	54,3 Ba1	47,2 Aa1	51,8 Ba1	43,3 Aa1	57,1 Ba1	51,0 Aa1
Cinnamomum zeylanicum	44,6 Cc1	42,2 Aa1	53,3 Bb1	40,2 Aa2	62,3 Ba1	47,8 Aa2
C. citratus	45,9 Cb1	40,8 Ab1	50,7 Bb1	39,0 Ab2	56,9 Ba1	52,4 Aa1
TM + C PM	74,8 Aa1	48,4 Aa2	74,9 Aa1	48,4 Aa2	74,8 Aa1	48,4 Aa2
Testemunha	38,8 Ca1	38,7 Aa1	38,7 Ca1	38,7 Aa1	38,7 Ca1	38,7 Ba1
C.V. (12,11)						
	Índice de doenças					
*Eucalyptus citriodora**	7,45 Ca1	8,90 Aa2	6,62 Bb1	8,77 Ba2	5,00 Bc1	7,87 Cb2
Cinnamomum zeylanicum	8,00 Ba1	9,00 Aa2	7,00 Bb1	8,62 Bb2	5,37 Bc1	8,35 Bb2
C. citratus	8,12 Ba1	9,20 Aa2	7,17 Bb1	8,72 Bb2	5,50 Bc1	8,50 Bb2
TM + C PM	1,00 Da1	1,00 Ba1	1,00 Ca1	1,00 Ca1	1,00 Ca1	1,00 Da1
Testemunha	9,50 Aa1	9,50 Aa1	9,50 Aa1	9,50 Aa1	9,50 Aa1	9,50 Aa1
C.V.(5,31)						

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, minúsculas nas linhas e números nas linhas (entre intervalos das concentrações) não diferem entre si pelo teste de Sckott-Knott ($p<0,5$). Concentração 1= 1000, 2 = 3000 e 3 = 5000 μL/L^{-1}.
*Concentração 1= 3000, 2 = 5000 e 3 = 7000 μL/L^{-1}

Quando se comparam os intervalos de aplicações de 3 dias entre cada concentração, na produção total de frutos para *E. citriodora*, os valores apresentaram-se semelhantes, mas para o intervalo de aplicação de 6 dias a concentração 2 foi 26% superior às outras duas. Para o óleo de *C. zeylanicum*, os intervalos de aplicação 3 dias das concentrações 1 e 2 foram 15% superiores ao da concentração 3, e, para intervalos de 6 dias não houve diferença entre as concentrações. No óleo essencial de *C. citratus*, os intervalos de aplicações de 3 dias das concentrações 2 e 3, foram 20% superiores ao da concentração 1, mas para os intervalos de 6 dias não houve diferença entre as concentrações.



C1, C2, C3 = Concentrações de 1.000, 2.000 e 3.000 µL/L-¹ (3.000, 5.000 e 7. 000 µL/L-¹ p/ *Eucalyptus citriodora).*
INT3 e INT6 = Intervalos de aplicações de 3 e 6 dias.

Eucalyptus citriodora
Cinnamomum zeylanicum
Cymbopogon citratus
TM+C
Testemunha

Figura 3. Efeitos dos óleos essenciais e TM + C (tiofanato metílico + chlorothalonil) no controle de *Alternaria solani* do tomateiro cultivado a campo.Botucatu, 2005.

Quando se avaliou a produção de frutos entre intervalos de aplicações dentro de cada concentração, todos os intervalos de aplicação de 3 dias foram superiores aos intervalos de 6 dias, tanto para os óleos essenciais quanto para o fungicida, com exceção para a concentração 3 de *C. zeylanicum*, e concentração 1 para *C. citratus.*

Na análise de porcentagem de frutos comerciais, concentração 1 e intervalo de aplicação de 3 dias, o fungicida TM + C foi 27% superior ao *E. citriodora* e 42% ao grupo formado por *C. zeylanicum*, *C. citratus* e testemunha. A diferença entre *E. citriodora* para o grupo é de 20%. Para intervalo de aplicação de 6 dias os óleos essenciais, testemunha e fungicida não apresentaram diferenças entre si.

Na concentração 2 de óleos essenciais, com intervalo de aplicações de 3 dias, a porcentagem de frutos comerciais para o tratamento com fungicida foi 30% superior ao grupo dos óleos essenciais e 48% da testemunha, enquanto que a diferença entre os óleos e testemunha foi de 25%. Para o intervalo de aplicações de 6 dias não houve diferenças entre os tratamentos.

Para concentração 3 e intervalo de aplicação de 3 dias, a porcentagem de frutos comerciais foram de 22% superior ao grupo de óleos essenciais e 48% da testemunha, enquanto que o a diferença entre os óleos e testemunha foi de 34%. Para o intervalo de aplicação de 6 dias não houve diferença entre os óleos e fungicida, mas estes foram 23% superiores à testemunha.

Na análise entre os mesmos intervalos de aplicações de cada concentração, para porcentagem de frutos comerciais, o óleo de *E. citriodora* não apresentou diferenças entre intervalos de 3 e 6 dias. Para *C. zeylanicum* o intervalo de aplicação de 3 dias da concentração 3 foi 15% superior ao da concentração 2, 29% em relação ao da concentração 1, e para intervalo de 6 dias não houve diferenças. Em relação a *C. citratus*, o intervalo de 3 dias da concentração 3 foi 15% superior aos da concentração 1 e 2, como também ocorreu entre intervalos de aplicações de 6 dias, mas com diferenças de 30%.

Na avaliação de porcentagem de frutos comerciais, entre intervalos de aplicações dentro de cada concentração, no *E. citriodora* não houve diferenças entre os intervalos de aplicações de 3 e 6 dias. Para *C. zeylanicum* apenas na concentração 1 não houve diferença entre intervalo, mas na concentração 2 o intervalo 3 foi 25% superior ao

intervalo de aplicação 6 e 24% superior na concentração 3. Para *C. citratus*, somente na concentração 2 o intervalo de aplicação 3 foi superior ao de 6, em 23%. Para o fungicida o intervalo de aplicação de 3 dias foi superior ao de 6, em 35%.

Avaliando o índice de doenças nas plantas do tomateiro na concentração 1 e intervalo de aplicação de 3 dias, o fungicida TM + C obteve o mais baixo índice de doença, superior a todos os outros tratamentos, diferentes de *E. citriodora*, do grupo *C. zeylanicum e C. citratus*, e a testemunha com maior valor. No intervalo de aplicação de 6 dias, o fungicida manteve o mais baixo índice de doença nas plantas, mas entre os óleos e testemunha não houve diferença estatística.

Na concentração 2 e intervalo de aplicação de 3 dias os óleos essenciais foram semelhantes entre si, mas diferentes da testemunha, com o fungicida sendo a referência no controle da doença. No intervalo de aplicação de 6 dias houve as mesmas tendências ocorridas no intervalo 3.

Na concentração 3 e intervalo de aplicação de 3 dias, houve índices de doenças diferenças entre os óleos e a testemunha, com o fungicida mantendo baixo índice. Para o intervalo de 6 dias, o fungicida apresentou o mais baixo índice da doença, seguido de *E. citriodora,* o grupo dos óleos essenciais de *C. zeylanicum, C. citratus* e a testemunha com o mais alto índice da doença nas plantas.

Avaliou-se o índice de doenças para os mesmos intervalos de aplicações; no *E. citriodora* o intervalo de aplicação de 3 dias da concentração 3 foi superior ao da concentração 2, que foi superior ao da concentração 1, com as mesmas tendências para os óleos de *C. zeylanicum* e *C. citratus*.

Na avaliação do índice de doenças entre intervalos de aplicação dentro de cada concentração e óleos essenciais, houve diferenças significativas entre os intervalos de aplicações de 3 para de 6 dias.

Os resultados apresentados demonstraram que os óleos essenciais mesmo não sendo tão eficientes quanto ao fungicida TM + C, apresentaram níveis de proteção às plantas do tomateiro, sendo produtos promissões para o controle da *A. solani*, no cultivo a campo. Na Figura 3, verifica-se que em todas as concentrações estudadas, os intervalos de aplicações de 3 dias promoveram respostas superiores aos intervalos de 6 dias, tanto para produção total de frutos, como para porcentagens de frutos comerciais e índices

de doenças das plantas do tomateiro. Quanto mais se aumentou as concentrações, as respostas foram mais positivas, com a concentração 3 nos intervalos de 3 dias proporcionando os melhores valores.

4.6 Vida útil pós-colheita de frutos de tomateiro cultivado a campo com uso de óleos essenciais para controle de *Alternaria solani*

Pelos resultados da Tabela 7 e Figura 4, pode-se observar que os óleos essenciais aumentaram a vida útil pós-colheita dos frutos de tomateiro.

A avaliação dos frutos de tomate aos 5 dias, nos intervalos de aplicações de 3 dias, mostrou que o grupo formado pelo fungicida TM + C e os óleos essenciais de *E. citriodora* (7000 μL/L^{-1}), *C. zeylanicum* (5000 μL/L^{-1}) e *C. citratus* (1000 e 5000 μL/L^{-1}) proporcionaram as menores quantidades de frutos descartados ou deteriorados, sendo 63% melhor que o formado pela testemunha e os óleos essenciais de *E. citriodora* (3000 e 5000 μL/L^{-1}), *C. zeylanicum* (1000 e 2000 μL/L^{-1}) e *C. citratus* (3000 μL/L^{-1}). Nos intervalos de 6 dias o grupo do fungicida, óleos essenciais de *E. citriodora* (1000 e 5000 μL/L^{-1}), *C. zeylanicum* (3000 e 5000 μL/L^{-1}) e *C. citratus* (1000 e 5000 μL/L^{-1}) inibiram a deterioração dos frutos em 52% em relação ao grupo da testemunha, e os óleos essenciais de *E. citriodora* (7000 μL/L^{-1}), *C. zeylanicum* (1000 μL/L^{-1}) e *C. citratus* (5000 μL/L^{-1}).

Para a avaliação dos frutos aos 10 dias de armazenamento, nos intervalos de aplicações de 3 dias, o grupo do fungicida e os óleos essenciais de *E. citriodora* (7000 μL/L^{-1}), *C. zeylanicum* (3000 e 5000 μL/L^{-1}) e *C. citratus* (1000 e 5000 μL/L^{-1}) inibiu a deterioração dos frutos em 38% em relação ao grupo da testemunha e aos óleos essenciais de *E. citriodora* (3000 e 5000 μL/L^{-1}), *C. zeylanicum* (1000 μL/L^{-1}) e *C. citratus* (3000 μL/L^{-1}). Nos intervos de aplicações de 6 dias, o grupo do fungicida e os óleos essenciais *E. citriodora* (3000 μL/L^{-1}) e *C. citratus* (5000 μL/L^{-1}) inibiram em 24%

Tabela 7. Porcentagem de frutos descartados de tomateiro tratados com óleos essenciais no controle de *Alternaria solani*, armazenados à temperatura ambiente. Botucatu, 2005.

Produtos	Concentrações ($\mu L.L^{-1}$)	Tempo de armazenamento (dias)							
		5		10		15		20	
		Intervalos de aplicações (dias)							
		3	6	3	6	3	6	3	6
Eucalyptus citriodora	*3.000*	29,18 Aa	20,85 Ba	70,75 Aa	54,22 Ba	70,85 Ba	100,0 Ab	100,0 Aa	100,0 Aa
Eucalyptus citriodora	*5.000*	20,82 Aa	25,05 Ba	62,57 Aa	83,35 Aa	79,22 Aa	100,0 Aa	95,85 Aa	100,0 Aa
Eucalyptus citriodora	*7.000*	12,50 Bb	33,35 Aa	50,00 Ba	87,50 Ab	62,50 Ba	100,0 Ab	87,47 Aa	100,0 Aa
Cinnamomum zeylanicum	*1.000*	25,02 Aa	33,35 Aa	70,90 Aa	79,20 Aa	87,55 Aa	100,0 Aa	95,85 Aa	100,0 Aa
Cinnamomum zeylanicum	*3.000*	20,87 Aa	12,52 Ba	54,22 Ba	79,20 Ab	66,70 Ba	100,0 Ab	95,85 Aa	100,0 Aa
Cinnamomum zeylanicum	*5.000*	8,35 Ba	8,325 Ba	50,05 Ba	79,20 Ab	66,72 Ba	100,0 Ab	83,35 Aa	100,0 Aa
Cymbopogon citratus	*1.000*	12,50 Ba	25,00 Ba	54,22 Ba	79,15 Ab	75,05 Aa	100,0 Ab	95,85 Aa	100,0 Aa
Cymbopogon citratus	*3.000*	29,17 Aa	37,52 Aa	62,52 Aa	75,02 Aa	75,02 Aa	100,0 Ab	87,55 Aa	100,0 Aa
Cymbopogon citratus	*5.000*	12,52 Ba	16,67 Ba	33,40 Ba	66,70 Bb	58,40 Ba	100,0 Ab	91,70 Aa	100,0 Aa
TM + C PM	*2.000*	4,17 Ba	12,50 Ba	33,35 Ba	66,67 Bb	45,85 Ba	100,0 Ab	75,02 Aa	100,0 Aa
Testemunha	*0.000*	37,52 Aa	41,70 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa

C.V. (23,86)

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$).

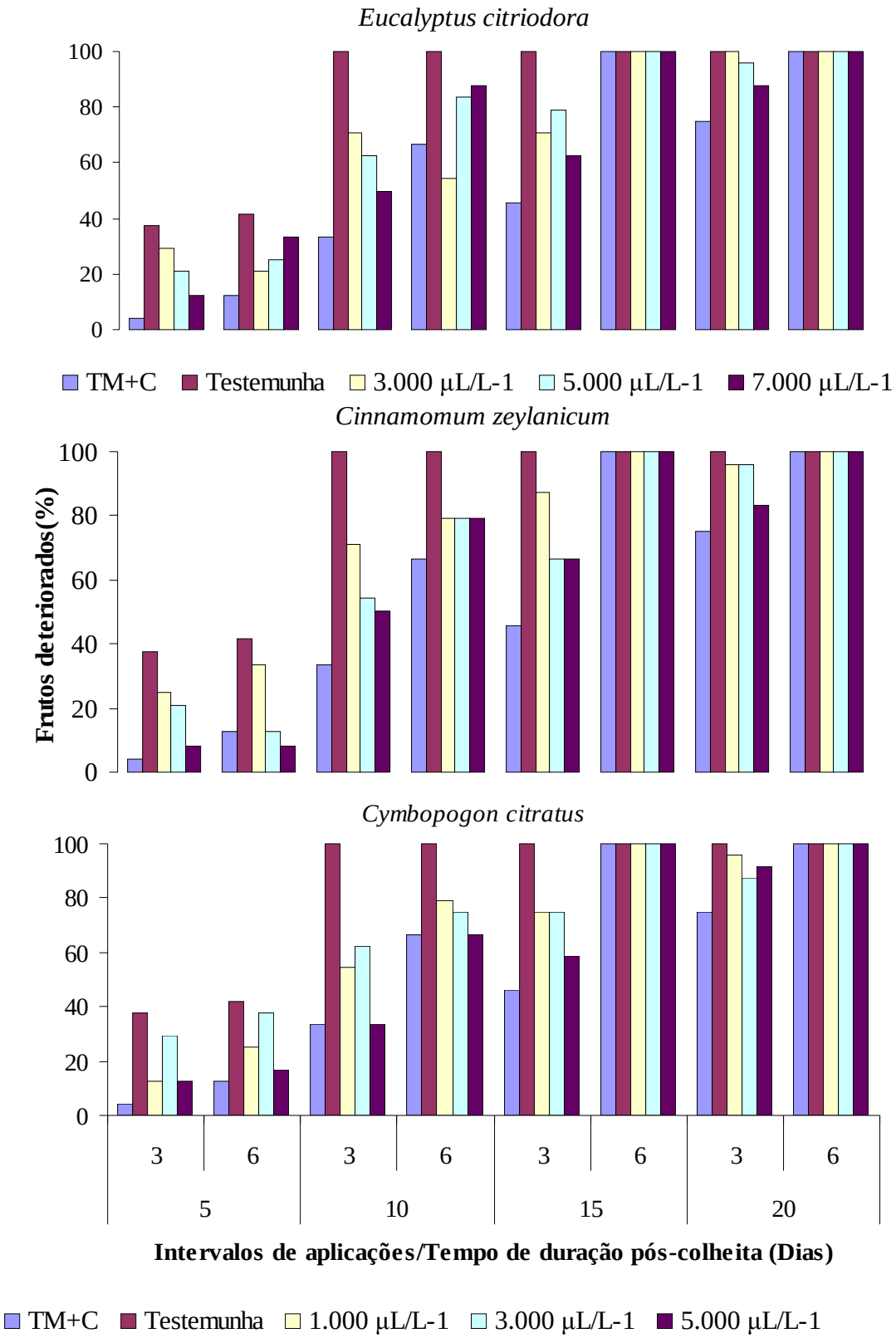


Figura 4. Conservação pós-colheita de frutos de tomateiro cultivado a campo, tratadas com TM + C (tiofanato metílico + chlorothalonil) e óleos essenciais, para controle de *Alternaria solani*. Botucatu, 2005.

em relação ao grupo da testemunha e os outros óleos e suas respectivas concentrações

Aos 15 dias de armazenamento, nos intervalos de aplicações de 3 dias, o grupo de fungicida e os óleos essenciais *E. citriodora* (3000 e 7000 μL/L^{-1}), *C. zeylanicum* (3000 e 5000 μL/L^{-1}) e *C. citratus* (5000 μL/L^{-1}) inibiram em 25% a deterioração dos frutos em relação ao grupo da testemunha e *E. citriodora* (3000 μL/L^{-1}), *C. zeylanicum* (1000 μL/L^{-1}) e *C. citratus* (1000 e 3000 μL/L^{-1}). No intervalo de aplicações de 6 dias, todos os tratamentos apresentaram 100% de frutos deteriorados.

Aos 20 dias de armazenamento, para os intervalos de aplicações de 3 dias não houve diferença estatística entre os tratamentos, com deterioração de frutos aproximando-se dos 100%.

Na figura 4, verifica-se que tanto o fungicida TM + C, na concentração de 2000 μg/L^{-1}, como os óleos essenciais de *E. citriodora*, *C. zeylanicum* e *C. citratus*, nas suas 3 concentrações aumentaram a vida útil dos frutos do tomateiro, principalmente a partir dos 10 dias de armazenamento quando os frutos oriundos de plantas não tratadas tiveram 100% dos frutos deteriorados e impróprios para comercialização. Isso pode ser devido à presença de resíduos de fungicidas ou de óleos que impedem o desenvolvimento de microorganismos que aceleram a decomposição dos frutos, a exemplo de *A. solani* e outros. Também no Gráfico 3, os resultados mostram que as aplicações dos produtos nos intervalos de 3 dias aumentaram de forma diferenciada a conservação dos frutos em relação às aplicações de 6 dias. Isso fica mais evidente a partir dos 10 dias, e se confirma aos 15 dias, quando todos os tratamentos dos intervalos de 6 dias apresentaram 100% de deterioração e os tratamentos dos intervalos de aplicações de 3 dias ainda apresentavam frutos sadios.

O prolongamento da vida útil pós-colheita dos frutos do tomateiro armazenados em ambiente natural, pode ser devido à ação dos óleos essenciais e ao fungicida contra a *A. solani* e aos outros microorganismos relacionados com os frutos. Segundo Tokeshi; Carvalho (1980), existem uma série de microorganismos entre fungos e bactérias que causam apodrecimento em frutos maduros, dentre eles os fungos *P. infestans, A. solani, B. cinerea, Phoma destructiva, Colletotrichum phomoides, Rhizoctonia solani,* e entre outros, mas que o controle das podridões está na dependência direta do controle das doenças no campo. A utilização dos óleos essenciais em doenças de pós-colheita tem sido

estudada; por exemplo, óleo essencial de *C. citratus* aplicado na concentração de 0,75 mg/L com pressão hidrostática de 150 MPa por 30 minutos em frutos de mamão foi o suficiente para controlar o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (PALHANO et al., 2004).

Os resultados encontrados neste trabalho confirmam que os óleos essenciais de *E. citriodora, C. zeylanicum, S. aromaticum, C. martini, C. citratus, M. piperita* e *M. alternifolia* apresentaram efeitos inibitórios contra fungos como observado em outras bibliografias, e agora em *A. solani*. Isso se deve aos componentes existentes nos óleos.

Alguns trabalhos mostram efeitos letais dos compostos metabólitos em microorganismos: o eugenol, componente de *C. zeylanicum* e *S. aromaticum*, inibiu o crescimento de *Aspergillus flavus* em sementes de milho (MONTES-BELMONT; CARVAJAL, 1998); Delespaul et al. (2000), apontam que o geraniol, principal componente do *C. martini* foi o responsável pela ação fungistática contra *Aspergillus niger*, *Chaetomium globosum e Penicillium funiculosum;* e assim, muitos outros exemplos são citados dos componentes desses óleos utilizados para inibição de microorganismos, principalmente em alimentos processados.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os óleos essenciais de *C. citratus*, *C. martini*, *S. aromaticum*, e *C. zeylanicum*, inibiram "in vitro" o desenvolvimento micelial e conidial de *A. solani* a partir da menor concentração de 750 $\mu L/L^{-1}$, o *E. citriodora* e *M. alternifolia* na concentração intermediária (2000 $\mu L/L^{-1}$) e a *M. piperita* inibiu o fungo na maior concentração estudada, (5000 $\mu L/L^{-1}$), tornando-se promissores para uso no controle da pinta preta do tomateiro.

Quanto aos óleos que foram estudados para o controle da *A. solani* em tomate cultivado em vasos, sob ambiente protegido, em aplicações sistemáticas de 3 em 3 dias, as espécies *C. citratus* e *C. zeylanicum* foram eficientes no controle da doença, inibindo o desenvolvimento das lesões das folhas das plantas nas concentrações a partir de 750 $\mu L/L^{-1}$, e o óleo essencial de *E. citriodora* apresentando o melhor desempenho na maior concentração, 5000 $\mu L/L^{-1}$.

Na utilização dos óleos essenciais de *E. citriodora*, *C. citratus* e *C. zeylanicum* para controle da doença do tomateiro cultivado a campo, os óleos essenciais, mesmo em suas concentrações mais altas não apresentaram a mesma eficiência para a

inibição do desenvolvimento do fungo, quando comparados com o fungicida tiofanato metílico + chlorothalonil.

Na avaliação pós-colheita dos frutos do experimento de campo, os frutos de tomate das parcelas tratadas com os óleos essenciais e o fungicida apresentaram maior tempo de conservação em ambiente natural, quando comparados com a testemunha.

Considerando que os óleos essenciais apresentaram efeitos inibidores no desenvolvimento da *A. solani*, nos testes “in vitro”, no cultivo do tomateiro em ambiente protegido e a campo, esses óleos têm grandes perspectivas para uso como defensivos agrícolas para controle de doenças. Entretanto, novos estudos devem ser efetuados para averiguar sua eficiência em tomateiro cultivado, em propriedades que fazem uso de métodos agroecológicos, onde o meio é mais equilibrado.

Por ter características de alta volatibilidade, estudos com óleos essenciais devem ser intensificados para se desenvolver tecnologias para sua estabilização. É importante persistir nesta busca porque os óleos essenciais são produtos naturais, que têm potencial para substituírem defensivos agrícolas sintéticos, pois são de fácil degradação no meio ambiente e baixa toxicidade ao ser humano.

Os óleos essenciais de *S. aromaticum* e *M. piperita,* embora apresentem eficiência na inibição da *A. solani*, são produtos muito caros e podem tornar-se economicamente inviáveis como defensivos agrícolas.

6 CONCLUSÕES

- Os óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* (capim limão), *Eucalyptus citriodora* (eucalipto), *Cinnamomum zeylanicum* (canela), são alternativa sustentável no controle da *Altenaria solani*, embora menos eficientes que o fungicida tiofanato metílico + chlorothalonil no controle da pinta preta do tomateiro cultivado a campo.

- A eficiência dos óleos essenciais como fungicidas em campo, será aumentada com tecnologias que reduzam sua volatibilidade.

- Os óleos essenciais e o fungicida tiofanato metílico + chlorothalonil quando aplicados no controle da pinta preta no campo, aumentam a conservação pós-colheita dos frutos de tomate.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACEDO, A. L. Jr.et al. Postharvest biocontrol of bacterial soft rot in cabbage using botanicals. **Philippine Journal of Crop Science,** Laguna, v. 24, p. 12, 1999. Suplemento nº 1.

ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by cromatography / mass spectroscopy. Allured Publ. Corp., Carol Stream, 1995. 469p.

ADEGOKE, G. O.; ODESOLA, B. A. Storage of maize and cowpea and inhibition of microbial agents of biodeterioration using the powder and essential oil of lemon grass (*Cybompogon citratus*). **International Biodeterioration,** Edinburgh, v. 37, n. 1-2, p. 81-4, 1996.

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

BARD, M. et al. Geraniol interferes with membrane functions in strains of *Candida* and *Saccharomyces*. **Lipids**. Champaign, v. 23, p. 534 –538. 1988

BARATTA, et al. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. **Flavour and Fragance Journal,** Aveiro, v. 13, p. 235-244, 1988.

BUCHBAUER, G. et al. Therapeutic properties of essential oíls and fragances. **American Chemical Society,** Washington, p. 159-165. 1992. (ACS Syposium Series, 525)

BULLERMAN, L. B.et al. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. **Journal of Food Science,** Chicago, v. 42, n. 6, p. 1107-1109, Nov./Dec. 1977.

CACCIONI, D. R. L.; GUIZZARDI, M. Inhibition of germination and growth of fruit and vegetable postharvest pathogenic fungi by essential oil components. **Journal of Essential Oil Reserch** Camberra, v. 6, n. 2, p. 173-179, 1994.

CACCIONI, D. R. L. et al. Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum.* **International Journal of Food Microbiology,** Washington, v. 43, p. 73–79, 1998.

CARVALHO, J. E. Atividade farmacológica e toxicológica de óleos essenciais. In: Simpósio brasileiro de óleos essenciais, II. Campinas. **Documento IAC,** 74, p. 13, 2003.

CHARLES, D. J.; SIMON, J. E. Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and and composition of basil. **Journal of American society of Horticultural Science,** Alexandria, n. 3, v. 115, p. 458-462, 1990.

CHARLTON, K. M. The sporulation of *A. Solani* in culture. **Transaction of the Bristich Mycological Society,** London, v. 36, p. 349-55, 1953.

CHOI, J. S.; PARK, C. S. Occurrence of major disease in vegetable growing under the furnished condition in southern part of Korea. **Korean Journal Plant Protection,** Seoul, v. 21, p. 153-8, 1982.

CIMANGA, K. et al. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology,** Tokyo, v. 79, p. 213–220, 2002.

COX, S. D. et al. The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil). **Journal Applied Microbiologi.** v. 88, p. 170 –175, 2000.

DAFERERA, D. J.et al. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp and *Clavibacter michiganensis* subsp.*michiganensis.* **Crop Protection**, v. 22, p. 39-44, 2003.

DATAR, V. V.; MAYEE, C. D. Assessment of losses in tomato yield due to early blight. **Indian Phytopathology,** v. 34, p. 191-5, 1981.

DEVI, S. B.et al. In vitro effect of lemongrass oil on the mycelial growth of *Rhizoctonia solani*. **Indian Phytopathology,** n. 4, v. 35, p. 714-6, 1982.

DELESPAUL, Q. et al. The antifungal activity of essential oils as determined by different screening methods. **Journal Essential Oil Research** Camberra, v. 12, p. 256 –266, 2000.

DIAZ CARRASCO, H., et al. Evaluation of experimental cultivars of tomato (*Lycopersicon esculentum*). **Inf. Cient. Téc. Inst. de Invest. Fund. Agric. Trop.,** Madri, v. 39, p. 31-33, 1977.

DORAN, J. C.; BROPHY, J. J. Tropical red gums: a source of 1,8-cineole-rich *Eucalyptus* oil. **New Forest,** Dordrecht, n. 4, p. 157-178, 1990.

DOROZHIN, N. A.; INVANYUK, V. G. Epiphytatics of dry leaf spot of potato and tomato. **Micol. y Fitopatol.,** Bologna, v. 13, p. 314-321, 1979.

DOUGLAS, D. R.; PAVEK, J. J. Screening potatoes for yield resistance to early blight. **American Potato Journal,** Orono, v. 49, p. 1-6, 1972.

DUARTE, M.; ALBUQUERQUE, F. C. Tomato disease in the Amazon region. **Fitotecnia,** México, v. 292, p. 9-34, 1971.

ELLIS, M. B. **Dematiaceous Hyphomycetes**. Kew, Commonwealth Mycological Institute, 1971. 608p.

ELLIS, J. B., MARTIN, G. B. *Macrosporium solani* . **American Nature,** Washington, v. 10, p. 1003, 1882.

FANCELLI, M. I. **Comparação patogênica, cultural, serológica e eletroforética entre isolados de *Alternaria solani* do tomate e da batata e variabilidade patogênica de *Alternaria solani* f. sp. *Lycopersici* N. F.** Piracicaba, 1991. 80p. (Doutorado/Fitopatologia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

FERNANDES, M. C. A. Emprego de métodos alternativos de controle de pragas e doenças na olericultura. In: CONGRESSO IBERO-AMERICANO SOBRE UTILIZAÇÃO DE PLÁSTICO NA AGRICULTURA, 2.; SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE PRODUÇÀO DE PLANTAS MEDICINAIS, AROMÁTICAS E CONDIMENTARES 1., 2000, São Pedro. Trabalhos... Brasília: SOB/FCAV-UNESP, 2000; **Horticultura Brasileira,** Brasília, v. 18, p. 110-112, 2000. Suplemento.

GARBOR, B.; WIEB, W. **Tomato disease**. London, Seminis, 1997. 62p.

HILI, P.; EVANS, C. S.; VENESS, R. G. Antimicrobial action of essential oils: the effect

of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. **Applied and Environmental Microbiology.** Washington, v. 24, p. 269–275, 1997.

HOOKER, W. J. **Compedium of potato diseases**. St. Paul: APS, 123p, 1981.

HONDA, Y.; YUNOK, Y. An action spectrum for photoindiced conidium formation in *A. Solani*. Ann. Phytopatol. Soc. Jpn., v. 47, p. 327-34, 1981.

JONES, J. B.; STALL, R. E.; ZITTER, T. A. **Compedium of tomato diseases**. St. Paul: APS, 1993. 73p.

KOMBRINK, E.; SOMSSICH, I. E. Defense responses of plants to pathogens. **Advences Botanical Research,** New York , v. 21, p. 1-34, 1995.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A**. Doenças do tomateiro** (*Lycopersicon esculentum* Mill.). In: KIMATI, H., AMORIN, L., BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L. E. A., REZENDE, J. A. M. (Eds.). **Manual de fitopatologia**: doenças das plantas cultivadas**.** 3. ed. São Paulo: Editora Ceres, v. 2, p. 690-719, 1997.

LUKENS, R. J. Conidial production from filter paper culture of *Helminthosporium vagans* and *Alternaria solani.* Phytopathology, v. 50, p. 867-8, 1960.

MAFFIA, L. A. et al. Doenças do tomateiro. **Informe Agropecuário.** Belo Horizonte, v. 6, p. 42-60, 1980.

MAIA, J. G. S. *et a*l. Espécies de *Piper* da Amazônia ricas em Safrol. **Química Nova**, São Paulo, v. 10, n. 3, p. 200-204, 1987.

MCCALLEY, D.; TORRES-GRIFOL, J. F. Analysis of volatiles in good and bad conditions by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. **Analyst.** Washington, v. 117, p. 721–725, 1992.

MCLAFFERTY, F. W. et al. **NBS Registry of Mass Spectral Data**. John Wiley Sons, New York, 1989.

MENDES FERRÃO, J. E. **Especiarias:** Cultura, tecnologia e comercio. Ministerio do Planejamento e da Administração Território/Secretaria de Estado da Ciencia e Tecnologia/ Instituto de Investigação Cientifica Tropical, Lisboa, 1993. 443 p.

MESSIAEN, C. et al. **Enfermedades de las hortalizas.** Madrid: Ediciones Mundi Prensa, 1995. 576 p.

MISRA, N. et al. Antifungal efficacy of essential oil of *Cymbopogon martinii* (lemon grass) against *Aspergillus*. **International Journal of Crude Drug Research.** Lisse, v. 26, n. 2, p. 73-6, 1988.

MISHRA, A. K.; DUBEY, N. K. Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. **Applied and Environmental Microbiology.** Washington, v. 60, p. 1101– 1105, 1994.

MIZUBUTI, E. S. G.; BROMMONSCHENKEL, S. H. Doenças causadas por fungos em tomateiro. **Informe Agropecuário,** Belo Horizonte, v. 18, p. 42-60, 1996.

MOREIRA, M. R. et al. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. **LWT.** London, v. 38, p. 565–570, 2005.

MONTES-BELMONT, R.; CARVAJAL, M. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. **Journal of Food Protection**. Ames, v. 61, p. 616–619, 1998.

MUCCIARELLI, M. et al. Effect of (+)-pulegone and other oil components of *Mentha* x *piperita* on cucumber respiration. **Phytochemistry**. Oxford, v. 57, p. 91-98, 2001.

NEELY, D. Laboratory and greenhouse procedures methods for evaluation fungicides, nematicides and bactericides. ***American*** **Phytopathology Society.** Minessota 1978, 140p.

NGUEFACK, J. et al. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. J. NGUEFACK et al. **International Journal of Food Microbiology**. Washington, xx (2004) xxx–xxx

NORMAN, S. et al. Volatiles from injured and uninjured Valencia oranges at different temperatures. **Journal Food Science,** Chicago, v. 32, p. 656–659, 1967.

NÜRNBERGER, T. et al. High affinity binding of a fungal oligopeptide elicitor to parsley plasma membranes triggers multiple defense responses. **Cell**. Cambridge, v. 78, p. 449-460, 1994.

NYCHAS, G. J. E. **Natural antimicrobials from plants**. In: G. W. GOULD. New methods of food preservation (p. 58±89). London: Blackie Academic Professional. 1995.

ONAWUNMI, G. O.; OGUNLANA, E. O. A study of the antibacterial activity of the essential oil of lemon grass (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.). **International Journal of Crude Drug Research.** Lisse, v. 24, n. 2, p. 64-8, 1986.

OUATTARA, B. et al. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. **International Journal of Food Microbiology.** Washington, v. 37, p. 155–162, 1997.

PALHANO, F. L. et al. Inactivation of *Colletotrichum gloeosporioides* spores by highhydrostatic pressure combined with citral or lemongrass essential oil. **International Journal of Food Microbiology**. Washington. xx (2004) xxx–xxx 6p. article in press

PANDIT, V. A.; SHELEF, L. A. Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to rosemary (*Rosmarinus officinalis*L.) **Food Microbiology**. London, v. 11, n. 1, p. 57-63, 1994.

PAULI, A.; KNOBLOCH, K. Inhibitory effects of essential oil components on growth of food-contamining fungi. **Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung**. Berlin, v. 185, p. 10– 13, 1987.

PIPER, P.et al. Weak acid adaptation: the stress response that confers resistance to organic acid food preservatives. **Microbiology.** Washington, v. 147, p. 2635–2642, 2001.

PONCE, A .G. et al. Antmicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. **Lebensmittel-Wissenschaft-Technologie,** London, v.36, p. 679 – 684, 2003.

PONCE, A. G. et al. Natural essential oils as reducingagents of peroxidase activity in leafy vegetables. **Lebensmittel-Wissenschaft-Technologie,** London, v.37, p. 199–204, 2004. Published by Elsevier Ltd.All rights reserved.

PRASAD, B.; DUTT, B. L. Inducing sporulation in *Alternaria solani*. **Review of Plant Pathology**, Oxon. v. 54, p. 156, 1975.

PRASHAR, A. et al. Antimicrobial action of palmarosa oil (*Cymbopogon martinii*) on *Saccharomyces cerevisiae*. **Phytochemistry,** Oxford, v. 63, p. 569 –575, 2003.

RECH, J. C. et al. Composição química do óleo essencial de Menta (Ítalo-Mitcham) cultivada no sul do Brasil e no Uruguai. **Horticultura Brasileira,** Brasília, v. 18. p. 1008-1009, 2000. Resumo expandido.

SAHOO, S.; DUTTA, P. K. Selection of high yielding palmarosa genotypes for the growth of palmarosa oil industries in the rural sector. **Indian Perfumer**. Kanpur, v. 26, n. 2-4, p. 41-5, 1982.

SAITO, M. D. L.; SCRAMIN, S. Plantas aromáticas e seu uso na agricultura. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, 48p, 2000. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 20).

SALGADO, A. P. S. P. et al. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum, Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciências Agrotécnicas.**, Lavras. v. 27, n. 2, p. 249-254, 2003.

SCHAUENBERG, P.; PARIS, F. **Guine to medicinal plants**. New Canaan: Keats Publishing, p. 256-257. 1977, 349 p.

SHAHIN, E. A.; SHEPARD, J. F. An efficient technique for inducing profuse sporulation of *Alternaria* species. **Phytopathology**. New York, v. 69, p. 618-20, 1979.

SHERF, A. F.; MACNAB, A. A. **Vegetable disease and their control**. Wiley Intercienc, 1986. 728 p.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 1999. 821 p.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. **Óleos voláteis**. In: SIMÕES. C. M. O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 2. ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Santa Catarina, 2000. p. 394-412.

SINGH, B. M. Inducing sporulation in different straing of *Alternaria solani.* **Mycopathology et Mycology Applied,** v. 31, p. 144-50, 1967.

SINGH, N. et al. Efficacy of chlorine dioxide,ozone and thyme essential oil or a sequential washing in killing E. coli O157:H on lettuce and baby carrots. **Lebensmittel - Wissenschaft &Technology.** London, v. 35, p. 720-729, 2002.

SINGH, H. N. P. et al. Efficacy of leaf extracts of some medicinal plants against disease development in banana. **Letters in Applied Microbiology**. Oxford, v. 17, n. 6, p. 269-271, Dec. 1993.

SINGH, R. S. et al. Response of Java citronella cultivars to nitrogen under Jorhat conditions. **Indian Perfumer**. Kanpur, v. 24, n. 4, p. 192-8, 1980.

SINGH, H. B. et al. Cinnamon bark oil, a potent fungitoxicant against fungi causing respiratory tract mycoses. **Allergy**. Copenhagen, v. 50 p. 995–999, 1995.

SMITH-PALMER, A. et al. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. **Letters in Applied Microbiology**. Oxford, v. 26, p. 118–122, 1998.

SOUZA, S. M. C. et al. Avaliação de óleos essenciais de condimentos sobre o desenvolvimento micelial de fungos associados a produtos de panificação. **Ciências Agrotécnicas**., Lavras, v. 28, n. 3, p. 685-690, maio/jun., 2004

STEVENSON, R. F.; PENNYPACKER, S. P. Effect of radiation, temperature and moisture on conidial germination of *Alternaria solani*. **Phytopathology**. New York, v. 78, p. 926-30, 1988.

SWEELAM, M. E. The potential use of some ornamental plants for nematode control (infecting tomato roots) in Egypt. **Bulletin of Faculty of Agriculture**. v. 40, n. 2, p. 391-8, 1990.

TASSOU, C. et al. Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. **Food Research International.** Stanford, v. 33, p. 273-280, 2000.

TELLO-MARQUINA, J. C.; VEGA, J. D. M. **Enfermedades no víricas del tomate.** In: NUEZ, F. (Coord*). El cultivo del tomate*. Madrid: Mundi-Prensa, 1995. p. 523-63.

TÖFOLI, J. G.; KUROZAWA, C. Efeito de três meios de cultura e duas temperaturas na produção de conídios de *Alternaria solani***. Summa Phytopatologica**, Botucatu, v. 19, p. 41, 1993.

TOKESHI, H.; CARVALHO, P. C. T. **Doenças do tomateiro**: *Lycopersicon esculentum* Mill. In: GALLI, F. (Coord.). Manual de fitopatologia. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1980. v. 2, p.511-552.

VALERO, M.; SALMERÓN, M .C. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. **International Journal of Food Microbiology**. Washington, v. 85, p. 73– 81, 2003.

VALE, F. X. R. et al. **Doenças causadas por fungos em tomate.** In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; COSTA, H. (Eds) Controle de doenças de plantas – hortaliça. Viçosa: UFV, 2000. , p. 699-755.

WALKER, J. C. **Patologia vegetal**. 2. ed. Barcelona: Omega, 1965. 818 p.

WILSON, C. L. et al. Rapid evaluation of plant extratic and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. **Plant Disease,** St. Paul, v. 81, n. 2, p. 204-210. 1997.

8 APÊNDICE

Tabela 8. Análise química do solo do local do experimento a campo. Botucatu, 2004.

pH	M.O	P	Al^{+3}	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V
$CaCl_2$	$g.kg^{-1}$	mg/d^{m3}		----------$mmol_c/dm^{-3}$----------						(%)
6,9	27	40	---	10	2,7	126	58	187	197	95

Micronutrientes				
Boro	Cobre	Ferro	Manganês	Zinco
----------$mg\ dm^{-3}$----------				
0,12	3,3	20	9,1	3,4

Tabela 9. Dados climáticos registrados na Fazenda Experimental Lageado no período de 17/10/2004 a 0/01/2005. Botucatu-SP, 2005.

DATA	T. máxima Dia (°C)	T. mínima Dia (°C)	Precipitação (mm)	U. Relativa (%)
17/10/04	16,2	23,4	9,2	66
18/10/04	17	26	6,7	68
19/10/04	17,8	24,6	0	67
20/10/04	13,2	23,2	0	59
21/10/04	12,6	25,4	0	56
22/10/04	15,2	26,6	0	57
23/10/04	17,4	23,4	5,5	58
24/10/04	17,8	21,2	9,5	59
25/10/04	18,2	22	15,5	62
26/10/04	16	26,8	0	59
27/10/04	15	28	0	47
28/10/04	13	23,2	0	52
29/10/04	11,6	27,8	0	60
30/10/04	16	30,4	0	53
31/10/04	21,6	31	0	49
01/11/04	17,8	26,4	0	61
02/11/04	16,8	30,2	0	62
03/11/04	18	31,4	11	54
04/11/04	18,2	26	1	57
05/11/04	18,6	27	0	58
06/11/04	20,4	29	0	58
07/11/04	15,4	20,6	0	61
08/11/04	14,2	25,6	0	63
09/11/04	15,4	29,4	0	57
10/11/04	17	30,2	33	53
11/11/04	18,8	22,2	1,7	59
12/11/04	14,8	24,8	0	49
13/11/04	14,4	25,6	0	45
14/11/04	14,2	26,8	0	51
15/11/04	15,8	25,2	7,5	60
16/11/04	17,4	21,8	2	64
17/11/04	19	25	6,5	64
18/11/04	18,8	25,6	3,7	64
19/11/04	18,6	25	9,2	64
20/11/04	16	25,8	0	61
21/11/04	13,6	25	0	53
22/11/04	13	26,4	0	52
23/11/04	14,8	29,4	0	47

Continua.....

Tabela 9. Continuação

DATA	T. máxima Dia (°C)	T. mínima Dia (°C)	Precipitação (mm)	U. Relativa (%)
24/11/04	17,6	31,4	0	43
25/11/04	20	32,6	0	39
26/11/04	20,4	32,4	0	41
27/11/04	21,4	30,6	1	47
28/11/04	19	27	12,5	56
29/11/04	17,6	26,2	0	59
30/11/04	15,4	26,6	0	57
01/12/04	15,8	27,8	0	57
02/12/04	17	27,6	0	60
03/12/04	17,2	25	3	67
04/12/04	18	31,2	4	58
05/12/04	17,8	30,2	0	50
06/12/04	20,4	31	1,5	53
07/12/04	19,4	28,2	0	56
08/12/04	18,8	27,4	9,5	57
09/12/04	18,8	25	4,7	58
10/12/04	17,4	24,4	2,2	58
11/12/04	15,8	24,6	0	56
12/12/04	15	25,4	0	54
13/12/04	14,2	28,6	0	48
14/12/04	18	29,4	0	42
15/12/04	15,8	32	0	43
16/12/04	18,8	31,2	0	43
17/12/04	21	30,4	15,5	43
18/12/04	18	28,2	3,2	43
19/12/04	19,4	29	46,7	43
20/12/04	19,6	29,6	13,5	51
21/12/04	17,8	21,2	2,7	54
22/12/04	15	20	20,3	54
23/12/04	14,2	21	0	54
24/12/04	16,2	27,6	0	53
25/12/04	17	29,6	9,3	52
26/12/04	19	23	10,3	54
27/12/04	17,8	27,6	0	55
28/12/04	18,2	29,4	0	48
29/12/04	17,8	31	0	43
30/12/04	18,6	32,2	0	41
31/12/04	20	31,2	11,5	43

Continua.....

Tabela 9. Continuação**.**

DATA	T. máxima Dia (°C)	T. mínima Dia (°C)	Precipitação (mm)	U. Relativa (%)
01/01/05	19,6	31	0	43
02/01/05	18,8	30,4	0	43
03/01/05	18,6	27	26	53
04/01/05	18,4	22,4	9,7	56
05/01/05	19	25,2	11	56
06/01/05	19,8	27	0	56