



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO FITOTECNA
MESTRADO EM FITOTECNIA

PEDRO DUARTE FERREIRA NETO

**EFEITO FUNGITÓXICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia gracilis* SOBRE
*Alternaria spp.***

MOSSORÓ-RN

2016

PEDRO DUARTE FERREIRA NETO

**EFEITO FUNGITÓXICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia gracilis* SOBRE
Alternaria spp.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da UFERSA, como parte das exigências do Programa para obtenção do título de mestre em Fitotecnia.

Orientador: D. Sc. Rui Sales Junior

Mossoró

2016

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)
Setor de Informação e Referência (SIR)

F349e	Ferreira Neto, Pedro Duarte . EFEITO FUNGITÓXICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Lippia gracilis</i> SOBRE <i>Alternaria</i> spp. / Pedro Duarte Ferreira Neto. - 2016. 44 f. : il. Orientador: Rui Sales Júnior. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, 2016. 1. Mamoeiro. 2. Alternariose. 3. Temperatura. 4. Controle alternativo. 5. Inoculação. I. Sales Júnior, Rui , orient. II. Título.
-------	---

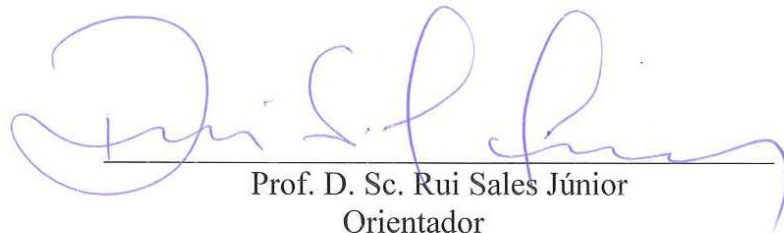
Bibliotecário-Documentalista
Nome do profissional, Bib. Me. (CRB-15/10.000)

PEDRO DUARTE FERREIRA NETO

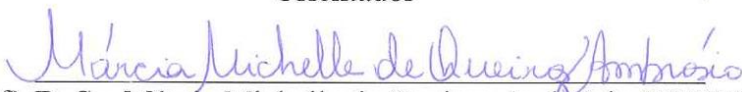
**EFEITO FUNGITÓXICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia gracilis* SOBRE
Alternaria spp.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da UFERSA, como parte das exigências do Programa para obtenção do título de mestre em Fitotecnia.

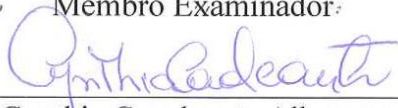
APROVADA EM: 24 / 05 / 2016.



Prof. D. Sc. Rui Sales Júnior
Orientador



Prof.^a D. Sc. Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio (UFERSA)
Membro Examinador



Prof.^a D. Sc. Cynthia Cavalcante Albuquerque (UERN)
Membro Examinador

*Á minha mãe Zilmar Vieira pelo amor e apoio
em todas as etapas da minha vida*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me conduzido em seus braços e nas horas mais difíceis ter me amparado e ter me dado força e coragem para prosseguir.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia pela oportunidade de ampliar os meus conhecimentos ao cursar o mestrado.

Agradeço à CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Agradeço à Universidade Federal Rural do Semi-árido por todo o conhecimento adquirido desde a graduação.

Ao Professor D. Sc. Rui Sales Júnior pela orientação e por toda a ajuda que me foi dada durante o curso de mestrado.

Às Professoras D. Sc. Cynthia Cavalcante de Albuquerque e D. Sc. Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio pelas contribuições em nosso trabalho de dissertação.

Aos queridos amigos da UFERSA Clara, Kênnia, Diêgo, Thomaz, Alfredo, Naama, Rayssa, Dárcio, Rydley, Ana Paula, Kaline e Ricardo, por todo o apoio nos momentos de dificuldade e por serem mais que colegas de trabalho, mas verdadeiros amigos.

À empresa Dina Dinamarca pelo apoio que me foi dado durante a realização da pesquisa.

À querida amiga Andréia Mitsa por ter sido mais que uma amiga e colega de trabalho, apoiando-me nas horas de dificuldade, e por ter me acrescentado muito em conhecimentos durante esses dois anos do curso de mestrado.

À minha amada mãe Zilmar Vieira por sempre estar ao meu lado em todos os momentos da minha vida e por ser minha grande incentivadora.

RESUMO

FERREIRA NETO, Pedro Duarte. **Efeito fungitóxico do óleo essencial de *Lippia gracilis* sobre *Alternaria* spp.** 2016. 47f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2016.

O fungo *Alternaria alternata* vem causando sérios problemas durante a exportação de frutos de mamão (*Carica papaya* L.). Diante desse problema é necessária a adoção de medidas de controle alternativas, como o uso de óleos essenciais. Então o objetivo desse estudo foi testar a eficácia do óleo de *Lippia gracilis* no controle de *Alternaria* spp.. Os experimentos foram desenvolvidos no laboratório de Fitopatologia II da Universidade Federal Rural do Semi-Árido. No ensaio de temperatura foi avaliado o crescimento de *Alternaria* spp. nas temperaturas de 20°C, 25°C, 30°C e 35°C. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 21x4, sendo quatro temperaturas e 21 isolados de *Alternaria* spp., com quatro repetições. Observou-se nesse ensaio que a temperatura de 25°C proporcionou um maior crescimento micelial da colônia com média de 0.66 cm. No ensaio do efeito fungitóxico do óleo de *Lippia gracilis* sob o crescimento de *Alternaria* spp. *in vitro* e *in vivo*, foi avaliado o efeito inibitório de diferentes doses do óleo essencial de *Lippia gracilis* (0 $\mu\text{L L}^{-1}$, 250 $\mu\text{L L}^{-1}$, 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ e 750 $\mu\text{L L}^{-1}$), contando ainda com um fungicida registrado para a cultura para controle de *Alternaria* spp. o Sportak (750 $\mu\text{L L}^{-1}$). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 21x5, sendo 4 doses de óleo essencial de *Lippia gracilis*, 21 isolados de *Alternaria* spp. e o fungicida Sportak em 4 repetições. Para o experimento *in vivo*, também foi avaliado o efeito inibitório de diferentes doses do óleo essencial de *Lippia gracilis* (0 $\mu\text{L L}^{-1}$, 250 $\mu\text{L L}^{-1}$, 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ e 750 $\mu\text{L L}^{-1}$), contando com ainda um fungicida registrado para a cultura para controle de *Alternaria* spp. o Sportak (750 $\mu\text{L L}^{-1}$) em 4 repetições. Observou-se o efeito fungitóxico do óleo essencial de *Lippia gracilis* nas doses de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ e 750 $\mu\text{L L}^{-1}$ inibindo 100% do crescimento do fungo. No experimento *in vivo*, observou-se que doses a partir de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$, resultaram numa inibição de 100% do crescimento micelial do fungo. Concluindo que o óleo essencial de *Lippia gracilis* pode ser usado no controle de fungos, aumentando a vida útil pós-colheita do fruto de mamão e reduzindo o uso de fungicidas sintéticos.

Palavras-chaves: Mamoeiro, Alternariose, Temperatura, Controle alternativo, Inoculação.

ABSTRACT

FERREIRA NETO, Pedro Duarte. **Efeito fungitóxico do óleo essencial de *Lippia gracilis* sobre *Alternaria* spp.**. 2016. 47f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2016.

Alternaria alternaria is causing serious problems for the export of papaya fruit (*Carica papaya* L.). In view of this problem it is necessary to adopt alternative control measures such as the use of essential oils. So the aim of this study was to test the effectiveness of *Lippia gracilis* oil in control of *Alternaria* spp.. The experiments were conducted in the laboratory of Phytopathology II of the Universidade Federal Rural do Semi-Árido. In the test temperature was evaluated growth of *Alternaria* spp. at temperatures of 20°C, 25°C, 30°C and 35°C. The experiment was conducted in a completely randomized design in a 21x4 factorial, four temperatures and 21 isolates of *Alternaria* spp., With four replications. It was observed in this assay at 25 ° C gave a higher mycelial colony growth with an average of 0.66 cm. In the test the antifungal effect of *Lippia gracilis* oil under the growth of *Alternaria* spp. *in vitro* and *in vivo*, we measured the inhibitory effect of different essential oil dose *Lippia gracilis* (0 uL L-1, 250 uL L-1, 500 uL L-1 and 750 uL L-1), with still a fungicide registered to culture for control of *Alternaria* spp. The Sportak (750 uL L-1). The experiment was conducted in a completely randomized design in a factorial 21x5, 4 doses of essential oil of *Lippia gracilis*, 21 isolates of *Alternaria* spp. and Sportak fungicide in 4 repetitions. For *in vivo* experiment was also evaluated the inhibitory effect of different essential oil dose *Lippia gracilis* (0 uL L-1, 250 uL L-1, 500 uL L-1 and 750 uL L-1), with still a registered fungicide for culture to control *Alternaria* spp. The Sportak (750 uL L-1) in 4 repetitions. It was observed that the antifungal effect of essential oil from *Lippia gracilis* at doses of 500 uL L-1 and 750 uL L-1 inhibits 100% of fungal growth. In *in vivo* experiment, it was found that doses from 500 uL L-1 resulted in 100% inhibition of mycelial fungus growth. Concluding that the essential oil of *Lippia gracilis* can be used for controlling fungi, increasing the shelf-life of the papaya fruit and reducing the use of synthetic fungicides.

Keywords: Mamoeiro, Alternariose, Temperature, Alternative control, inoculation.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Lesões provocadas pelo fungo *Alternaria* spp. em frutos de mamoeiro. Mossoró, 2015..... 16
- Figura 2 – Conídios de *Alternaria* spp..... 17
- Figura 3 – Estruturas moleculares do Timol e Carvacrol.....21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Resumo da análise de variância para crescimento micelial de <i>Alternaria</i> spp. Mossoró-RN, UFERSA, 2015.....	22
Tabela 2	– Resumo da análise de variância para crescimento micelial de <i>Alternaria</i> spp. Mossoró-RN, UFERSA, 2015.....	26
Tabela 3	– Média do crescimento micelial de <i>Alternaria</i> spp. em diferentes temperaturas de incubação <i>in vitro</i> . Mossoró-RN, UFERSA, 2015.....	27
Tabela 4	– Médias do crescimento micelial de <i>Alternaria</i> spp. em diferentes temperaturas. Mossoró-RN, UFERSA, 2015.....	28
Tabela 5	– Resumo da análise de variância para porcentagem de inibição de crescimento micelial de <i>Alternaria</i> spp. Mossoró-RN, UFERSA, 2015.....	30
Tabela 6	– Média da porcentagem de inibição do crescimento micelial de <i>Alternaria</i> spp. utilizando diferentes produtos para controle <i>in vitro</i> . Mossoró-RN, UFERSA, 2015.....	30
Tabela 7	– Médias da porcentagem de inibição do crescimento micelial de <i>Alternaria</i> spp. quando utilizados diferentes produtos para o controle. Mossoró-RN, UFERSA, 2015.....	31
Tabela 8	– Resumo da análise de variância para porcentagem de inibição de crescimento micelial de <i>Alternaria</i> spp. Mossoró-RN, UFERSA, 2016.....	33
Tabela 9	– Média da porcentagem de inibição do crescimento micelial de <i>Alternaria</i> spp. utilizando diferentes produtos para controle <i>in vivo</i> . Mossoró-RN, UFERSA, 2016.....	33

Tabela 10	– Médias da porcentagem de inibição do crescimento micelial de <i>Alternaria</i> spp. quando utilizados diferentes produtos para o controle <i>in vivo</i> . Mossoró-RN, UFERSA, 2016.....	34
Tabela 11	– Resumo da análise de variância para a profundidade da lesão causada por <i>Alternaria</i> spp. Mossoró-RN, UFERSA, 2016.....	35
Tabela 12	– Média da profundidade da lesão, utilizando diferentes produtos para controle <i>in vivo</i> . Mossoró-RN, UFERSA, 2016.....	36
Tabela 13	– Médias da profundidade da lesão quando utilizados diferentes produtos para o controle <i>in vivo</i> . Mossoró-RN, UFERSA, 2016.....	37

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	133
2. REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A CULTURA DO MAMOEIRO	15
2.2. DOENÇAS PÓS-COLHEITA DO MAMÃO	16
2.3. GÊNERO <i>Alternaria</i> spp.	17
2.4. ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE FUNGOS.....	18
2.5. GÊNERO <i>Lippia</i>	19
2.6. COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Lippia gracilis</i>	20
3. MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1. OBTENÇÃO DOS ISOLADOS	22
3.2. OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Lippia gracilis</i>	23
3.3. INFLUENCIA DE DIFERENTES TEMPERATURAS NO CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>Alternaria</i> sp.....	23
3.4. EFEITO FUNGITÓXICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE LIPPIA GRACILIS SOB O CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>Alternaria</i> spp. <i>in vitro</i>	24
3.5. EFEITO FUNGITÓXICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE LIPPIA GRACILIS SOB O CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>Alternaria</i> spp. <i>in vivo</i>	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1. INFLUENCIA DE DIFERENTES TEMPERATURAS NO CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>Alternaria</i> spp.....	26
4.2. EFEITO FUNGITÓXICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Lippia gracilis</i> SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>Alternaria</i> spp. <i>in vitro</i>	29
4.3. EFEITO FUNGITÓXICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Lippia gracilis</i> SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>Alternaria</i> spp. <i>in vivo</i>	32
5. CONCLUSÕES	3838
REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	39

1. INTRODUÇÃO

Devido ao substancial aumento no consumo mundial de frutas por parte da população, a sua produção vem se destacando em relação aos demais itens de produção vegetal. Nesse cenário o Brasil desponta como o terceiro maior produtor de frutas do mundo, com uma produção de mais de 43 milhões de toneladas (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2014).

A atividade frutícola apresenta uma grande participação na economia brasileira, principalmente nas suas exportações, que em 2013 apresentou um montante de aproximadamente 711 milhões de toneladas de frutas "in natura" (IBGE, 2014). Bem como na participação direta na geração de empregos e fixação do homem no campo, sendo responsável por 27% da mão-de-obra do país (FACHINELLO *et al.*, 2011). Dentre as várias frutas que tem expressiva produção no Brasil, o mamão (*Carica papaya* L.) ocupa a sexta posição no "ranking" das frutas mais produzidas no país, apresentando uma área plantada de 32.9 mil hectares e uma produção de mais de 1.500.000 toneladas em 2013 (IBGE, 2014).

Apesar da expressividade econômica na produção de mamão, existem fatores que acometem a sua qualidade, principalmente na ordem fitossanitária, destacando os fitopatógenos como principais responsáveis por severas perdas nesta cultura. Dentre os fitopatógenos que causam doenças no mamoeiro, podemos dar ênfase aos fungos que causam danos no fruto após a colheita. O fungo *Alternaria alternata* (Fries) Keissler é um exemplo de fungo fitopatogênico que causa sérios danos ao mamoeiro, sendo o agente causal da mancha-de-alternaria.

Para controlar este fungo, o principal tratamento utilizado pelos produtores é a base de fungicidas. Não obstante, seu uso de forma intensiva, pode ocasionar problemas ambientais de contaminação de solo e lençol freático, bem como induzir resistência de fungos a fungicidas.

Sendo assim, estudos vêm sendo realizados visando o controle alternativo de doenças. Dentre eles destacamos o uso de óleos essenciais, que são compostos por misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas (VITTI, BRITO, 2003; SIMÕES, SPITZER, 2007) e que possuem efeito antimicrobiano.

O gênero botânico *Lippia* é um exemplo que inclui plantas de uma família que reúne um grande número de indivíduos ricos em óleos essenciais. Entre as espécies que pertencem a esse gênero, *L. gracilis* Schauer tem se destacado por seu óleo essencial apresentar uma expressiva atividade fungicida.

O óleo essencial obtido de suas folhas é constituído de timol e carvacrol, que são dois monoterpenos fenólicos que proporciona atividade antimicrobiana, podendo ser extraído das folhas secas ou frescas apresentando um forte odor e sabor aromático picante (CRAVEIRO, 1981).

Estudos realizados por Oliveira *et al.* (2008) evidenciaram a possibilidade de utilização de óleos essenciais de *Lippia* como controle alternativo de *Aspergillus niger* Vna Tieghem, *Penicilium* spp., *fusarium* spp. e *Fusarium oxysporum* Schlecht. sp. *cubenses* (E. F. Smith) Snyd e Hans.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia do óleo essencial de *L. gracilis* no controle de *Alternaria* spp., isolada de frutos de mamoeiro, “*in vitro*” e “*in vivo*”.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2. 1. Considerações gerais sobre a cultura do mamoeiro

O Brasil destaca-se no mercado internacional como um dos maiores produtores de frutas no mundo (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2014). O mamão (*Carica papaya* L.), que está cada vez mais presente na mesa do brasileiro, é uma planta pertencente à família Caricaceae, a qual está dividida em cinco gêneros, com 30 espécies: *Carica* (21 espécies), *Jacaratia* (6 espécies), *Cylicomorpha* (2 espécies) e *Jarilla* (1 espécie). Sendo originário do continente americano, o mamão é um fruto rico em vitamina C, carotenóides pró-vitamina A (β -caroteno) e licopeno (CENTEC, 2004; BARI, 2006; TODA FRUTA, 2006).

O mamoeiro é uma planta herbácea, perene e que apresenta um rápido crescimento. Seu porte pode variar de 3 a 8 metros de altura (SALOMÃO et al., 2007). Apresenta flores femininas, masculinas e hermafroditas, sendo dividido em dois grupos: Solo e Formosa. O grupo Solo é caracterizado por produzir frutos de tamanho pequeno e por ter uma produtividade média de 50 t/ha, enquanto que os híbridos do grupo Formosa apresentam tamanho um pouco maior, em média, 900g, além de terem uma produtividade de aproximadamente de 70 t/ha (LUNA, 1986; CENTEC, 2014).

No Brasil observa-se uma maior procura no mercado de frutas por duas variedades do grupo Solo: ‘Sunrise solo’ e Improved Sunrise solo cv. ‘72/12’ e dos híbridos do grupo Formosa ‘Tainung N° 1’ e ‘Tainung N° 2’.

Dentre os principais estados produtores e exportadores de mamão do Brasil, destacamos como o maior produtor brasileiro o Estado da Bahia com uma produção de 719 mil toneladas e área plantada de 12.132 ha em 2013. O Estado do Espírito Santo vem em segundo lugar com uma produção de 405 mil toneladas em 5.974 ha de área plantada. O Estado do Rio Grande do Norte com uma produção de 70 mil toneladas em uma área de 2.200 ha, se apresenta como 5º maior produtor do País, ficando atrás dos Estados de Minas Gerais e Ceará (PAM, 2013). No que refere a exportação, o Espírito Santo se destaca como o maior exportador do Brasil (12.911 t), seguido do Rio Grande do Norte (7.156 t) (ANUÁRIO DA FRUTICULTURA, 2015).

2.2. Doenças pós-colheita do mamão

Muitas são as doenças que acometem o mamoeiro, com destaque especial para as de pós-colheita ocasionadas por fungos fitopatogênicos, que podem levar a perdas superiores a 90% da produção (VENTURA et al., 2003).

Dos vários fungos que causam danos ao fruto do mamoeiro, podemos enfatizar: *Colletotrichum* spp., que é responsável por uma das principais doenças pós-colheita do mamoeiro, além de outros fitopatógenos como: *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl, *Stemphyllium lycopersici* (Enjoji) W. Yamamoto, *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb. ex Fr.) Vuill., *Fusarium* spp. e *Alternaria alternata* (Fries) Keissler (VENTURA et al., 2003; KIMATI, 1995). Sendo este último fitopatógeno um dos problemas emergentes nesta cultura nos agropolos produtores no Rio Grande do Norte (Assú-Mossoró e Chapada do Apodi) e Ceará (Baixo Jaguaribe)

O fungo *Alternaria alternata* (Fries) Keissler é o agente causal da doença chamada mancha-de-alternaria, caracterizada por lesões circulares a ovais negras e cobertas por uma massa de conídios pretos ou micélios brancos do patógenos (Figura 1) (VENTURA, 2003). Estudos recentes para confirmação da etiologia de fungo comprovaram que *A. alternata*, surgiu como uma nova doença no mamoeiro, a queima-de-alternaria (VIANA et al., 2014).



FIGURA 1- Lesões provocadas pelo fungo *Alternaria* spp. em frutos de mamoeiro. Mossoró, 2015. Arquivo pessoal.

2.3. Gênero *Alternaria* spp.

O gênero *Alternaria* spp., descrito por Ness (1816) é composto por fungos anamórficos que apresentam conídios de forma variável, geralmente individuais e raramente catenulados, retos ou ligeiramente curvos, com corpo oblongo ou elipsoidal que se afina em direção ao ápice, formando um bico comprido, sinuoso e ocasionalmente ramificado (TÖFOLI et al., 2015). Estes, geralmente, apresentam coloração marrom a dourado médio (Figura 2). Os conídios, por sua vez são inseridos em conidióforos septados retos ou sinuosos que ocorrem isolados ou em grupos. Os fungos desse gênero sobrevivem em restos de cultura infectados, e hospedeiros intermediários, podendo sobreviver ainda em sementes e até em equipamentos agrícolas. Os fungos do gênero *Alternaria* spp., são morfológicamente heterogêneos e podem diferenciar-se quanto a cor do micélio, produção de pigmentos em meio de cultura sintético e, ainda, quanto a agressividade (TÖFOLI; DOMINGUES, 2015).



FIGURA 2 – Conídios de *Alternaria* spp. (TÖFOLI et al., 2015).

Uma vez ocorrida à dispersão dos conídios e havendo condições ambientais favoráveis: umidade e temperaturas ideais (25 a 32°C), estes germinam e infectam os frutos, geralmente, através de ferimentos ou aberturas naturais. Esse, por sua vez, invade os tecidos do hospedeiro, provocando alterações em diversos processos fisiológicos, em frutos os danos se tornam mais evidentes durante a maturação. Em condições de laboratório as lesões já podem ser verificadas após 24 horas de sua infecção (TÖFOLI et al., 2015).

Além de ocasionar doenças no mamoeiro, o fungo *Alternaria* spp. pode causar danos em diversas culturas como: tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), batata (*Solanum tuberosum* L.), berinjela (*Solanum melongena* L.), cenoura (*Daucus carota* L.), entre outras (TÖFOLI et al., 2015).

Quanto às formas de controle, pode-se citar o controle cultural, realizado através do plantio de mudas e sementes sadias e, ainda, fazer uma adubação equilibrada. Pode-se mencionar, ainda, o controle químico que é um dos mais utilizados no controle de doenças de plantas. Para o controle de *Alternaria* spp. em mamoeiro, utiliza-se o fungicida Sportak[®], que é registrado para a cultura. Porém este fungicida está com o uso proibido no Brasil, fazendo com que os produtores procurem medidas alternativas para o controle da doença (TÖFOLI et al., 2015).

2.4. Óleos essenciais no controle de fungos

O uso de fungicidas vem ocasionando inúmeros problemas no Brasil, como a contaminação dos alimentos e do solo por resíduos químicos, a intoxicação de agricultores, a resistência de fungos fitopatogênicos, entre outros problemas ambientais (WIT et al., 2009; KORBES et al., 2010). Com isso, vários estudos vêm sendo realizados para o desenvolvimento de produtos que sejam tão eficientes quanto os fungicidas sintéticos e que sejam mais seguros para o homem e o meio ambiente.

Os óleos essenciais extraídos de vegetais são considerados fontes para o desenvolvimento de novos produtos naturais (STANGARLIN et al., 1999). Os mesmos têm sido estudados para o desenvolvimento de produtos alternativos no controle de fitopatogênicos. Souza Júnior et al. (2009) em estudos utilizando a parte aérea das plantas *L. sidoides* Cham, *Ocimum gratissimum* L., *L. citriodora* L., *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. e *Psidium guayava* L. var. *pomifera*, concluíram que os óleos essenciais destas espécies vegetais tiveram efeito sobre a germinação dos conídios de *C. gloeosporioides* (Penz.) Sacc., com inibição de até 100%.

Oliveira et al. (2008), destacou que o óleo essencial de *L. gracilis* controlou fungos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium*. Silva (2008), ao testar os óleos essenciais de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), alho (*Allium sativum* L.), canela (*Cinnamomum zeylanicum* J.Presl), cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry), erva-doce (*Pimpinella*

anisum L.), manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), menta (*Mentha* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.) sobre o fungo *C. gloeosporioides* em mamão, observou que os óleos essenciais destes condimentos, apresentaram efeito positivo no controle de *C. gloeosporioides*, com destaque para o óleo de menta.

2.5. Gênero *Lippia*

O gênero *Lippia* encontra-se presente em países da América do Sul e central e possui mais de 200 espécies de plantas arbustivas e pequenas árvores (PASCUAL et.al., 2001; TERBLANCHÉ et.al., 1996). No Brasil, o gênero *Lippia* apresenta-se como uma planta aromática endêmica do Nordeste, com um número superior à 120 espécies (OLIVEIRA et. al., 2006).

Dentro desse gênero podemos destacar a espécie *L. gracilis* Schauer, a qual se encontra amplamente disseminada no nordeste brasileiro e é conhecida como alecrim-da-chapada ou alecrim-de-serrote. Apresenta-se na forma de arbusto com folhas pequenas e flores brancas. As folhas dessa espécie são ricas em óleo essencial que apresentam atividade antimicrobiana (MONTE et al., 1992).

A atividade antimicrobiana da mesma é caracterizada pela presença dos compostos químicos timol e carvacrol, que juntos conferem ao óleo essencial uma ação antifúngica, bactericida, fungicida, moluscicida e larvicida. É importante lembrar que a composição dos óleos essenciais pode variar em função de fatores bióticos e abióticos (OLIVEIRA et al., 2008; SOUZA, et al., 2011).

Silva et al. (2013) avaliando o efeito de compostos voláteis dos óleos essenciais de *L. sidoides* e *L. gracilis* em diferentes concentrações, na inibição do crescimento micelial de *R. solani* J. G. Kühn, verificaram a eficiência dos dois óleos essenciais na inibição do crescimento micelial do mesmo. Comprovando assim, a ação positiva do óleo de *L. gracilis* no controle de fitopatógenos, o que o torna como uma possível medida de controle alternativa e eficiente.

2.6. Composição do óleo essencial de *Lippia gracilis*

Os principais componentes do óleo essencial (OE) de *L. gracilis* são o timol e carvacrol, que conferem ação antimicrobiana. Alguns estudos demonstram a porcentagem desses componentes no óleo essencial de *L. gracilllis* onde o timol apresenta uma concentração de 4,9 a 10,3% e carvacrol, aparece como componente majoritário, com uma concentração de 73,9 a 77% (SANTOS, 2014); ainda, segundo Lorenzi e Matos (2002) cerca de 2% do OE de *L. gracilllis* é composto de timol e carvacrol.

O carvacrol e o timol são fenóis que são biosintetizados nas plantas através do γ -terpineno e p-cimeno (BASER E DEMIRCI, 2007).

O timol, cuja nomenclatura química é 5-metil-2-(1-metiletil)-fenol, é uma substância pouco solúvel em água e possui odor aromático e é encontrado abundantemente em plantas do gênero *Lippia*. O carvacrol, é um isômero de posição do timol, denominado 2-metil-5-(1-metiletil)-fenol, possui característica pungente e odor aromático e é pouco solúvel em água (NEVES, 2009).

Sabendo-se que estes compostos apresentam atividade antimicrobiana, estudos foram realizados para verificar a ação do timol e carvacrol sobre fungos. Romero et al. (2009), observaram que os compostos carvacrol e o timol que apresentam a capacidade em causar danos à membrana citoplasmática, levando os fungos a morte. Em trabalhos anteriores, Juven et al. (1994), conseguiram explicar essa capacidade de causar danos a membrana, que se dá através de ligações que o timol e o carvacrol podem realizar por meio de suas hidroxilas com os grupos amina e hidroxilamina de proteínas presentes nas membranas, ocasionando uma alteração da permeabilidade das membranas dos fungos, fazendo com que aconteça a liberação do conteúdo celular.

Chavan et al. (2014), ao estudar a ação antimicrobiana de timol e carvacrol sobre leveduras naturais encontradas em uvas, *Metchnikowia pulcherrima*, *Torulasporea delbrueckii* Lindner, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Dekkera bruxellensis* Kufferath and von Laer, *Schizosaccharomyces pombe* Lindner e *Debaryomyces hansenii* (Zopf) Lodder & Kreger-van Rij, verificaram, com marcações de iodeto de propídio, que a ação antimicrobiana destes compostos se deve a ocorrência de danos à membrana e a redução do ergosterol da membrana celular.

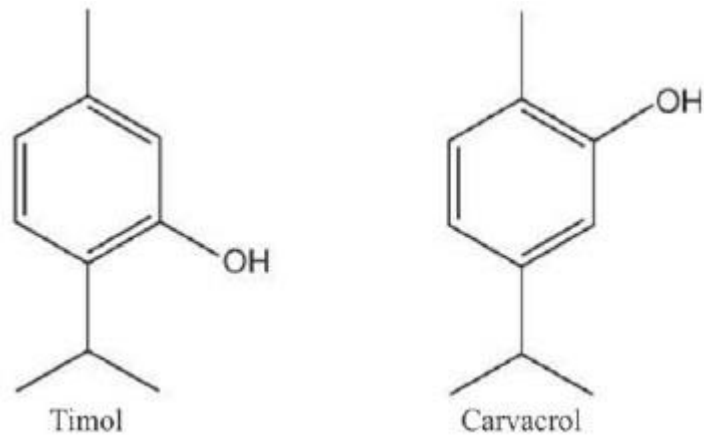


FIGURA 3 – Estruturas moleculares do Timol e Carvacrol

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Obtenção dos isolados

Os isolados de *Alternaria* spp. foram obtidos mediante isolamento de lesões fúngicas presentes em frutos infectados em meio BDA, acrescido de antibiótico. Os frutos foram coletados em três áreas comerciais produtoras de mamão localizadas na zona rural dos municípios de Mossoró (5° 11' 16" S; 37° 20' 38" O), Baraúna (5° 4' 48" S, 37° 37' 1" O) e Ipanguassú (5° 29' 52" S, 36° 51' 18" O) no Estado do Rio Grande do Norte. O clima predominante nos municípios produtores segundo a classificação de Köppen é "BSwh", seco e muito quente, com duas estações climáticas: uma seca que vai geralmente de junho à janeiro e uma chuvosa, de fevereiro à maio (CARMO FILHO; OLIVEIRA, 1995). No total foram selecionados 21 isolados dessas áreas, sendo 8, 3 e 10, respectivamente (TABELA 1).

Tabela 1 – Local de coleta dos isolados de *Alternaria* spp. Mossoró-RN, UFERSA, 2015.

<i>Isolado</i>	<i>Local de coleta</i>
D1	Mossoró
D2	Mossoró
D3	Mossoró
D4	Mossoró
D5	Mossoró
D6	Mossoró
D7	Mossoró
D8	Mossoró
B1	Baraúna
B2	Baraúna
B3	Baraúna
I1	Ipanguaçu
I2	Ipanguaçu
I3	Ipanguaçu

I4	Ipanguaçu
I5	Ipanguaçu
I6	Ipanguaçu
I7	Ipanguaçu
I8	Ipanguaçu
I9	Ipanguaçu
I10	Ipanguaçu

Posteriormente foi realizada a purificação dos isolados, mediante cultivo monospórico em meio ágar-água (AA). O mesmo foi realizado mediante o auxílio de uma lupa 40X. Sendo este cultivo realizado posteriormente em placa Petri contendo meio BDA, para a obtenção do isolado purificado.

3.2. Obtenção do óleo essencial de *Lippia gracilis*

O óleo essencial de *L. gracilis* foi obtido diretamente das folhas verdes da planta utilizando o método da hidrodestilação. Processo muito comum para a extração de óleo essencial de folhas. O mesmo foi realizado no laboratório de Ciências Biológicas da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte. Através desse método de extração, estimou-se um rendimento médio de 1,84% de óleo essencial para uma amostra de 100 gramas de folha verde.

3.3. Influência de diferentes temperaturas no crescimento micelial de *Alternaria* spp.

O presente ensaio foi realizado no Laboratório de Fitopatologia II da Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Para avaliação do crescimento micelial de *Alternaria* spp., foram repicados para placa de Petri, contendo meio de cultura BDA, discos de três milímetros de diâmetro do fungo. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 21x4, sendo 21 isolados de *Alternaria* spp. em quatro temperaturas (20, 25, 30 e 35°C), com quatro repetições. As placas foram acondicionadas em estufa tipo B.O.D. (Demanda Biológica de Oxigênio) por 10 dias.

As avaliações foram realizadas diariamente, medindo o crescimento micelial do fungo através dos diâmetros longitudinal e transversal com auxílio de paquímetro digital, até o 10º dia. Momento em que o primeiro isolado completou o crescimento tomando toda a placa Petri. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa “Assistat”, através do teste de médias de Scott knott, ao nível de significância de 1% de probabilidade.

3.4. Efeito fungitóxico do óleo essencial de *lippia gracilis* sob o crescimento micelial de *Alternaria* spp. *in vitro*

Este ensaio foi realizado no mesmo laboratório citado anteriormente. Neste ensaio foram utilizadas quatro concentrações de óleo essencial de *L. gracilis* (0, 250, 500 e 750 $\mu\text{L L}^{-1}$), tendo como testemunha padrão o produto comercial utilizado no controle de *Alternaria* spp. no mamão, procloraz (750 $\mu\text{L L}^{-1}$).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 21x5, sendo 21 isolados de *Alternaria* spp., quatro concentrações de óleo essencial de *Lippia gracilis* e uma de procloraz, em quatro repetições. As diferentes concentrações de óleo essencial e do ingrediente ativo do fungicida foram adicionadas ao meio de cultura tipo BDA, sem adição de antibiótico, após o mesmo haver sido autoclado. O meio de cultura foi vertido em placas de Petri de 90x15mm e após a solidificação do meio, foi depositado no centro de cada repetição/placa de Petri, um disco de 3 milímetros de cada isolado de *Alternaria* spp. Em seguida, as placas de Petri foram incubadas durante 10 dias a uma temperatura de 25°C em estufa tipo B.O.D.

As avaliações foram realizadas diariamente através da medição do crescimento radial do micélio, com auxílio de um paquímetro digital. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa “SAS”, através do teste de médias de Scott knott, ao nível de significância de 5% de probabilidade.

3.5. Efeito fungitóxico do óleo essencial de *lippia gracilis* sob o crescimento micelial de *Alternaria* spp. *in vivo*

Este ensaio foi conduzido no mesmo laboratório citado nos itens 3.3 e 3.4.

Para o ensaio *in vivo* utilizou-se frutos de mamão no estágio de maturação 4, fruto com 75% da superfície amarela com áreas próximas ao verde, previamente desinfestados em hipoclorito de sódio a 1% durante 1 minuto e logo após em água destilada durante 1 minuto.

Após a desinfestação dos frutos, estes foram tratados com óleo essencial de *L. gracilis* nas concentrações (0, 250, 500 e 750 $\mu\text{L L}^{-1}$) e com o fungicida comercial procloraz (750 $\mu\text{L L}^{-1}$). Foram utilizados um total de 16 frutos por tratamento, totalizando 80 frutos.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 21x5, sendo 21 isolados de *Alternaria* spp., e quatro concentrações de óleo essencial de *L. gracilis* e uma concentração do produto comercial procloraz, em quatro repetições.

Os tratamentos foram diluídos em água destilada e agitados para a homogeneização, em seguida os frutos foram emersos em recipientes contendo as soluções dos tratamentos. Posteriormente a imersão dos frutos, foram efetuadas as lesões, que mediam 3 mm de diâmetro, utilizando uma almofada de alfinetes. Em seguida foi realizada a inoculação do fungo através de discos de 3 mm de diâmetro, dos 21 isolados de *Alternaria* spp., sendo estes colocados sobre a lesão. Em cada fruto foram inoculados seis isolados do fungo *Alternaria* spp. Após a inoculação os frutos foram acondicionados em uma sala com temperaturas de aproximadamente 25°C por um período de 10 dias.

As avaliações foram realizadas no 10º dia. Sendo realizadas medidas do crescimento radial do micélio em duas direções, longitudinal e transversal, com o auxílio de um paquímetro digital. E, naqueles frutos que houve desenvolvimento do patógeno, foram tomadas medidas da profundidade da lesão. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa “SAS”, através do teste de médias de Scott knot, ao nível de significância de 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Influencia de diferentes temperaturas no crescimento micelial de *Alternaria* spp.

Verificou-se pelos resultados da análise de variância apresentados na Tabela 2, que os diferentes isolados de *Alternaria* spp. e as temperaturas de incubação apresentaram diferenças significativas pelo teste F ($P < 0,01$), para o crescimento micelial. Também foi observada interação positiva pelo teste F ($P < 0,01$) entre as temperaturas de incubação e os diferentes isolados de *Alternaria* spp. *in vitro* para o crescimento micelial (Tabela 2).

Tabela 2 - Resumo da análise de variância para crescimento micelial de *Alternaria* spp. Mossoró-RN, UFERSA, 2015.

Fonte de Variação	GL	Crescimento Micelial (cm)
Temperatura	3	610.4002 **
Isolados	20	25.9055 **
T x I	60	12.2293 **
Resíduo	336	0.00328
CV (%)	-	11.55

Teste F ** significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Na análise do fator temperatura de incubação, realizada de forma isolada, detectou-se diferenças estatísticas para o crescimento micelial de *Alternaria* spp., mediante o teste de Scott-Knott (1974) ao nível de 1% de probabilidade. O crescimento micelial de *Alternaria* spp. *in vitro*, mostrou-se superior na temperatura de 25°C em relação as demais temperaturas (Tabela 3).

Tabela 3 - Média do crescimento micelial de *Alternaria* spp. em diferentes temperaturas de incubação *in vitro*. Mossoró-RN, UFERSA, 2015.

Temperatura	Crescimento micelial (cm)
20°C	0.46 c
25° C	0.66 a
30° C	0.52 b
35° C	0.32 d

** Teste de Scott-Knott (1974) ao nível de 1% de probabilidade

Esses resultados corroboram com os obtidos por Colturato (2006), que ao estudar o crescimento de *Alternaria alternata* f. spp. *citri* em diferentes temperaturas (25, 28, 30°C e temperatura ambiente), verificou que a temperatura de 25° foi a que apresentou maior crescimento. Em trabalho posterior, Pinheiro et al (2012) estudando *Alternaria porri* verificaram crescimento mais acentuado, também, na temperatura de 25° C para o crescimento micelial.

O crescimento micelial resulta de processos enzimáticos, justificando, assim, a existência de uma temperatura ótima para o crescimento dos fungos (OLIVEIRA; BASSANEZI; CAETANO, 2004). De acordo com Griffin (1994), a temperatura de 25°C é a temperatura ótima para o crescimento da maioria das espécies de fungos.

Na interação entre temperatura de incubação e isolados de *Alternaria* spp., o isolado D 6 apresentou crescimento micelial igual a (0,64 cm) sendo superior aos demais isolados, na temperatura de 20°C. Os isolados que apresentaram menor crescimento micelial, nesta mesma temperatura, foram: D 2 (0,38 cm), D 3 (0,46 cm), D 4 (0,41 cm) e D 5 (0,41 cm), B 3 (0,44 cm) e I 3 (0,41 cm), I 4 (0,45 cm) e I 5 (0,45 cm), ao nível de 1 % de probabilidade pelo teste de Scott-Knott (1974), observados na tabela 4.

Tabela 4 - Médias do crescimento micelial de *Alternaria* spp. em diferentes temperaturas. Mossoró-RN, UFERSA, 2015.

Temperatura Isolados	20°C	25°C	30°C	35°C
D 1	0.49 Bb	0.66 Ca	0.52 Bb	0.37 Cc
D 2	0.38 Cb	0.59 Da	0.65 Aa	0.21 Ec
D 3	0.46 Cb	0.66 Ca	0.65 Aa	0.61 Aa
D 4	0.41 Cb	0.64 Ca	0.36 Db	0.16 Ec
D 5	0.41 Cb	0.55 Da	0.41 Cb	0.18 Ec
D 6	0.64 Ab	0.89 Aa	0.55 Bc	0.20 Ed
D 7	0.51 Bb	0.77 Ba	0.55 Bb	0.42 Bc
D 8	0.53 Bb	0.66 Ca	0.31 Dc	0.37 Cc
B 1	0.47 Bb	0.65 Ca	0.62 Aa	0.18 Ec
B 2	0.47 Bb	0.64 Ca	0.36 Dc	0.27 Dd
B 3	0.44 Cc	0.69 Ca	0.65 Aa	0.52 Ab
I 1	0.49 Bb	0.66 Ca	0.68 Aa	0.56 Ab
I 2	0.49 Bb	0.63 Ca	0.61 Aa	0.45 Bb
I 3	0.41 Cc	0.60 Da	0.50 Cb	0.17 Ed
I 4	0.45 Cc	0.65 Ca	0.57 Bb	0.57 Ab
I 5	0.45 Cb	0.56 Da	0.53 Ba	0.23 Dc
I 6	0.47 Bc	0.73 Ba	0.57 Bb	0.34 Cd
I 7	0.51 Bb	0.65 Ca	0.49 Cb	0.24 Dc
I 8	0.38 Cc	0.63 Ca	0.47 Cb	0.39 Cc
I 9	0.49 Bc	0.73 Ba	0.57 Bb	0.22 Dd
I 10	0.46 Cb	0.64 Ca	0.44 Cb	0.24 Dc

** Médias seguidas de letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal diferem significativamente ao nível de 1 % de probabilidade pelo teste de Scott-Knott (1974). Isolados de D1 a D8 são provenientes do município de Mossoró, isolados de B1 a B3 são provenientes do município de Baraúna e os isolados de I1 a I10 são provenientes do município de Ipangaçu.

No que diz respeito à temperatura de 25°C, o isolado D 6 apresentou a maior média de crescimento micelial (0.89 cm), já os isolados D 2 (0.59 cm), D 5 (0.55 cm), I 3 (0.60 cm) e I 5 (0.56 cm), obtiveram as menores médias de crescimento.

Ao analisar a temperatura de 30°C, observou-se que D 2 (0.65 cm), D 3 (0.65 cm), B 1 (0.65 cm), B 3 (0.65 cm), I 1 (0.68 cm) e I 2 (0.61 cm) foram os isolados que mostraram maiores crescimentos comparado aos isolados D 4 (0.36 cm), D 8 (0.31 cm) e B 2 (0.36 cm) que obtiveram um crescimento micelial inferior.

Com relação à temperatura de 35°C, os isolados D 3 (0.61 cm), B 3 (0.52 cm), I 1 (0.56 cm) e I 4 (0.57 cm), mostrou-se superior em relação ao crescimento micelial quando comparado aos isolados D 2 (0.21 cm), D 4 (0.16 cm), D 5 (0.18 cm), D 6 (0.20 cm), B 1 (0.18 cm) e I 3 (0.17 cm), que apresentaram as menores médias de crescimento micelial.

O comportamento dos isolados nas diferentes temperaturas estudadas pode ser explicado pela variabilidade genética, que é importante, pois, determina o potencial de adaptação desses isolados a condições adversas (CARDOSO, 2010). Desta forma, o presente trabalho mostrou que existe variabilidade genética entre os isolados de mamoeiro coletados nos três diferentes municípios.

4.2 Efeito fungitóxico do óleo essencial de *lippia gracilis* sobre o crescimento micelial de *Alternaria* spp. *in vitro*

Verificou-se pelos resultados da análise de variância que os isolados de *Alternaria* spp. e os produtos utilizados para o controle do fungo apresentaram diferenças significativas pelo teste F ($P < 0,05$), na porcentagem de inibição do crescimento micelial. Sendo constatada interação significativa entre os produtos e os diferentes isolados de *Alternaria* spp. *in vitro* para a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) (Tabela 5).

Tabela 5 - Resumo da análise de variância para porcentagem de inibição de crescimento micelial de *Alternaria* spp. Mossoró-RN, UFERSA, 2015.

Fonte de Variação	GL	PIC
Isolados	20	264.66*
Produtos	4	161749.75*
IxP	80	264.66*
Reps	3	0.87
Erro	316	2.07
CV (%)	-	1.84

Teste F * significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Analisando o fator produtos separadamente, foram observadas diferenças estatísticas para a porcentagem de inibição do crescimento micelial da *Alternaria* spp., mediante o teste de Scott-Knott (1974) ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 6).

Tabela 6 - Média da porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Alternaria* spp. utilizando diferentes produtos para controle *in vitro*. Mossoró-RN, UFERSA, 2015.

Produtos ($\mu\text{L L}^{-1}$)	PIC (%)
Sportak 750	100,00 a
Lippia 0	0,00 c
Lippia 250	90,90 b
Lippia 500	100,00 a
Lippia 750	100,00 a

* Teste de Scott-Knott (1974) ao nível de 5% de probabilidade. PIC= porcentagem de inibição do crescimento micelial.

A porcentagem de inibição de crescimento mostrou eficiência a partir da concentração de $250 \mu\text{L L}^{-1}$, porém a partir da dose de *Lippia* $500 \mu\text{L L}^{-1}$, foi tão eficiente quanto ao fungicida sintético Sportak, e diferindo estatisticamente das doses de 0 e $250 \mu\text{L L}^{-1}$ (Tabela 7). Porcentagem de inibição semelhante foi encontrada por Nascimento et al. (2008) que ao estudar o controle de *A. alternata* utilizando o óleo essencial de pimenta longa, estes pesquisadores observaram que o crescimento micelial do fungo foi inibido em todas as concentrações analisadas, sendo que na concentração de 1000 mg L^{-1} esta inibição foi de 100%.

Na interação entre os diferentes isolados de *Alternaria* spp. e os diferentes produtos analisados, observou-se que os isolados D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, B1, B2, B3, I1, I2, I3, I4

e I5 tiveram seu crescimento inibido em 100% a partir da dose de 250 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de *Lippia gracilis*, já os isolados D8, I6, I7, I8, I9, e I10 tiveram seu crescimento inibido a partir da dose de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de *Lippia gracilis* ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Scott-Knott (1974) (Tabela 7).

Tabela 7 - Médias da porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Alternaria* spp. quando utilizados diferentes produtos para o controle. Mossoró-RN, UFERSA, 2015.

ISOLADOS	SPORTAK	PRODUTOS			
		<i>Lippia</i> 0 $\mu\text{L L}^{-1}$	<i>Lippia</i> 250 $\mu\text{L L}^{-1}$	<i>Lippia</i> 500 $\mu\text{L L}^{-1}$	<i>Lippia</i> 750 $\mu\text{L L}^{-1}$
D1	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
D2	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
D3	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
D4	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
D5	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
D6	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
D7	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
D8	100,00 Aa	0,00 Ca	76,75 Bc	100,00 Aa	100,00 Aa
B1	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
B2	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
B3	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
I1	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
I2	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
I3	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
I4	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
I5	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
I6	100,00 Aa	0,00 Ca	85,50 Bb	100,00 Aa	100,00 Aa
I7	100,00 Aa	0,00 Ca	29,75 Be	100,00 Aa	100,00 Aa
I8	100,00 Aa	0,00 Ca	57,75 Bd	100,00 Aa	100,00 Aa
I9	100,00 Aa	0,00 Ca	74,50 Bc	100,00 Aa	100,00 Aa
I10	100,00 Aa	0,00 Ca	84,75 Bb	100,00 Aa	100,00 Aa

* Médias seguidas de letra maiúscula na horizontal e minúscula na vertical diferem significativamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Scott-Knott (1974). Isolados de D1 a D8 são provenientes do município de Mossoró, isolados de B1 a B3 são provenientes do município de Baraúna e os isolados de I1 a I10 são provenientes do município de Ipangaçu.

Silva *et al.* (2013), ao estudar o efeito do óleo essencial de *Lippia* no controle de *R. solani* comprovaram que os óleos de *L. sidoides* Cham e *L. gracilis* foram responsáveis pela inibição do crescimento micelial deste fungo partir das concentrações de 0,2 e 0,4 $\mu\text{L mL}^{-1}$ respectivamente, já os encontrados neste estudo apresentaram inibição total do crescimento a partir da dose de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$.

A eficiência de óleos extraídos de outras espécies também foi comprovada, a exemplo do *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc, cujo crescimento micelial foi inibido totalmente pelo óleo de *Eucalyptus citriodora* (Hook.) K.D.Hill & L.A.S.Johnson (OLIVEIRA et al., 2013). Essa mesma espécie de fungo e o *C. musae* também foram completamente inibidos pelos óleos de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf e *Eucalyptus citriodora* (PEREIRA et al., 2007).

Os resultados encontrados neste estudo, mostram-se superiores aos encontrados por Tomazoni *et al.* (2014), que ao estudar a atividade antifúngica *in vitro* dos óleos essenciais de *Pinus elliottii* Engelm e *Pinus taeda* L. sobre o fungo patógeno de tomateiro *Alternaria solani* Sorauer, obtiveram uma porcentagem de inibição do crescimento micelial do fungo acima de 50%.

O efeito fungitóxico do óleo essencial de *Lippia gracilis*, provavelmente se dá pela presença dos compostos Timol e Carvacrol que são dotados de fortíssima atividade antimicrobiana (CRAVEIRO, 1981).

Quanto ao comportamento diferente entre os diversos isolados, supõem-se que sejam pelas diferenças genéticas entre eles, já que os mesmos provêm de áreas diferentes com condições ambientais diferentes. Os isolados D8, I6, I7, I8, I9, e I10, provavelmente são os mais agressivos e necessitam de uma dose mais alta do produto para que haja um controle eficiente, já que na dose de 250 $\mu\text{L L}^{-1}$, enquanto a maioria dos isolados foram controlados, estes apresentaram uma menor porcentagem de inibição do crescimento.

4.3- Efeito fungitóxico do óleo essencial de *lippia gracilis* sobre o crescimento micelial de *Alternaria* spp. *in vivo*

Através dos resultados da análise de variância verificou-se que os diferentes isolados de *Alternaria* spp. e os diferentes produtos utilizados para inibição do crescimento do fungo apresentaram diferenças significativas pelo teste F ($P < 0,05$), para a porcentagem de inibição do crescimento micelial *in vivo*. Fato esse que também se observa pela interação positiva pelo teste F ($P < 0,05$) entre os produtos e os diferentes isolados de *Alternaria* spp. *in vivo* para a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) (Tabela 8).

Tabela 8 - Resumo da análise de variância para porcentagem de inibição de crescimento micelial de *Alternaria* spp. Mossoró-RN, UFERSA, 2016.

Fonte de Variação	GL	PIC (%)
Isolados	20	1581,96 *
Produtos	4	151859,65*
IxP	80	874,12*
Reps	3	22,55 ^{n.s}
Erro	312	32,09
CV (%)	-	7,56

Teste F * significativo ao nível de 5% de probabilidade. PIC= porcentagem de inibição do crescimento micelial.

Ao analisar o fator produtos separadamente, foram observadas diferenças estatísticas para a porcentagem de inibição do crescimento micelial da *Alternaria* spp., mediante o teste de Scott-Knott (1974) ao nível de 5% de probabilidade. A porcentagem de inibição de crescimento, mostrou-se mais eficiente na dose de *Lippia* 750 $\mu\text{L L}^{-1}$, sendo tão eficiente quanto ao fungicida sintético Sportak (procloraz) em sua dose comercial (Tabela 9). Esse resultado comprova a capacidade que o óleo tem de evitar, nos frutos, danos pós-colheita causados por *Alternaria* spp.

Tabela 9 - Média da porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Alternaria* spp. utilizando diferentes produtos para controle *in vivo*. Mossoró-RN, UFERSA, 2016.

Produtos ($\mu\text{L L}^{-1}$)	PIC (%)
Sportak 750	100,00 a
<i>Lippia</i> 0	0,00 d
<i>Lippia</i> 250	82,04 c
<i>Lippia</i> 500	92,53 b
<i>Lippia</i> 750	100,00 a

* Teste de Scott-Knott (1974) ao nível de 5% de probabilidade. PIC= porcentagem de inibição do crescimento micelial.

Resultados semelhantes aos observados nesse estudo foram comprovados por Bastos & Albuquerque (2004), estudando o controle de *Colletotrichum musae* utilizando óleo essencial de *Piper aduncum* L “*in vivo*”, verificaram que esse óleo foi capaz de impedir a manifestação de podridões nos frutos de banana.

Na interação entre os diferentes isolados de *Alternaria* spp. e os diferentes produtos analisados, observou-se que os isolados D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, B1, B2, B3, I1, I3, I4, I5 e I7 tiveram seu crescimento inibido em 100% em todas as concentrações do óleo essencial de *L. gracilis*. Os isolados D8, I2 e I8 tiveram seu crescimento inibido somente a partir da concentração de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ do óleo essencial de *L. gracilis*. Já os isolados I6, I9, e I10 somente foram inibidos na concentração de 750 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de *L. gracilis* ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Scott-Knott (1974). O produto Sportak inibiu em 100,0% todos os isolados de *Alternaria* spp. na dose utilizada (tabela 10).

Tabela 10 - Médias da porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Alternaria* spp. quando utilizados diferentes produtos para o controle *in vivo*. Mossoró-RN, UFERSA, 2016.

Isolados	Produtos				
	Sportak	<i>Lippia</i> 0 $\mu\text{L L}^{-1}$	<i>Lippia</i> 250 $\mu\text{L L}^{-1}$	<i>Lippia</i> 500 $\mu\text{L L}^{-1}$	<i>Lippia</i> 750 $\mu\text{L L}^{-1}$
D1	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
D2	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
D3	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
D4	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
D5	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
D6	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
D7	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
D8	100,00 Aa	0,00 Ca	64,15 Bb	100,00 Aa	100,00 Aa
B1	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
B2	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
B3	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
I1	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
I2	100,00 Aa	0,00 Ca	14,92 Be	100,00 Aa	100,00 Aa
I3	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
I4	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
I5	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
I6	100,00 Aa	0,00 Da	41,53 Cc	53,20 Bb	100,00 Aa
I7	100,00 Aa	0,00 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
I8	100,00 Aa	0,00 Ca	31,56 Bd	100,00 Aa	100,00 Aa
I9	100,00 Aa	0,00 Da	28,99 Cd	41,52 Bc	100,00 Aa
I10	100,00 Aa	0,00 Ca	41,69 Bc	48,46 Bb	100,00 Aa

* Médias seguidas de letra maiúscula na horizontal e minúscula na vertical diferem significativamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Scott-Knott (1974). Isolados de D1 a D8 são provenientes do município de Mossoró, isolados de B1 a B3 são provenientes do município de Baraúna e os isolados de I1 a I10 são provenientes do município de Ipanguaçu.

Os isolados I6, I9, e I10, provavelmente são os mais agressivos, por serem de uma localidade que pode ter uma condição ambiental diferente das demais, e necessitam de uma dose mais alta do produto para que haja um controle eficiente.

Podemos, mais uma vez, evidenciar que o controle de fungos fitopatogênicos com o uso do óleo essencial da espécie *L. gracilis* é satisfatório devido a presença dos compostos Timol e Carvacrol que provavelmente conferem efeito antimicrobiano ao óleo (CRAVEIRO, 1981).

Analisando os resultados da análise de variância, verificou-se que os diferentes isolados de *Alternaria* spp. e os produtos utilizados para inibição do crescimento do fungo apresentaram diferenças significativas pelo teste F ($P < 0,01$), na a profundidade da lesão. Este fato indica uma interação positiva pelo teste F ($P < 0,05$) entre os diferentes isolados de *Alternaria* spp. e os produtos analisados para a variável profundidade da lesão (PL) *in vivo* (Tabela 11).

Tabela 11 - Resumo da análise de variância para a profundidade da lesão (PL) causada por *Alternaria* spp. Mossoró-RN, UFERSA, 2016.

Fonte de Variação	GL	PL
Isolados	20	0,32*
Produtos	4	5,57*
IxP	80	0,15*
Reps	3	0,01 ^{n.s}
Erro	312	0,02
CV (%)	-	76,47

Teste F * significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Ao verificar isoladamente o fator produtos, observa-se diferenças estatísticas para a profundidade da lesão, mediante o teste de Scott-Knott (1974) ao nível de 5% de probabilidade. A partir da concentração de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ do óleo essencial de *L. gracilis* já se observa uma inibição total do crescimento micelial do fungo, bem como da ausência de lesão da doença. No caso do produto Sportak a dose comercial de bula testada evidenciou a inibição da infecção por *Alternaria* spp. (Tabela 12).

Tabela 12 - Média da profundidade da lesão, utilizando diferentes produtos para controle *in vivo*. Mossoró-RN, UFERSA, 2016.

Produtos ($\mu\text{L L}^{-1}$)	PL (mm)
Sportak 750	0,00 c
<i>Lippia</i> 0	0,62 a
<i>Lippia</i> 250	0,22 b
<i>Lippia</i> 500	0,00 c
<i>Lippia</i> 750	0,00 c

* Teste de Scott-Knott (1974) ao nível de 5% de probabilidade

Em estudos com óleo essencial de *C. citratus*, Marques *et al.* (2003) verificou que houve inibição de 19,9% do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* nos frutos de mamão, embora apresentasse, ainda, uma severa lesão interna nos frutos. No presente trabalho o óleo essencial de *Lippia gracilis*, apresentou inibição de 100% no crescimento micelial de *Alternaria* spp., apresentando frutos com polpa ílesa, sendo este um produto promissor para controle da mancha-de-alternaria em mamão.

Na interação entre os diferentes isolados de *Alternaria* spp. e os diferentes produtos analisados, observou-se que os isolados D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, B1, B2, B3, I1, I3, I4, I5 e I7 tiveram seu crescimento inibido em 100% a partir da dose de 250 $\mu\text{L L}^{-1}$ do óleo essencial de *L. gracilis*. Os, isolados D8, I2, I6, I8, I9, e I10 tiveram seu crescimento inibido a partir da dose de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de *L. gracilis* ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Scott-Knott (1974) (Tabela 13).

Tabela 13 - Médias da profundidade da lesão quando utilizados diferentes produtos para o controle *in vivo*. Mossoró-RN, UFERSA, 2016.

Isolados	Produtos				
	Sportak	<i>Lippia</i> 0 $\mu\text{L L}^{-1}$	<i>Lippia</i> 250 $\mu\text{L L}^{-1}$	<i>Lippia</i> 500 $\mu\text{L L}^{-1}$	<i>Lippia</i> 750 $\mu\text{L L}^{-1}$
D1	0,00 Ba	0,55 Ac	0,00 Bc	0,00 Bc	0,00 Ba
D2	0,00 Ba	0,68 Ab	0,00 Bc	0,00 Bc	0,00 Ba
D3	0,00 Ba	0,55 Ac	0,00 Bc	0,00 Bc	0,00 Ba
D4	0,00 Ba	0,48 Ac	0,00 Bc	0,00 Bc	0,00 Ba
D5	0,00 Ba	0,59 Ac	0,00 Bc	0,00 Bc	0,00 Ba
D6	0,00 Ba	0,63 Ac	0,00 Bc	0,00 Bc	0,00 Ba
D7	0,00 Ba	0,64 Ac	0,00 Bc	0,00 Bc	0,00 Ba
D8	0,00 Ca	0,42 Bc	0,73 Ab	0,00 Bc	0,00 Ca
B1	0,00 Ba	0,51 Ac	0,00 Bc	0,00 Bc	0,00 Ba
B2	0,00 Ba	0,72 Ab	0,00 Bc	0,00 Bc	0,00 Ba
B3	0,00 Ba	0,48 Ac	0,00 Bc	0,00 Bc	0,00 Ba
I1	0,00 Ba	0,38 Ac	0,00 Bc	0,00 Bc	0,00 Ba
I2	0,00 Ba	0,75 Ab	0,65 Ab	0,00 Bc	0,00 Ba
I3	0,00 Ba	0,50 Ac	0,00 Bc	0,00 Bc	0,00 Ba
I4	0,00 Ba	0,99 Aa	0,00 Bc	0,00 Bc	0,00 Ba
I5	0,00 Ba	0,81 Ab	0,00 Bc	0,00 Bc	0,00 Ba
I6	0,00 Ba	0,71 Ab	0,69 Ab	0,00 Bc	0,00 Ba
I7	0,00 Ba	0,51 Ac	0,00 Bc	0,00 Bc	0,00 Ba
I8	0,00 Ba	0,67 Ab	0,79 Ab	0,00 Bc	0,00 Ba
I9	0,00 Ba	0,83 Ab	0,86 Aa	0,00 Bc	0,00 Ba
I10	0,00 Ca	0,62 Bc	0,96 Aa	0,00 Bc	0,00 Ca

* Médias seguidas de letra maiúscula na horizontal e minúscula na vertical diferem significativamente ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Scott-Knott (1974). Isolados de D1 a D8 são provenientes do município de Mossoró, isolados de B1 a B3 são provenientes do município de Baraúna e os isolados de I1 a I10 são provenientes do município de Ipangaçu.

Os isolados D8, I2, I6, I8, I9, e I10 provavelmente são os mais agressivos e necessitam de uma dose mais alta do produto para que haja um controle eficiente

5. CONCLUSÃO

1. O óleo essencial de *Lippia gracilis* pode ser utilizado como uma forma de controle alternativo ao uso de fungicidas sintéticos no controle de *Alternaria* spp.
2. O óleo essencial de *L. gracilis* se mostrou eficiente para o controle *in vivo* e *in vitro* de *Alternaria* spp. a partir de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$.

REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO

ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 2014. 136 p.

ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 2015.

BARI, L. *et al.* Nutricional analysis of two varieties of papaya (*Carica papaya* L.) at diferente maturation stages. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, vol. 9, pp. 137-140, 2006.

BASTOS, C.N. & ALBUQUERQUE, P.S.B. Efeito do óleo de Piper aduncum no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira** 29:555-557. 2004.

BASER, K.H.C.; DEMIRCI, F. Chemistry of Essential Oils. In: **Berger RG Ed, Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprospecting and Sustainability**. Heidelberg, Springer. 43-86, 2007.

CARDOSO, C.R. **Agressividade de *Alternaria tomatophila*, *A. grandis* e *A. solani* em batateira e tomateiro**, 2010. 55p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa.

CARMO FILHO, F.; OLIVEIRA, O. F. **Mossoró: um município do semi-árido nordestino, caracterização climática e aspecto florístico**. Mossoró: ESAM, 1995. 62p. (Coleção Mossoroense, Série B).

CHAVAN, P.S.; TUPE, S.G. Antifungal activity and mechanism of action of carvacrol and thymol against vineyard and wine spoilage yeasts. **Food. Control**, 46, 115–120, 2014.

COLTURATO, A. B., **Effect of media culture, temperature and fungicides in the growth of *Alternaria alternata* f. spp. *citri* and disease control**. Botucatu, 2006. 53p. Dissertação

(Mestrado em Agronomia/ Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

CRAVEIRO, A. A. **Óleos essenciais de plantas do Nordeste**. Fortaleza: Edificações UFC, 209 p. 1981.

EDGINTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology.**, Minnesota, v. 62, n. 7, p. 42-44. 1971.

FACHINELLO, J. C.; PASA, M. da S.; SCHMTIZ, J. D.; BETEMPS, D. L. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, Volume Especial, E. 109-120, Outubro 2011.

GRIFFIN, D. H. 1994. **Fungal physiology**. 2nd ed. Wiley-Liss, Wiley & Sons, Nova York, USA, 458pp.

IBRAF, disponível em :< <http://www.ibraf.org.br/>> acessado em 04/03/2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICAS (IBGE). **Produção agrícola municipal: Culturas temporárias e permanentes**. 2013. 99 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICAS (IBGE). **Produção agrícola municipal: Culturas temporárias e permanentes**. 2014.

INSTITUTO CENTRO DE ENSINO TECNOLÓGICO (CENTEC). **Produtos de mamão**. 2 ed. Fortaleza: Edições Demócrito Rocha. 2004. 72 p.

JUVEN, B.J.; KANNER, J.; SCHUED, F.; WEISSLOWICZ, H. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. **J. Appl. Bacteriol.**, 76, 626-631, 1994.

KIMATI, H. Controle químico. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H. & Amorim, L. (Ed.) **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. Vol. 1. 3 ed. São Paulo, Editora Agrônômica Ceres. 1995. Pp. 761-785.

KORBES, D. *et al.* Alterações no sistema vestibulococlear decorrentes da exposição ao agrotóxico: revisão de literatura. **Ver. Soc. Bras. Fonouadiol.** 2010.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil: Nativas e Exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

LUNA, J. V. U. Variedades de mamoeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 12, n. 134, p. 14-18, 1986.

MARQUES, S. S. *et al.* USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE *Colletotrichum gloeosporioides*, AGENTE CAUSAL DA ANTRACNOSE EM FRUTOS DO MAMOEIRO In: **Papaya Brasil**. Vitória – ES, 2003.

MATOS, F.J.A.; MACHADO, M.I.L.; CRAVEIRO, A.A.; ALENCAR, J.W.; SILVA, M.G.V. Medicinal plants Northeast Brazil containing timol and carvacrol. **Journal of essential oil research**. 2000.

MONTE, T. L. G., MATOS, F. J. Q., ALENCAR, F. J. A., CRAVEIRO, J. W., BARBOSA, A. A., LIMA, R. C. S. B., **Fitoterapia** 63 (1992) 266.

NASCIMENTO, F.R.; CARDOSO, M.G.; SOUZA, P.E.; SALGADO, R.K.P.S.P.; GUIMARÃES, L.G.L. Efeito do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum*) e do emulsificante tween 80 sobre o crescimento micelial de *Alternaria alternata*, **Acta Amazônica**, 2008.

NEVES, D. P., **Estudo farmacológico do timol e carvacrol sobre a contratilidade da aorta isolada de rato**. Fortaleza, 2009. 94p. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciências Fisiológicas) - Universidade Estadual do Ceará.

OLIVEIRA, O. R. de; TERAPO, D.; CARVALHO, A. C. P. P. de; INNECO, R.; ALBUQUERQUE, C. C. de. Efeito de óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* sobre fungos contaminantes encontrados na micropropagação de plantas. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 39, n. 01, p. 94-100, 2008.

OLIVEIRA, D. R., LEITÃO, G. G., SANTOS, S. S., BIZZO, H. R., LOPES, D., ALVIANO, C. S., ALVIANO, D. S., LEITÃO, S. G., **J Ethnopharmacol.** 108 (2006) 103.

OLIVEIRA, Erivaldo; MELLO, Marcelo; FILHO, Rinaldo; CAVALCANTI, Magdala; FELIX, Katia. Controle alternativo da antracnose em frutos de maracujá amarelo utilizando o extrato de nim e óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*. In: **VIII Congresso Brasileiro de Agroecologia** – Porto Alegre/RS. 2013.

PASCUAL, M. E.; SLOWING, K.; CARRETERO E.; SÁNCHEZ MATA D.; VILLAR A. J. **Ethnopharmacol.** 76 (2001) 201.

PEREIRA, F.D.; SQUASSONI, V.L.; NOZAKI, M.H.; SOUZA, A.; GOES, A. Germinação de *Alternaria alternata* em meio de cultura, sob diferentes períodos de incubação. **Summa Phytopathologica**, v.32, p. 92, 2007.

PINHEIRO, G.S; ANGELOTTI, F.; COSTA, N.D.; SANTANA, C.V. da S.; RODRIGUES, D.R. Impacto de alterações da temperatura sobre o crescimento e esporulação de *Alternaria porri*. In: **Workshop sobre mudanças climáticas e problemas fitossanitários**. Jaguariúna, 2012.

ROMERO, A.L.; SPECIAN, V.; OLIVEIRA, R.C.; DINIZ, S.S.S. Atividade do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) contra fungos fitopatogênicos. **UNOPAR Cient. Ciênc. Biol. Saúde**, 11,15-8, 2009.

SALOMÃO, L. C.C.; SIQUEIRA, D. L.; SANTOS, D.; BORBA, A. N. **Cultivo do mamoeiro**. Viçosa ED UFV. 2007 73p.

SANTOS, M. M., PEIXOTO, A. R.; PESSOA, E. S.; NEPA, H. B. S.; PAZ, C. D.; SOUZA, A. V. V. Estudos dos constituintes químicos e atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia gracilis* a *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Summa Phytopathologica.**, [s.l.], v. 40, n. 3, p.277-280, set. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/1958>.

SILVA, V. M. da; CARVALHO, R. R. da C.; RÊGO, T. J. dos S.; FONTES, M. G.; BLANK, A. F.; LARANJEIRA, D. Efeito de óleos essenciais de *Lippia* na inibição do crescimento de *Rhizoctonia solani*. In: **Congresso Nacional de Feijão Caupi**, 2013, Recife/PE.

SILVA, V. M.; CARVALHO, R. R. C.; ASSUNÇÃO, E. F.; SILVA, M. V.; BLANK, A. F.; LARANJEIRA, D. In **XIII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão**, 13., 2013, Recife. Efeito de compostos voláteis de *Lippia* na inibição do crescimento de *Rhizoctonia solani*. Recife: Ufrpe, 2013. 3f.

SILVA, Celia Maria Maganhotto de S.; MELO, Itamar Soares de. Requisitos nutricionais para o fungo *Alternaria alternata*. Pesq. **Agropecuária Brasileira.**, Brasília, v. 34, n. 3, p.499-503, mar. 1999. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-204x1999000300024>.

SIMÕES, C. M. O. & SPITZER, V. Óleos voláteis, In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosman, G, Mello JCP, Mentz LA & Petrovick PR (Eds.) **Farmacologia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre, UFRGS. P. 467-496. 2007.

SOUZA JÚNIOR, I. T.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado de maracujazeiro amarelo, **Revista Biotemas**, Santa Catarina, v. 3, n. 22, p. 77-83, 2009.

SOUZA, W. M. A.; RAMOS, R. A.; SILVA, I C. B.; ALVES, L. C.; COELHO, M. C. O. C. C.; MAIA, M. B. S. Atividade *in vitro* do extrato hidroalcoólico de *Lippia sidoides* Cham sobre larvas de terceiro estágio de nematódeos gastrintestinais de caprinos. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 78, p. 119-122, 2011.

STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; NOZAKI, M. H. 1999. Plantas medicinais e o controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, 11: 16-21

TERBLANCHÉ, F. C., KORNELIUS, G., **J Essent Oil Res.** 8 (1996) 471.

TODA FRUTA, disponível em: <http://todafruta.com.br> acessado em 05/03/2015.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J., FERRARI, J.T. *Alternaria* spp. em oleráceas: sintomas, etiologia, manejo e fungicidas. **Biológico**, São Paulo, v.77, n.1, p.21-34, jan./jun., 2015

TOMAZONI, Elisa Zorzi et al. atividade antifúngica in vitro dos óleos essenciais de pinus elliottii e pinus taeda sobre o fungo patógeno de tomateiro alternaria solani sorauer. **Caderno Pedagógico**, Lajeado, v. 11, n. 168, p.68-77, maio 2014.

VENTURA, J. A.; COSTA, H., TATAGIBA, J. S. Manejo das doenças no mamoeiro. In: Martins, D. dos S.; Costa, A. de F. S. da (eds.) **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória, ES: Incaper, 2003. 497p.

VIANA, F. M.P.; MARTINS, M. V. V.; MELLO, S. C. M. de; INGLIS, P.W.; CARDOSO, J. E. Queima-de-alternaria: nova doença foliar do mamoeiro no Brasil. **Summa Phytopatologica**, Botucatu, v. 40, n. 4, 2014.

VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. Óleo essencial de Eucalipto. n. 17, 2003. Disponível em: <<http://www.ipef.br/publicacoes/docflorestais/df17.pdf>> acesso em 05/03/2015.

WITT, J. P. *et al.* Integração de métodos físicos e biológicos para o controle de doenças e pragas em lírios e espatifilo. In: Bettiol, W.; Morandi, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: usos e perspectivas**, Embrapa: Jaguariuna-SP, Cap 22, p. 330-335. 2009.