



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIA AGRÁRIAS



ANA CAROLINA ARAUJO

**AÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE PIMENTA-ROSA (*Schinus terebinthifolius*) NO
DESENVOLVIMENTO *in vitro* DE *Colletotrichum truncatum*, AGENTE CAUSAL DA
ANTRACNOSE DA SOJA (*Glycine max*)**

ARARAS

2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIA AGRÁRIAS



ANA CAROLINA ARAUJO

AÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE PIMENTA-ROSA (*Schinus terebinthifolius*) NO DESENVOLVIMENTO *in vitro* DE *Colletotrichum truncatum*, AGENTE CAUSAL DA ANTRACNOSE DA SOJA (*Glycine max*)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Agroecologia como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Agroecologia

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula de Oliveira Amaral Mello

ARARAS

2021

*A educação é uma descoberta progressiva da
nossa própria ignorância.*

Voltaire

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Maria Argentina e Deusdete, por desde sempre batalharem por mim, pelo apoio e incentivo incondicionais, pelas oportunidades que recebi e que só foram possíveis graças aos seus esforços.

Ao meu padrasto, Emerson, por cuidar de mim e estar ao meu lado, por me ajudar sem pensar duas vezes, por me salvar toda vez de chegar atrasada na faculdade e, principalmente, pelas risadas.

Aos meus avós, Sebastião e Terezinha, e tias-avós, Lurdes e Angelica, por constituírem meu porto seguro, pela maravilhosa influência em minha criação, pelos conselhos, pelos cuidados e pelos abraços.

Ao meu companheiro, William, por todos os anos de cumplicidade, por se manter ao meu lado nas horas boas e ruins, pela ajuda e paciência, pelo apoio e incentivo. Obrigada por sempre acreditar em mim.

Aos meus sogros, Argemiro e Claudete, por me proporcionarem uma experiência de campo fora do comum e por compartilhar de seu conhecimento inestimável.

À minha psicóloga Flávia Devitte, por me ajudar a manter a sanidade durante todo esse tempo.

À Profa. Dra. Ana Paula de Oliveira Amaral Mello, orientadora querida, pela contribuição profissional e pessoal em minha formação, por acreditar em mim e pela oportunidade oferecida, pela amizade, paciência e todo o ensinamento.

À Profa. Dra. Anastacia Fontanetti, pela contribuição em meu primeiro trabalho de pesquisa, sem o qual eu não estaria aqui hoje, pelo apoio, pelos ensinamentos, pelas conversas e por ser um exemplo de pessoa e profissional.

À Afra Vital Matos Dias Gabriel, por todo o auxílio e companheirismo, e por sempre me salvar nas horas em que precisei.

Aos professores do curso de graduação em Agroecologia, aos técnicos e funcionários da UFSCar e do Centro de Ciências Agrárias, por tornarem tudo possível.

Às minhas amigas e companheiras Aline e Vitória, por nunca soltarem a minha mão. Palavras não são o suficiente para expressar toda a gratidão pelo que passamos juntas.

Aos meus amigos Leonardo, Guilherme e Isabela, por estarem comigo desde sempre.

Às meninas do grupo Veloso Bar – Sabrina, Carol, Nana, Sacha, Mirella, Marcela, Julia e Suellen, que mesmo espalhadas pelo país estão comigo diariamente, compartilhando vivências e provando que a amizade pode surgir dos modos mais inesperados.

À natureza, pois sem ela nada existiria.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
2.1. Características da pimenta-rosa ou aroeira (<i>Schinus terebinthifolius</i>) e seu uso em potencial como inibidora do desenvolvimento de fungos	9
2.2. Importância e características da cultura da soja (<i>Glycine max</i>).....	11
2.3. Manejo da antracnose da soja e a importância do uso de métodos alternativos no controle de doenças em plantas.....	12
3. OBJETIVO	13
4. METODOLOGIA.....	13
4.1. Obtenção do patógeno	13
4.2. Obtenção do óleo essencial.....	13
4.3. Plaqueamento do fungo	13
4.4. Taxa de crescimento micelial <i>in vitro</i>	14
4.5. Delineamento experimental	14
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
6. CONCLUSÕES.....	19
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19

RESUMO

A soja é uma das culturas mais economicamente importantes no mundo todo e tem sido cultivada por milhares de produtores familiares, sobretudo na região Sul do país. A produtividade da cultura pode ser ameaçada por vários tipos de patógenos causadores de diversas doenças, entre as quais está a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum truncatum*. Um de seus principais métodos de controle tem sido a aplicação de fungicidas nas lavouras, o que colabora para o aumento da insegurança ambiental e da preocupação com a saúde da população. Nesse sentido, a utilização de óleos vegetais no controle fitopatogênico pode ser uma alternativa interessante para substituir tais produtos químicos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do óleo essencial de pimenta-rosa (*Schinus terebinthifolius*) no crescimento *in vitro* de colônias do fungo *Colletotrichum truncatum*, agente causal da antracnose em soja. O óleo essencial foi aplicado de diferentes formas no meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) em placas de Petri separadas. Em seguida, discos de micélio do fungo foram plaqueados e o seu crescimento avaliado aos 3, 5, 7 e 9 dias. Os resultados mostram que o maior controle do crescimento do patógeno ocorre em T3 (óleo essencial sobre a superfície), seguido usualmente por T4 (papel filtro). Além disso, de 500 µl para 800 µl, houve a supressão de aproximadamente 1 centímetro de crescimento no 9º dia.

Palavras-chave: manejo ecológico, controle alternativo, pimenta-rosa, fungo fitopatogênico

ABSTRACT

Soy is one of the most economically important crops in the world and has been cultivated by thousands of family farmers, especially in the southern region of the country. Crop productivity can be threatened by various types of pathogens that cause various diseases, including anthracnose, caused by the fungus *Colletotrichum truncatum*. One of its main control methods has been the application of fungicides in crops, which contributes to increasing environmental insecurity and concern for the health of the population. In this sense, the use of vegetable oils in phytopathogenic control can be an interesting alternative to replace such chemicals. The present study aimed to evaluate the effect of pink peppercorn (*Schinus terebinthifolius*) essential oil on the *in vitro* fungus colonies growth of *C. truncatum*, causal agent of anthracnose in soybeans. The essential oil was applied in different ways to the Potato-Dextrose-Agar (PDA) culture medium in separate Petri dishes. Then, mycelial discs of the fungus were plated and its growth evaluated at 3rd, 5th, 7th and 9th days. The results show that the greatest control of pathogen growth occurs in T3 (essential oil on the surface), with T4 (filter paper) almost always in second place. In addition, from 500 μ l to 800 μ l, there was a suppression of approximately 1 centimeter of growth on the 9th day.

Keywords: ecological management, alternative control, pink peppercorn, phytopathogenic fungus

1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max*) é uma das culturas de maior importância econômica mundialmente e está presente em milhares de propriedades familiares, principalmente do Sul do país. A safra 2017/2018 produziu 336,7 milhões de toneladas no mundo, sendo que, desse volume, 116,9 milhões de toneladas (cerca de 35% da produção) foram produzidas no Brasil, segundo maior produtor de soja. A produtividade da cultura é definida pela interação entre o potencial genético da cultivar e as condições ambientais durante o período de cultivo, mas é clara e diretamente afetada pelo seu manejo, além da ausência de problemas fitossanitários. Vários são os agentes patogênicos que podem acometer a cultura e diminuir seu rendimento, entre eles nematoides, bactérias, vírus e fungos (SINCLAIR; HARTMAN, 2008).

A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum truncatum*, está entre as principais doenças que atacam a cultura (MANANDHAR; HARTMAN, 1999), sendo o ataque do patógeno favorecido em condições de temperatura e umidade mais altas. A doença em questão é favorecida pelo sistema de monocultivo, pela técnica da semeadura direta e pelo plantio adensado, o que aumenta o microclima para o desenvolvimento de doenças no geral.

Agente causal da antracnose, o fungo *C. truncatum* pode ser transmitido via semente, restos culturais e parte aérea das plantas de soja. Os sintomas causados no vegetal incluem manchas castanho-escuras e negras nas folhas, pecíolos e vagens e queda das folhas e vagens, abertura das vagens imaturas e germinação dos grãos em formação (GALLI et al., 2005). Ainda, pode ocasionar a redução na sobrevivência e germinação das plantas jovens e tombamento (BEGUM et al., 2008).

O controle dessa doença se baseia na eliminação das fontes de inóculo através do uso de sementes sadias (tratamento de sementes), rotação de culturas, manejo adequado do solo, uso de variedades resistentes e aplicação de fungicidas (ADAMI et al, 2006). Porém, o processo de modernização da agricultura a partir da década de 1960, com a imposição do pacote da Revolução Verde, alterou as práticas tradicionais de lidar com a terra. Consorciação de culturas, rotação, pousio, práticas de adubação orgânica quase foram extintas do universo agrícola quando desembarcaram os insumos de um novo modelo imposto aos produtores por meio de programas de financiamento do governo e de assistência técnica (ALTIERI, 2004). Esse modelo contribuiu para disseminar diversos problemas ambientais, como erosão do solo e perda da sua fertilidade natural, desertificação, poluição por uso indiscriminado de agrotóxicos e perda da biodiversidade. As práticas modernas implicaram na simplificação dos agroecossistemas tornando-os mais suscetíveis a determinadas pressões ambientais, como um excessivo ataque

de pragas e doenças e mudanças climáticas, ou seja, ecossistemas com baixo poder de resiliência e resistência.

Diversos estudos têm sido realizados com o intuito de encontrar alternativas menos agressivas ao meio ambiente, como o uso de extratos e óleos vegetais no manejo de diversos patossistemas. O uso de produtos naturais, incluindo extratos e óleos essenciais, é efetivo no tratamento de diversas doenças em plantas e reconhecido como técnica de manejo de cultivos por diversos povos que lidam com o campo (BRUM, 2012). Esses produtos são provenientes do metabolismo secundário de plantas, que estabelecem relações entre a planta e o ambiente em que vive, tendo-se como exemplo processos de cicatrização proporcionados pela ação adstringente dos taninos encontrados em pimenta-rosa (*Schinus terebinthifolius*), assim como efeitos antibacterianos e outras atividades inibidoras atribuídos às plantas dessa espécie (LIPINSKI et al., 2012). A valorização de defensivos naturais é fundamental, sobretudo pela facilidade de sua obtenção. O pequeno ou médio produtor tem uma vasta disponibilidade de matéria prima em seu local de cultivo, com potencial de interferência na incidência de doenças de plantas. O estudo com extratos e óleos vegetais usados no manejo de fitopatógenos tem avançado e diferentes patossistemas estão sendo estudados.

Dessa forma, em razão da importância dessa doença para a cultura da soja e da necessidade urgente de alternativas viáveis e métodos de manejo ecológico para diminuir o uso excessivo de agrotóxicos no campo, fortalecer uma agricultura efetiva e de base ecológica e para a elaboração de técnicas mais sinérgicas à utilização dos recursos naturais, o presente projeto foi desenvolvido.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Características da pimenta-rosa ou aroeira (*Schinus terebinthifolius*) e seu uso em potencial como inibidora do desenvolvimento de fungos

A *Schinus terebinthifolius* Raddi é uma espécie pioneira e nativa do Brasil, pertencente à família Anacardiaceae. Entre seus nomes populares está pimenta-rosa, aroeira-pimenteira, aroeira-vermelha, aroeira e outros, que fazem referência principalmente ao aspecto morfológico de seus frutos (LENZI & ORTH, 2004). A aroeira-pimenteira é uma árvore aromática que pode atingir de 5 a 10 metros de altura e 30 a 60 cm de diâmetro, possuindo copa larga e tronco com casca grossa. Apresenta folhas e flores pequenas, sendo, essas últimas, masculinas ou femininas (GILBERT & FAVORETO, 2011). Os frutos de pimenta-rosa são drupas arredondadas, de coloração que varia de rósea a vermelho-vivo, com aproximadamente 5 milímetros de diâmetro

(LENZI & ORTH, 2004; LORENZI & MATOS, 2008 apud GILBERT & FAVORETO, 2011). Ainda de acordo com Gilbert & Favoreto (2011), a espécie pode ser encontrada em todo o território brasileiro, estendendo-se pelo litoral e interior, e abrange a maior parte da América do Sul, tendo sido também muito introduzida em outros lugares, como os Estados Unidos.

Os efeitos dos óleos essenciais de pimenta-rosa vêm sendo citados em diversos trabalhos (SCHWENGBER et al., 2017), assim como os de outras espécies (ANDRADE & VIEIRA, 2016; RAMOS et al., 2016). Foram comprovadamente identificados taninos na espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi, através de estudos fitoquímicos, que por sua vez possuem atividades biológicas que atuam contra determinados microrganismos (MARTINEZ et al., 1996, LIMA et al., 2006, ZANINI et al., 2009 apud GONÇALVES et al., 2012). Uma outra análise fitoquímica feita por Carvalho et al. (2003 apud CLEMENTE, 2006) demonstrou que a espécie contém uma grande quantidade de óleo essencial, sendo rica em taninos, alcaloides, flavonoides, esteróis, terpenos e saponinas esteroidais. Além disso, a atividade antifúngica do óleo essencial de pimenta-rosa foi comprovada por Siddiqui et al. em 1996 (apud CLEMENTE, 2006), possuindo resultado positivo contra todos os patógenos testados, como *Aspergillus niger* e *Penicillium digitatum*.

Nos experimentos de Schwengber et al. (2017), foi observada redução populacional dos nematoides de espécie *Pratylenchus zae* na cultura no milho, tanto *in vitro* como *in vivo*, a partir do óleo essencial dos frutos e folhas de pimenta-rosa. Andrade & Vieira (2016) utilizaram óleos essenciais de várias espécies para estudos com o fungo causador da antracnose *Colletotrichum gloeosporioides* em mamoeiro (*in vitro* e *in vivo*), concluindo que os provenientes de anis, alecrim, árvore-chá e menta podem ser utilizados para seu controle por possuírem efeito fungitóxico e fungistático.

Santos et al. (2010) inferem que, em pesquisas realizadas *in vitro* com óleos essenciais de *Schinus molle* e *S. terebinthifolius*, o da pimenta-rosa teve o melhor efeito fungicida contra fungos *Botrytis* spp., também inibindo o crescimento do halo de *Colletotrichum* spp. e *Alternaria* spp.

Além disso, como discorre Clemente (2006), a pimenta-rosa e seu óleo essencial também são empregados na culinária e na medicina, sendo utilizada em diferentes lugares para inúmeros males, como resfriados, cólicas menstruais, processos inflamatórios no geral, entre outros.

2.2. Importância e características da cultura da soja (*Glycine max*)

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma oleaginosa pertencente à família Fabaceae, com origem no continente asiático, e um dos produtos agrícolas mais importantes produzidos no mundo, sendo classificada como uma *commodity*. O Brasil atualmente influi bastante nesse mercado, ocupando o posto de maior exportador e segundo maior produtor, ficando atrás apenas dos Estados Unidos. O grão, além de empregar alta quantidade de mão-de-obra, serve como alimento para animais (suínos, aves e outros) e seres humanos, produção de óleos e biocombustíveis (CARVALHO et al., 2012; BRITO, 2018).

No Brasil, a maior produção se concentra no estado do Mato Grosso e outros locais na região do Cerrado, possuidora de boas condições físicas do solo, regime pluviométrico favorável, baixo valor da terra e boa via de acesso (FREITAS, 2011 apud CARVALHO et al., 2012; IMEA, 2015). Entretanto, o grão ainda pode se desenvolver em outras regiões brasileiras com produtividades médias superiores aos EUA (BUENO et al., 2007 apud CARVALHO et al., 2012). Na região Sul do país diversos agricultores familiares se dedicam à produção desse grão.

A soja é utilizada na alimentação por ser um grão rico em proteína, mas necessita passar primeiro por um processo de industrialização. Com esse processo, são gerados os farelos e óleos de soja, também bastante comercializados. O farelo, também com alto teor proteico, é empregado como suplemento alimentar e na produção de ração de pets, entre outros. O óleo, por sua vez, rico em ácidos graxos poli-insaturados, pode ser utilizado na cozinha ou indústrias de tinta de caneta, biodiesel, detergente etc (MISSÃO, 2006 apud IMEA, 2015).

Contudo, assim como toda cultura, a soja está sujeita a diversos ataques de doenças e pragas, que acabam por causar grande prejuízo ao mercado. Segundo Almeida (1977), a maioria das doenças da soja são causadas por fungos, como a mancha púrpura (*Cercospora kikuchii*), morte em reboleira (*Rhizoctonia solani*), podridão negra (*Macrophomia phaseolina*), antracnose (*Colletotrichum truncatum*), mancha de alternaria (*Alternaria* spp.) e ferrugem asiática (*Phakopsora meibomiae*). Ainda podem ocorrer doenças causadas por vírus, bactérias, nematoides ou desenvolvidas por fatores abióticos.

A antracnose, em específico, é uma doença causada pelo fungo *Colletotrichum truncatum*, que também pode afetar outras culturas, como feijão, amendoim, alfafa, pimentão e pimenta (CAI L et al., 2009 apud BRITO, 2018). Esse fungo pode atacar a cultura desde as fases iniciais de desenvolvimento (HENNING, 2009; BRITO, 2018). Entre alguns de seus

sintomas estão morte de plântulas e manchas negras nas nervuras das folhas, hastes e vagens; queda das vagens ou deterioração das sementes; vagens retorcidas, com manchas marrons e lesões em estrias (HENNING et al., 2014). Além disso, sementes infectadas não germinam ou dão origem a plântulas que logo morrem, com cotilédones apresentando manchas necróticas escuras e deprimidas (BRITO, 2018).

Segundo Henning et al. (2014), a antracnose ocorre com maior frequência da região de Cerrado, devido ao clima favorável, com altas precipitação e temperatura. Nesse local pode haver perda total da produção ou redução do número de vagens, que induz a planta à retenção foliar e haste verde, em anos chuvosos.

2.3. Manejo da antracnose da soja e a importância do uso de métodos alternativos no controle de doenças em plantas

Algumas medidas podem ser utilizadas no controle da antracnose da soja, como a rotação de culturas, a utilização de sementes saudáveis e o tratamento de sementes, o manejo adequado do solo, o espaçamento correto entre fileiras que permita bom arejamento, população adequada, assim como o uso de variedades resistentes e emprego de produtos químicos (fungicidas) (ADAMI et al., 2006 apud PESQUEIRA et al., 2016; HENNING et al., 2014).

Contudo, o controle feito através de produtos químicos desencadeia diversos problemas. A utilização desenfreada do mesmo agrotóxico ou de produtos com o mesmo mecanismo de ação acaba por selecionar fitopatógenos resistentes, que não respondem mais ao tratamento, obrigando os produtores a mudarem de tática. Segundo Koller (1998 apud PESQUEIRA et al., 2016), as populações de fungos se adaptam rapidamente aos benzimidazóis (Carbendazim), culminando na redução de sua sensibilidade ao fungicida. Além disso, de acordo com Basso et al. (2015), a mera utilização isolada do controle químico nem sempre funciona, necessitando medidas integradas que não prejudiquem a produção.

Atualmente, a sociedade está passando por uma crescente tomada de consciência quanto ao cenário agrícola, procurando cada vez mais produtos que não estiveram em contato com pesticidas. Além da já citada resistência dos fitopatógenos aos agrotóxicos, a cada dia ficam mais comprovados os efeitos negativos desses produtos na saúde humana, animal e no meio ambiente (MORANDI & BETTIOL, 2008 apud FERREIRA et al., 2014; KEFIALEWA & AVALEWB, 2008 apud RIBEIRO et al., 2016). Com essa mudança no mercado consumidor, a demanda por novas alternativas de controle também vem aumentando, assim como o interesse de instituições de pesquisas por produtos naturais, como óleos essenciais e extratos vegetais,

para o controle de doenças e pragas em plantas (SOYLU et al., 2010, ISMAN et al., 2011 apud VELOSO, 2016).

3. OBJETIVO

Avaliar a ação do óleo essencial de pimenta-rosa (*Schinus terebinthifolius*) no crescimento micelial *in vitro* do fungo *Colletotrichum truncatum*, agente causal da antracnose na soja (*Glycine max*).

4. METODOLOGIA

4.1. Obtenção do patógeno

O patógeno plaqueado, identificado como CMES1059, foi obtido do Laboratório de Micologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”: Universidade de São Paulo (ESALQ/USP). Ele foi isolado da cultura da soja no estado do Paraná, considerado por Rogério et al. (2016) como um dos mais agressivos. A partir da placa inicial, o fungo foi repicado diversas vezes, de modo a garantir o seu desenvolvimento.

4.2. Obtenção do óleo essencial

O óleo essencial de pimenta-rosa foi obtido através do site da empresa Terra Flor Aromaterapia, a qual utiliza o método de destilação a vapor (hidrodestilação) dos frutos maduros, considerada por Silva et al. (2005) o método que propicia a extração de maior quantidade de componentes do óleo. Cada recipiente com 10 ml de óleo essencial foi obtido pelo valor de 70 (setenta) reais.

4.3. Plaqueamento do fungo

O meio de cultura utilizado foi o de Batata-Dextrose-Ágar (BDA), que, após devidamente preparado e autoclavado, foi vertido em placas de Petri, contendo 20 ml cada uma delas. Foram realizados 4 tratamentos, a saber: controle (T1); óleo essencial misturado ao meio de cultura ainda quente, com concentração específica (T2); óleo essencial espalhado na superfície do meio de cultura já vertido, com concentração específica (T3); óleo essencial pipetado em papel filtro, colocado na tampa da placa de Petri, com concentração específica (T4). As concentrações variaram entre 25, 30, 50, 200, 500 e 800 µl, mas apenas as duas últimas apresentaram resultados significantes.

Foram retirados discos de micélio da placa de Petri contendo o patógeno, sendo esses imediatamente plaqueados no centro das placas de Petri descritas anteriormente. Todas as placas foram mantidas em incubadora do tipo BOD à temperatura de 25°C, com fotoperíodo de 12 h de luz, pelo tempo do experimento, como no trabalho de Rogério (2015).

4.4. Taxa de crescimento micelial *in vitro*

O crescimento micelial foi medido com régua após 3, 5, 7 e 9 dias. Foi registrado, em milímetros, o comprimento do diâmetro da colônia em dois eixos ortogonais. A taxa de crescimento micelial por dia (mm/dia) foi definida pela média das duas medidas, assim como no experimento de Brito (2018).

4.5. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, possuindo quatro repetições para cada tratamento, sendo 4 tratamentos existentes. No total, foram dezesseis unidades experimentais, ou seja, dezesseis placas de Petri contendo colônias, contando as placas controle. A análise estatística foi feita através do software AgroEstat (<https://www.agroestat.com.br/>).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos a partir da medição do diâmetro dos crescimentos miceliais das colônias de *Colletotrichum truncatum* para os quatro tratamentos deixaram em evidência uma diferença significativa entre os que continham o óleo essencial de pimenta-rosa e o da placa controle (testemunha). O tratamento 3, contendo óleo essencial em superfície, obteve taxa de inibição de 70,57% em concentração de 800 µl; os tratamentos 2 e 4 apresentaram desempenhos semelhantes.

Tabela 1. Diâmetro médio (cm) e porcentagem de inibição (%) de *Colletotrichum truncatum* nos diferentes tratamentos com óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* e testemunha, à concentração de 500 µl.

Tratamento	Média	% inibição
Testemunha (T1)	5,60 a	0
Meio (T2)	2,91 ab ¹	39,74
Superfície (T3)	1,93 b	56,03
Filtro (T4)	2,89 ab ¹	41,04

C.V.	47,78	%
-------------	-------	---

¹ Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Valor do coeficiente de variação = 47,78%.

Tabela 2. Diâmetro médio (cm) e porcentagem de inibição (%) de *Colletotrichum truncatum* nos diferentes tratamentos com óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* e testemunha, à concentração de 800 µl.

Tratamento	Média	% inibição
Testemunha (T1)	5,54 a	0
Meio (T2)	2,06 b ¹	57,19
Superfície (T3)	1,55 b ¹	70,57
Filtro (T4)	2,44 b ¹	54,51
C.V.	51,07	%

¹ Médias seguidas por letra diferente diferem significativamente entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Valor do coeficiente de variação = 51,07%.

Observou-se que, quanto maior a concentração aplicada do óleo essencial, maior a inibição do crescimento do fungo. O aumento das taxas de inibição da concentração de 500 µl para 800 µl para os tratamentos T2, T3 e T4 foram, respectivamente, de 17,45, 14,54 e 13,47%. Apesar do tratamento 3 apresentar a maior taxa de inibição em ambas as concentrações, sendo de 13 a 15% maior que as dos outros, o tratamento 2 foi o que apresentou aumento de taxa mais significativo.

As figuras 1 e 2 mostram o crescimento micelial de *C. truncatum* quando submetido aos tratamentos à concentração de 500 µl e 800 µl, respectivamente, do óleo essencial de pimenta-rosa (*S. terebinthifolius*) comparados com a testemunha (T1) durante o período de 12 dias, tornando nítida a inibição dos crescimentos.

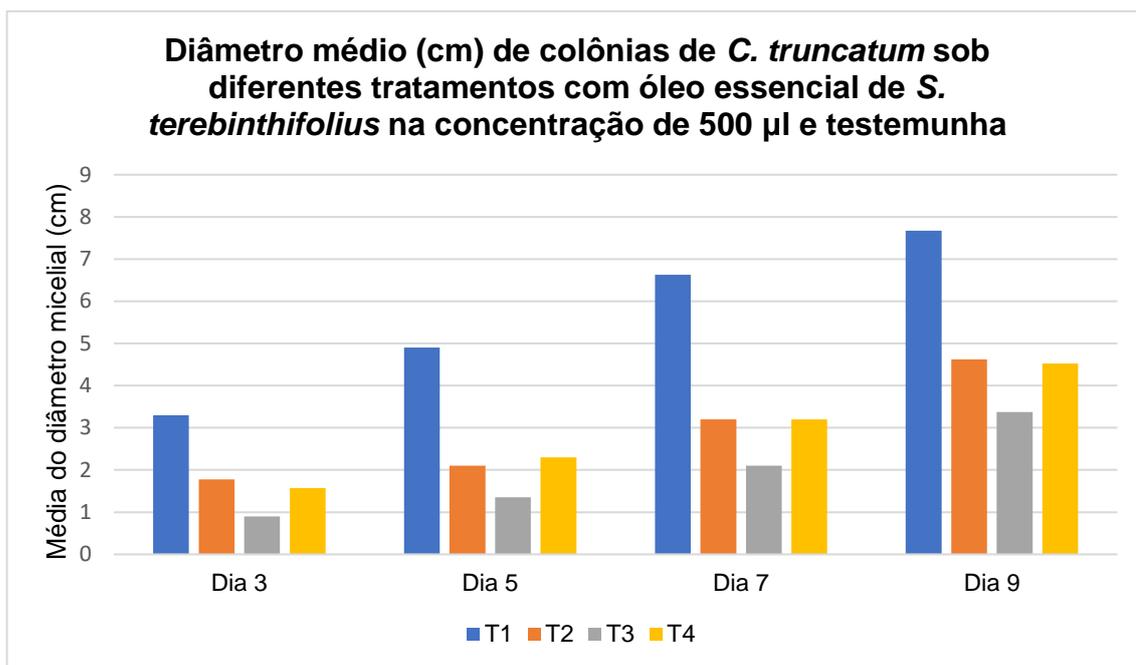


Figura 1. Crescimento micelial de *C. truncatum* no período de avaliação do experimento de 9 dias (500 µl).

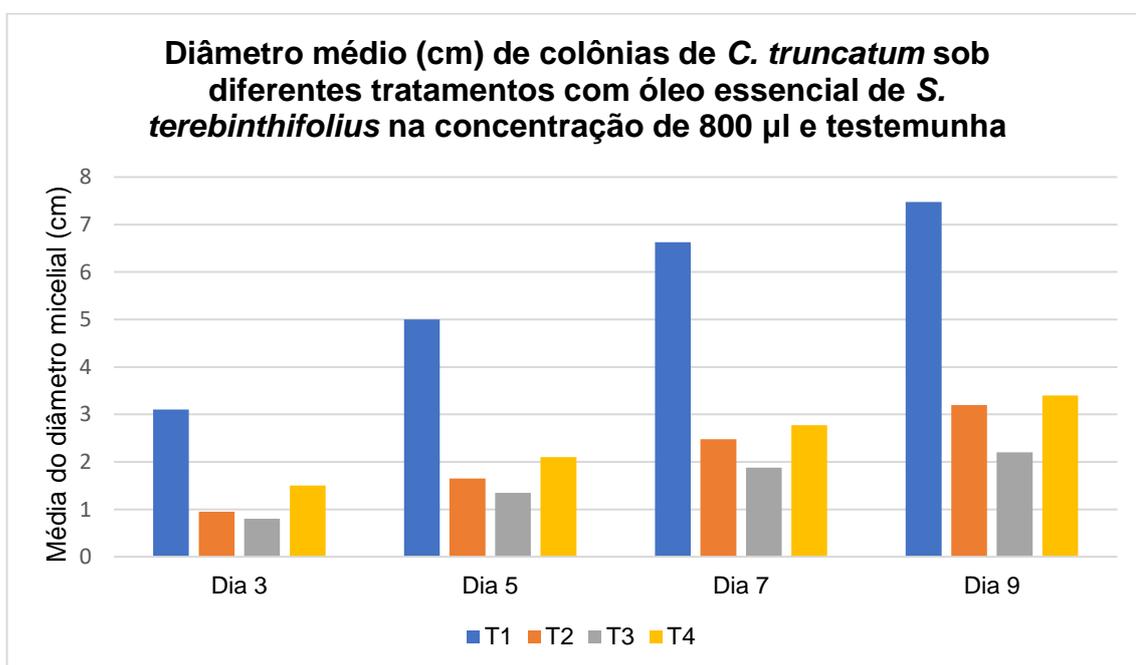


Figura 2. Crescimento micelial de *C. truncatum* no período de avaliação do experimento de 9 dias (800 µl).

As figuras 3 a 6 mostram a ação dos diferentes tratamentos (cada um com duas repetições) no crescimento micelial do patógeno, ilustrando a maior taxa de inibição alcançada pelo T3 de forma significativa.

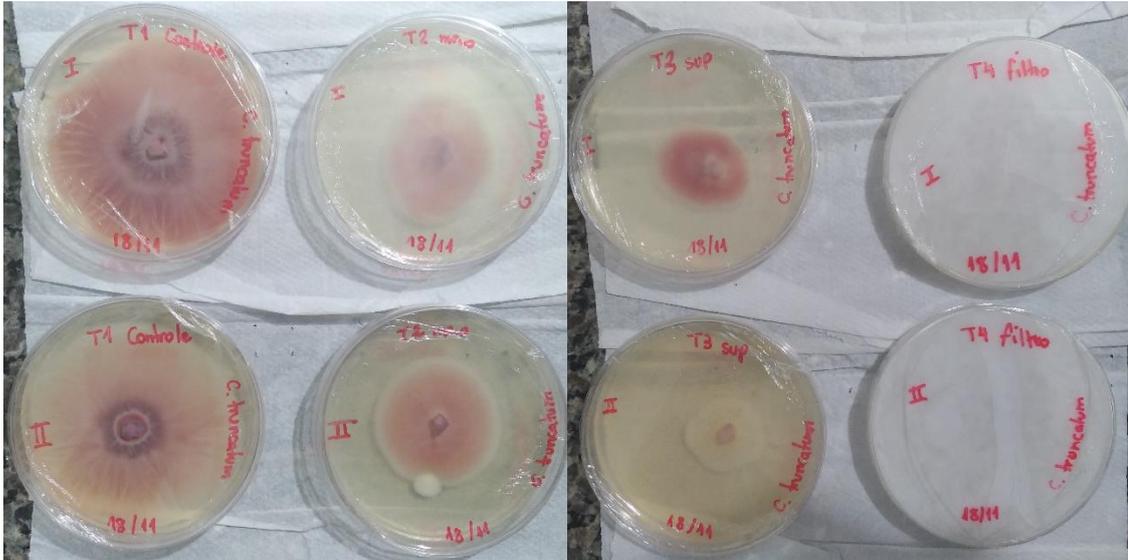


Figura 3. Utilização de 500 μ l. (A) Colônia de *C. truncatum* testemunha, em meio BDA sem o óleo essencial; (B) *C. truncatum* em meio BDA misturado ao óleo essencial; (C) *C. truncatum* em meio BDA com óleo essencial na superfície; (D) *C. truncatum* em meio BDA com óleo essencial no filtro.

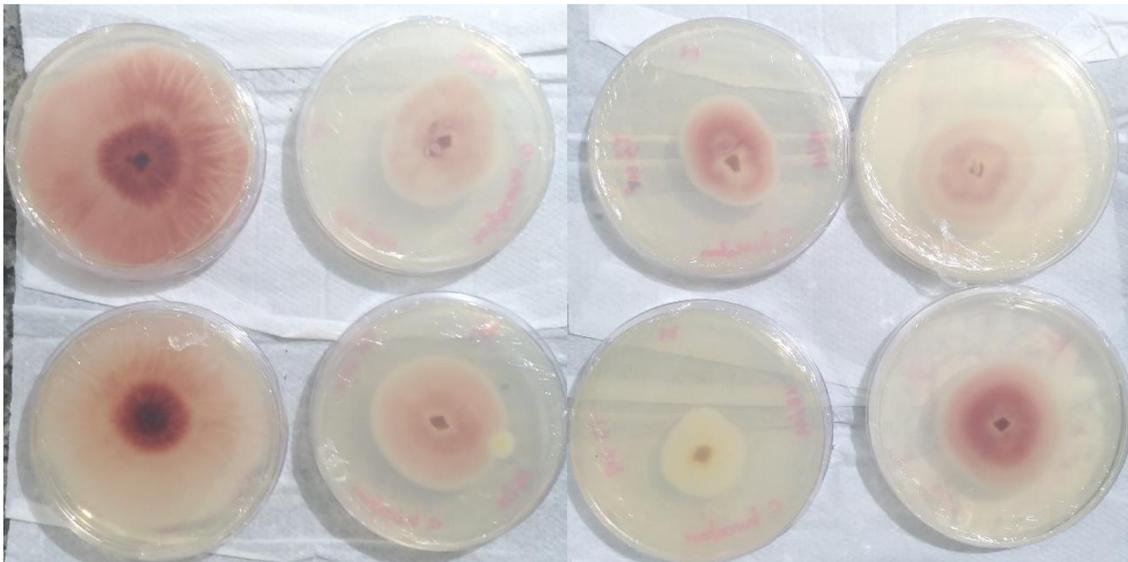


Figura 4. Utilização de 500 μ l. (A) Colônia de *C. truncatum* testemunha, em meio BDA sem o óleo essencial; (B) *C. truncatum* em meio BDA misturado ao óleo essencial; (C) *C. truncatum* em meio BDA com óleo essencial na superfície; (D) *C. truncatum* em meio BDA com óleo essencial no filtro.

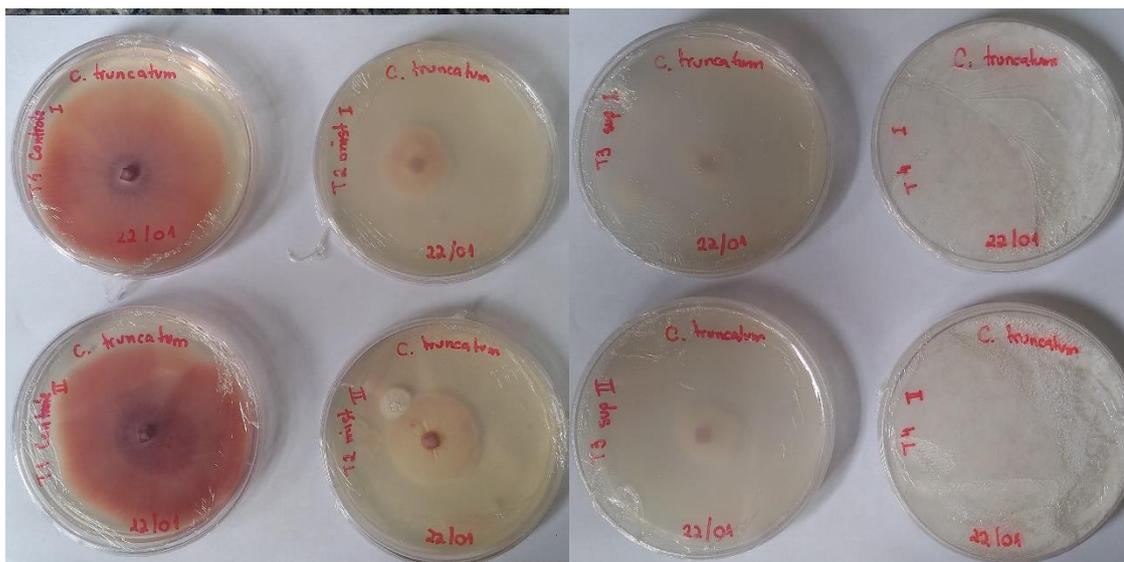


Figura 5. Utilização de 800 µl. (A) Colônia de *C. truncatum* testemunha, em meio BDA sem o óleo essencial; (B) *C. truncatum* em meio BDA misturado ao óleo essencial; (C) *C. truncatum* em meio BDA com óleo essencial na superfície; (D) *C. truncatum* em meio BDA com óleo essencial no filtro.

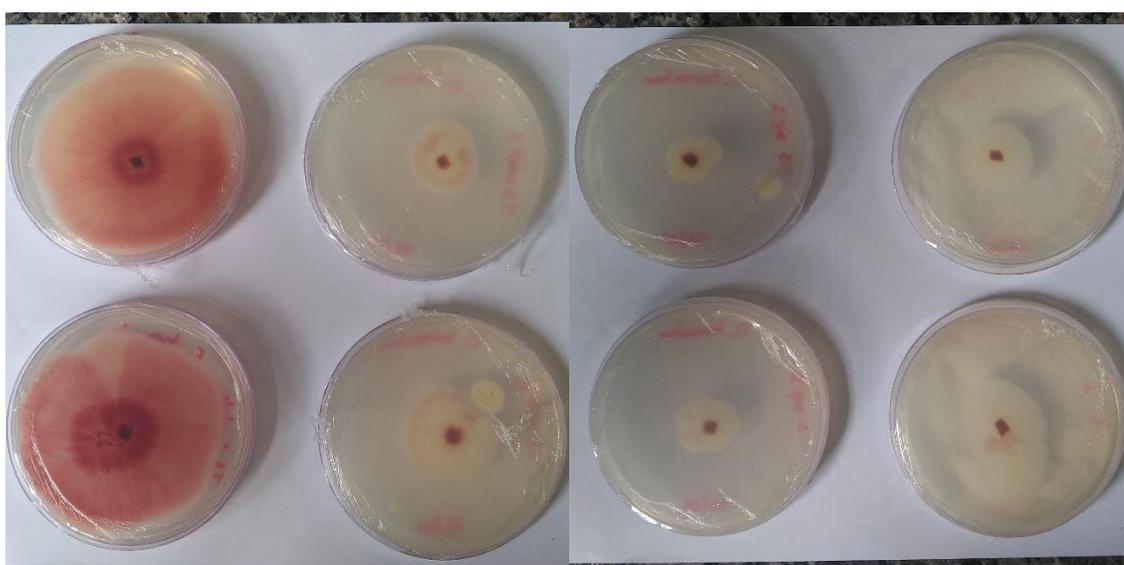


Figura 6. Utilização de 800 µl. (A) Colônia de *C. truncatum* testemunha, em meio BDA sem o óleo essencial; (B) *C. truncatum* em meio BDA misturado ao óleo essencial; (C) *C. truncatum* em meio BDA com óleo essencial na superfície; (D) *C. truncatum* em meio BDA com óleo essencial no filtro.

Ademais, notou-se alteração na morfologia e coloração das colônias em ambas as repetições (figuras 3 a 6), o que pode sugerir um efeito positivo do óleo essencial de pimenta-rosa em evitar e/ou inibir a esporulação do patógeno; no entanto, mais estudos são necessários para essa comprovação.

6. CONCLUSÕES

Embora nenhum tratamento e/ou concentração testados no presente projeto foram eficientes em inibir o crescimento micelial do patógeno em 100%, os resultados demonstram que a utilização do óleo essencial de pimenta-rosa pode ser uma alternativa natural aos agroquímicos atualmente utilizados no combate à antracnose da soja.

Ademais, deve ser explorada a viabilidade de produção e comercialização do óleo essencial pelo produtor rural, possibilitando até mesmo uma renda alternativa visto o alto valor pago por uma pequena quantidade de óleo.

Outros estudos e testes *in vitro* e *in vivo* se fazem necessários para melhor compreender a dinâmica dos processos envolvidos no caso.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMI, P. et al. **Eficiência de fungicidas no controle da antracnose (*Colletotrichum dematium* var. *truncata*) da soja (*Glycine max*).** Sinergismus scyentifica UTFPR, Pato Branco, v. 1, p. 22-28, 2006.

ALMEIDA, A. M. R. **Doenças de soja (*Glycine max* (L.) Merrill).** Centro Nacional de Pesquisa de Soja, EMBRAPA, Londrina – PR. 16p. 1977. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/121171/1/ID-4425.pdf>>.

ALTIERI, M; **Agroecologia: A dinâmica produtiva da agricultura sustentável.** Porto Alegre: Editora da UFRGS, 5 ed., 2004.

ANDRADE, W. P.; VIEIRA, G. H. C. **Efeito dos óleos essenciais sobre a antracnose *in vitro* e em frutos de mamoeiro.** Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v. 18, n. 1, supl. I, p. 367-372, 2016. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v18n1s1/1516-0572-rbpm-18-1-s1-0367.pdf>>.

BASSO, P.; BONALDO, S. M.; RUFFATO, S. (2014). **Avaliação de fungicidas no controle de antracnose e mancha alvo, e no rendimento da cultura da soja.** Scientia Agraria Paranaensis, v. 14, n. 3, p. 191-199, jul./set. 2015. Disponível em: <<http://e-revista.unioeste.br/index.php/scientiaagraria/article/download/10275/8918>>.

BEGUM, M. M. et al. **Pathogenicity of *Colletotrichum truncatum* and its influence on soybean seed quality.** International Journal of Agriculture and Biology, v. 10, n. 4, p. 393-398, 2008.

BRITO, R. A. dos S. ***Colletotrichum truncatum*, agente causal da antracnose da soja: uma comparação entre isolados obtidos de plantas assintomáticas e sintomáticas.** 2018. 79p. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2018.

BRUM, R. B. C. S. **Efeito de óleos essenciais no controle de fungos fitopatogênicos**. 2012. 135p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia), Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, TO, jan. 2012.

CARVALHO, L. C.; FERREIRA, F. M.; BUENO, N. M. **Importância econômica e generalidades para o controle da lagarta falsa-medideira na cultura da soja**. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 8, n. 15, p. 1021-1034, 2012. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2012b/ciencias%20agrarias/importancia%20economic a.pdf>>.

CLEMENTE, A. D. **Composição química e atividade biológica do óleo essencial da pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi)**. 2006. 63p. Dissertação (Magister Scientiae em Agroquímica), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, jan. 2006. Disponível em: <<http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/2077/texto%20completo.pdf?sequence=1>>.

FERREIRA, E. F. et al. (2013). **Uso de extratos vegetais no controle *in vitro* do *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. coletado em frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.)**. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal – SP, v. 36, n. 2, p. 346-352, jun. 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbf/v36n2/v36n2a10.pdf>>.

GALLI, J. A. et al. **Efeito de *Colletotrichum dematium* var. *truncata* e *Cercospora kikuchii* na germinação de sementes de soja**. Revista Brasileira de Sementes, v. 27, n. 2. p. 182-189, 2005.

GILBERT, B.; FAVORETO, R. ***Schinus terebinthifolius* Raddi**. Revista Fitos, v. 6, n. 1, dez. 2011. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/158/156>>.

GONÇALVES, F. G. et al. **Efeito da pimenta rosa associada a diversas dosagens de antibióticos em frangos de corte**. Ciência Rural, Santa Maria, v. 42, n. 8, p. 1503-1509, ago. 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v42n8/a22412cr4269.pdf>>.

HENNING, A. A. et al. **Manual de identificação de doenças de soja**. Embrapa Soja, Londrina – PR, 5 ed, 76 p, abr. 2014. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/991687/1/Doc256OL.pdf>>.

IMEA. **Entendendo o mercado da soja**. Workshop Jornalismo Agropecuário. 2015. Disponível em: <http://www.imea.com.br/upload/pdf/arquivos/2015_06_13_Paper_jornalistas_boletins_Soja_Versao_Final_AO.pdf>.

LENZI, M.; ORTH, A. I. **Caracterização funcional do sistema reprodutivo da Aroeira-Vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi), em Florianópolis-SC, Brasil**. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal – SP, v. 26, n. 2, p. 198-201, ago. 2004.

LIPINSKI, L. C. et al. **Effects of 3 topical plant extracts on wound healing in beef cattle**. Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med., v. 9, n. 4, p. 542-547, 2012.

MANANDHAR, J. B.; HARTMAN, G. L. **Anthracnose**. In: HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. (Ed.) Compendium of soybean diseases. 4 ed., Minnesota: APS, p. 13-14, 2008.

PESQUEIRA, A. da S.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L. **Associação de fungicidas no controle da antracnose da soja no Mato Grosso do Sul**. Rev. Ciênc. Agron., v. 47, n. 1, p. 203-212, jan./mar. 2016. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rca/v47n1/0045-6888-rca-47-01-0203.pdf>>.

RAMOS, K.; ANDREANI JUNIOR, R.; KOZUSNY-ANDREANI, D. I. **Óleos essenciais e vegetais no controle in vitro de Colletotrichum gloeosporioides**. Rev. Bras. PI. Med., Campinas, v. 18, n. 2, supl. I, p. 605-612, 2016. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v18n2s1/1516-0572-rbpm-18-2-s1-0605.pdf>>.

RIBEIRO, J. G.; SERRA, I. M. R. de S.; ARAÚJO, M. U. P. (2015). **Uso de produtos naturais no controle de antracnose causado por Colletotrichum gloeosporioides em mamão**. Summa Phytopathol., Botucatu, v. 42, n. 2, p. 160-164, 2016. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/sp/v42n2/0100-5405-sp-42-2-0160.pdf>>.

ROGÉRIO, F. **Etiologia e variabilidade do agente causal da antracnose da soja no Brasil**. 2015. 68p. Dissertação (Mestra em Ciências), Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2015. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11135/tde-25052015-171405/publico/Flavia_Rogério_versao_revisada.pdf>.

ROGÉRIO, F. et al. **Phylogeny and variability of Colletotrichum truncatum associated with soybean anthracnose in Brazil**. Journal of Applied Microbiology, v. 122, n. 2, p. 402-415, 2016.

SANTOS, A. C. A. dos et al. (2008) **Efeito fungicida dos óleos essenciais de Schinus molle L. e Schinus terebinthifolius Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul**. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 20, n. 2, p. 154-159, abr./mai. 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v20n2/a03v20n2.pdf> >.

SCHWENGBER, R. P. et al. **Óleo essencial das folhas e frutos de Schinus terebinthifolius Raddi no controle de Pratylenchus zae**. Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR, Umuarama, v. 20, n. 3, p. 153-159, jul./set. 2017. Disponível em: <<http://revistas.unipar.br/index.php/veterinaria/article/viewFile/6692/3546>>.

SILVA, L. V. et al. **Extração do óleo essencial de pimenta rosa (Schinus molle) usando hidrodestilação e soxhlet**. In: VI CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA – COBEQ – IC, 2005, Foz do Iguaçu. p. 1-7, 2005.

SINCLAIR, J. B.; HARTMAN, G. L. **Soybean diseases**. In: HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. (Ed.). Compendium of soybean diseases. 4 ed., Minnesota: APS, p. 3-4, 2008.

VELOSO, R. A. **Óleos essenciais como controle alternativo de fitopatógenos**. 2016. 140 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal), Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal do Tocantins, 2016. Disponível em: <<http://www.uft.edu.br/producaovegetal/teses/Ronice%20Alves%20Veloso.pdf>>.