



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS DE LARANJEIRAS DO SUL
CURSO DE AGRONOMIA COM LINHA DE FORMAÇÃO EM
AGROECOLOGIA

JACSON PAULO GERGELI

USO DO ÓLEOS ESSENCIAIS EM SUBSTRATO PARA CONTROLE DE
TOMBAMENTO EM PLÂNTULAS DE TOMATEIRO

LARANJEIRAS DO SUL

2018

JACSON PAULO GERGELI

**USO DO ÓLEOS ESSENCIAIS EM SUBSTRATO PARA CONTROLE DE
TOMBAMENTO EM PLÂNTULAS DE TOMATEIRO**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado como requisito para obtenção de grau
de Bacharel em Agronomia da Universidade
Federal da Fronteira Sul.

Orientador. Prof. Dr. Gilmar Franzener

LARANJEIRAS DO SUL

2018

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Gergeli, Jacson Paulo

Uso de óleos essenciais em substrato para controle de tombamento em plântulas de tomateiro / Jacson Paulo Gergeli. -- 2018.

32 f.:il.

Orientador: Gilmar Franzener.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Agronomia, Laranjeiras do Sul, PR , 2018.

1. Óleos essenciais. 2. Tombamento. 3. Mudanças orgânicas. I. Franzener, Gilmar, orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

JACSON PAULO GERGELI

**USO DO ÓLEOS ESSENCIAIS EM SUBSTRATO PARA CONTROLE DE
TOMBAMENTO EM PLÂNTULAS DE TOMATEIRO.**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Agronomia com Ênfase em Agroecologia da Universidade Federal da Fronteira Sul – *Campus de Laranjeiras do Sul* (PR).

Orientador. Prof. Dr. Gilmar Franzener

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:
07/12/2018.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Gilmar Franzener (UFFS)



Prof. Dr. Lisandro Tomas da Silva Bonome (UFFS)



Dra. Gabriela Silva Moura (PNPD - UFFS)

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo, avaliar o uso de óleos essenciais (OE) de plantas bioativas, tomilho (*Thymus vulgaris*), coentro (*Coriandum sativum*) e manjeriço (*Ocimum basilicum*), no controle de tombamento de plântulas de tomateiro, causados pelos fungos *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum*. No teste de crescimento micelial, o OE foi incorporado no meio de cultura BDA, nas concentrações de 0, 0,05, 0,1, 0,5 e 1%, logo após, foi repicado no centro de cada placa um disco de 5 mm de micélio. As placas de Petri foram alocadas em B.O.D. e realizado a medição do diâmetro médio das colônias e esporulação, quando as maiores colônias atingiram $\frac{3}{4}$ da placa. No teste de fitotoxidez em sementes de tomateiro foram utilizadas as concentrações de 0, 0,05, 0,1, 0,5 e 1%, diluídos em água e espalhante adesivo Tween® 20 a 0,2% e aplicado a solução em papel germitest, onde as sementes foram semeadas, alocadas em gerbox em B.O.D. a $\pm 25^{\circ}\text{C}$ e contadas após 21 dias. No teste de substrato contaminado, em casa de vegetação, os fungos foram inoculados em substrato e dispostos em bandejas de isopor com 200 células, utilizando os OE de *Ocimum basilicum* e *Coriandum sativum* na concentração de 0,5%, feito a avaliação após 21 dias. Tanto no crescimento micelial como na fitotoxidez, conforme aumentou a concentração, houve maior inibição dos fungos e efeito fitotóxico nas sementes, com destaque para OE de *Thymus vulgaris* que promoveu inibição total do crescimento fúngico e da germinação de sementes a partir de 0,1%. No teste de substrato, os tratamentos com OE foram efetivos no controle de tombamento, indicando potencial no controle alternativo ao uso de fungicidas.

Palavras chaves: *Solanum lycopersicum*, fungitóxico, plantas bioativas.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the use of essential oils (OE) of bioactive plants, thyme (*Thymus vulgaris*), coriander (*Coriandrum sativum*) and basil (*Ocimum basilicum*), in the control of tomato planting trowels caused by fungi *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum*. In the mycelial growth test, OE was incorporated in the BDA culture medium at concentrations of 0, 0.05, 0.1, 0.5 and 1%, after which it was peeled in the center of each plate a disc of 5 mm of mycelium, allocated in BOD and made the measurement of the average diameter of the colonies and sporulation, when the largest ones reached $\frac{3}{4}$ of the plate. In the test of phytotoxicity in tomato seeds were used the concentrations of 0, 0.05, 0.1, 0.5 and 1%, diluted in water and Tween® 20 adhesive spreader at 0.2% and applied to the solution in germitest paper, where the seeds were seeded, placed in gerbox in BOD at ± 25 ° C and counts after 21 days. In the test of contaminated substrate, in greenhouse The fungi were inoculated on substrate and placed in Styrofoam trays with 200 cells, using the OE of basil and coriander in the concentration of 0.5%, done the evaluation after 21 days. Both mycelial growth and phytotoxicity, as concentration increased, there was a greater inhibition of fungi and a phytotoxic effect in the seeds, with emphasis on thyme OE, which promoted total inhibition of fungal growth and seed germination from 0.1%. In the substrate test, the treatments with OE were effective in the control of tipping, indicating potential in the alternative control to the use of fungicides.

Key words: *Solanum lycopersicum*, fungitoxic, bioactive plants.

SUMARIO

INTRODUÇÃO	8
MATERIAL E METODOS	10
Teste de crescimento micelial.....	10
Teste de fitotoxidez.....	11
Teste de substrato inoculado com patógeno.....	11
RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
Teste de crescimento micelial.....	12
Teste de fitotoxidez nas sementes.....	15
Teste de substrato inoculado com patógeno.....	18
CONCLUSÃO	24
REFERÊNCIAS	24
ANEXO A (Instructions to authors).....	29

INTRODUÇÃO

O tomate é uma olerícola de grande importância para a economia brasileira. É a segunda hortaliça mais produzida no país, com uma área plantada de 64.281 ha, e produção de 4.167.629 quilogramas, com uma média de 65.140 quilogramas por hectare (IBGE, 2016). Por ser uma hortaliça de ciclo curto e alto rendimento, acaba sendo uma ótima alternativa para produtores com pequenas propriedades e agricultura familiar, pois, muitas vezes, agregam valor por serem destinados a segmentos especiais de mercado, como a de produtos orgânicos (BOITEUX, 2018). No entanto, a produção de tomate orgânico não é suficiente para atender a demanda desse nicho de mercado, isso se deve principalmente a dificuldade de controlar o ataque de pragas e doenças (LEAL, 2006). Uso intensivo de agrotóxicos na cultura, muitas vezes com calendário de aplicação, é resultado do alto investimento inicial, junto ao medo de perder a lavoura, somado a falta de instrução técnica (REIS-FILHO et al., 2009).

Na última reunião da Câmara Temática da Agricultura Orgânica em 2013, foi revisada a Instrução Normativa (IN) nº 46, de 6 de outubro de 2011, que proibia, a partir do dia 19 de dezembro de 2013, a utilização de sementes e mudas tratadas, permitindo apenas o uso de sementes orgânicas. O prazo dessa obrigatoriedade foi revogado, dada à escassez de sementes orgânicas e dificuldade do controle fitossanitário, devido a proibição de uso de agrotóxicos no tratamento de sementes, especialmente aos patógenos causadores de tombamento (LOPES, 2014).

A cultura do tomateiro é propagada quase que exclusivamente por sementes, sendo esse o principal insumo da lavoura, pois é depositória tanto das melhorias como das características agronômicas realizados por pequenos agricultores familiares, por seleção de cultivares, também pelos avanços tecnológicos desenvolvidos pelos pesquisadores ao longo do ano. Contudo, muitas vezes as sementes de qualidade vêm de longe da região produtora, induzindo o produtor a produzir suas próprias mudas. Devido ao alto custo de substratos comerciais o produtor acaba fazendo seu próprio substrato, utilizando como matéria prima encontradas próximas de sua casa, reduzindo custos (VIEIRA, 2011).

A atividade microbiana do substrato é muito importante para produção de mudas, pois desempenham várias funções como, decomposição de resíduos orgânicos com liberação de CO₂ e nutrientes, simbiose mutualista com a planta e controle biológico de doenças em uma relação positiva e proporcional, entre diversidade e supressão de doenças, mas muitas vezes o substrato pode estar contaminado por agentes patogênicos saprófitos ou que possuem escleródios (estruturas de sobrevivência), causando tombamento em plântulas, pré e pós emergência (SUMIDA, 2013).

O custo de esterilização por autoclave, a proibição de brometo de metila e a ineficiência de desinfestação por outros processos tais como a compostagem e a solarização do solo ou do substrato além do tempo relativamente longo para sua execução, a desuniformidade do tratamento há pouca garantia da eficácia dos processos (SILVA, 2001).

Dos agentes etiológicos causadores de tombamento, também conhecido com damping-off a *Rhizoctonia solani* é um dos principais fungos de solo, pois apresentam uma ampla gama de hospedeiros, produz escleródios e sobrevive saprofiticamente por anos (OLIVEIRA, 2009). Já *Fusarium oxysporum* é um fungo que atua invadindo frequentemente as pontas das raízes, podendo penetrar no hospedeiro por aberturas naturais ou ferimentos causados por nematoides ou o próprio manuseio na hora do transplante.

Uma das formas de evitar o tombamento de plântulas é o tratamento de sementes com fungicidas, mas a crescente preocupação com os padrões de produção agrícola livre de agrotóxicos e a busca por alimentos saudáveis, tem levado o produtor a buscar novos métodos de controle a fitopatógenos. Produtos alternativos, como eliciadores e indutores de resistência em plantas são opções com grande potencial (BETTIOL, 2003). Neste sentido, o uso de óleos essenciais de plantas bioativas, tem mostrado um grande potencial no controle de fitopatógenos, agindo como elicitador ao induzir a produção de fitoalexinas, e ou, por sua ação fungitóxica direta, inibindo a germinação de esporos e o crescimento micelial (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

Plantas bioativas são aquelas plantas que possuem alguma ação em outros seres vivos, tanto pelo uso direto de substâncias delas extraídas, como pela sua presença em um ambiente específico, com consciência humana deste efeito (SCHIEDECK, 2008). Neste contexto, o uso das plantas bioativas na

defesa fitossanitária dos cultivos agrícolas pode ser um grande aliado do produtor, devido ao fácil acesso, custo e praticidade.

Este trabalho teve por objetivo, investigar o potencial fungitóxico dos óleos essenciais de plantas bioativas de tomilho (*Thymus vulgaris*), manjeriço (*Ocimum basilicum*) e coentro (*Coriandrum sativum*), para controlar tombamento causado por *Fusarium oxysporum* e *Rhizoctonia solani* em plântulas de tomateiro, através de testes *in vitro* para crescimento micelial dos fungos, fitotoxicidade nas sementes, e teste em casa de vegetação aplicando óleos essenciais no substrato.

MATERIAL E METODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia e em casa de vegetação da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), campus Laranjeiras do Sul – PR. No desenvolvimento da pesquisa utilizou-se sementes da variedade Santa Cruz Kada (Paulista), adquiridas da empresa ISLA[®], lote 108156-000, com germinação de 86%, pureza de 99,9% e categoria S2, sem tratamento químico.

Os isolados dos fungos *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum* foram obtidos da coleção micológica do Laboratório de Fitopatologia. Esses isolados foram provenientes de plantas de tomateiro na região da Cantuquiriguaçu, PR. Os óleos essenciais de tomilho e manjeriço foram adquiridos da empresa PHYTOTERÁPICA[®] e o de coentro da empresa QUINARÍ[®].

Teste de crescimento micelial

Foram avaliados os fitopatógenos causadores de podridões radiculares *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum*. Foram utilizados óleos essenciais de três plantas diferentes, tomilho (*Thymus vulgaris*), coentro (*Coriandrum sativum*) e manjeriço (*Ocimum basilicum*). Para tanto, o óleo essencial de cada planta bioativa foi incorporado em meio de cultura BDA, após autoclavagem e antes de verter em placas de Petri, nas concentrações de 0,05, 0,1, 0,5 e 1%. A testemunha teve apenas meio de cultura BDA. O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro repetições em esquema fatorial 3 x 5 (óleos essenciais de três espécies em cinco concentrações cada). Para o centro de cada placa foi repicado um disco de 5 mm de micélio proveniente de colônias com 7 dias de cultivo. As placas foram alocadas em câmara B.O.D. a 25° C. O crescimento

micelial foi determinado a cada dois dias através da medição do diâmetro médio das colônias, por medidas perpendiculares, até que as maiores colônias atinjam $\frac{3}{4}$ da placa. Para a contagem de esporos foi adicionado 10 mL de água destilada em cada placa para obtenção de suspensão de esporos e transferidos 1 mL para contagem em câmara de Neubauer. Os resultados foram submetidos à análise de variância e em seguida a análise de regressão, para tratamentos com diferentes concentrações, ao nível de 5% de probabilidade.

Teste de fitotoxidez nas sementes

Foram utilizados óleos essenciais de tomilho, coentro e manjeriço nas concentrações de 0,05, 0,1, 0,5 e 1%, diluídos em água destilada com o tensoativo hidrofílico Tween[®] 20 a 0,2%. A testemunha teve apenas água com Tween[®] 20 a 0,2%. As sementes de tomate foram semeadas em caixas gerbox sobre duas folhas de papel filtro tipo germitest e umedecidas com a solução a 2,5 vezes o peso do papel seco (BRASIL, 2009). O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro repetições, com 50 sementes cada repetição.

As caixas gerbox foram alocadas na B.O.D. a 25°C e a cada cinco dias foi borrifado água destilada para manter a umidade. Após 14 dias foi feita a contagem de plântulas germinadas (considerando germinadas apenas plântulas normais), medidas com régua o comprimento de parte aérea e comprimento de raiz. Os resultados foram submetidos à análise de variância e em seguida a análise de regressão, para tratamentos com diferentes concentrações, ao nível de 5% de probabilidade.

Aos 21 dias após a semeadura, os tratamentos em que não houve germinação foi realizado o teste de tetrazólio para avaliar a viabilidade das sementes. Para tanto, as sementes foram submergidas em solução de tetrazólio a 0,075%, por 3 horas, no escuro, a 40°C. Após esse período foi realizado um corte longitudinal nas sementes as quais foram observadas em microscópio telescópico (SANTOS, 2003).

Teste em substrato inoculado com patógeno

Para o preparo do substrato inoculado foram utilizados os fungos *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum*, repicados em meio de cultura dispostos em frascos de Erlenmeyer, onde que, para cada 100 cm³ de grãos de

trigo foi adicionado 100 mL de água, autoclavados por 30 minutos a 121°C, e repicado 5 discos de 5 mm de micélio cada, com 7 dias. Após 21 dias o fungo já havia crescido por todo o frasco de Erlenmeyer, então foi incorporado ao substrato TECNOMAX®, composto por vermiculita expandida e fibra vegetal, autoclavado por uma hora a 121°C. Foi inoculado na proporção de 1:7 cm³ de micélios para cm³ de substrato e dispostos em bandejas de isopor de 200 células.

Para os cada fungo foi utilizado quatro tratamentos e o delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 4 (dois fungos e 4 tratamentos) com quatro repetições, com 50 sementes cada repetição, semeadas a 0,5 cm de profundidade. Os tratamentos foram: substrato inoculado com fungo e tratado com óleo essencial de coentro, substrato inoculado com fungo e tratado com óleo essencial de manjerição (óleos essenciais na concentração de 0,5%, diluído em água destilada e Tween® 20 a 0,2% e aplicados 3 mL por célula a ponto de escorrimento), substrato apenas com o fungo inoculado, e um tratamento como testemunha contendo apenas substrato esterilizado.

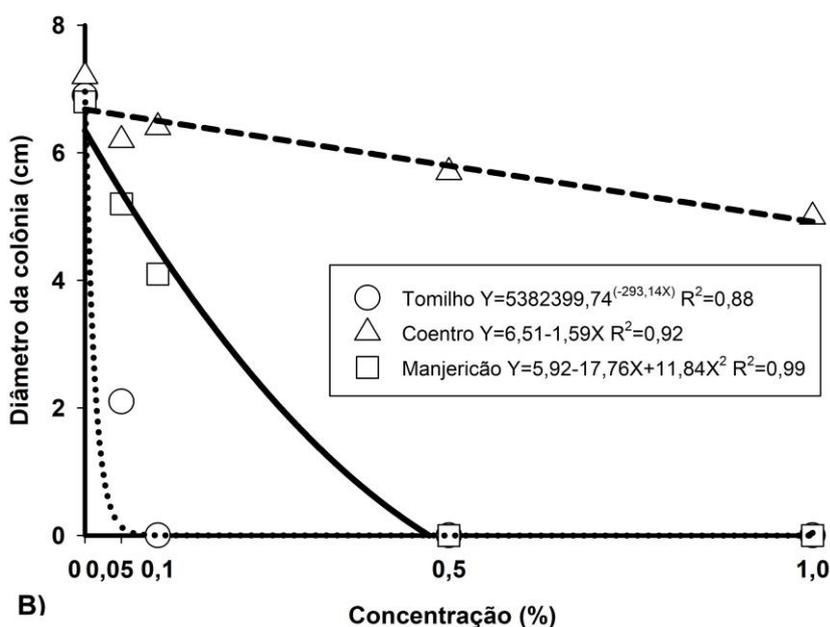
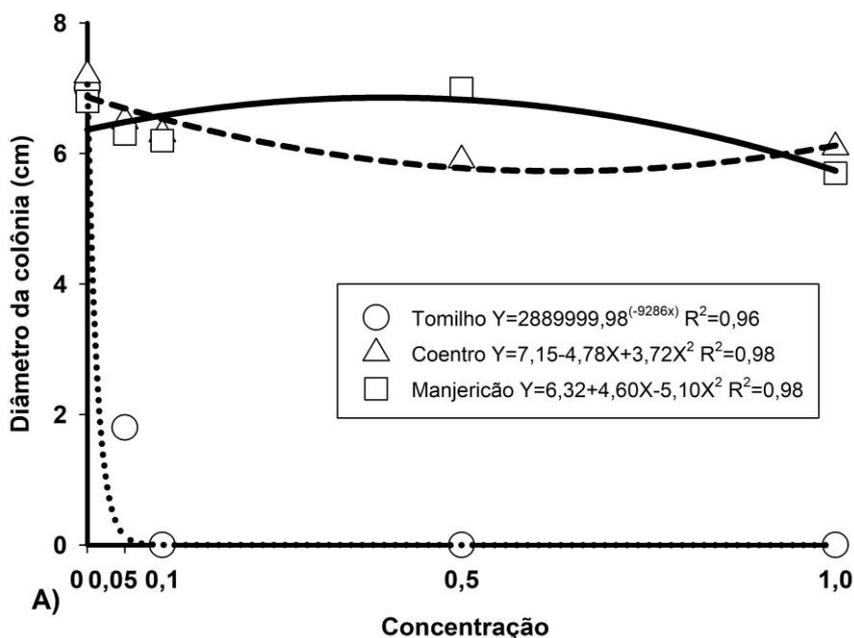
As bandejas foram alocadas em casa de vegetação climatizada a temperatura de ± 25°C e umidade relativa de 80%, sendo irrigadas a cada três dias. Após 21 dias foram feitas contagens de plântulas emergidas, plântulas tombadas por fungo, medido com régua o comprimento da parte aérea e comprimento da raiz. Os resultados foram submetidos à análise de variância e em seguida a teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Crescimento micelial e esporulação

Como observado nas Figuras 1A e 1B, os óleos essenciais (OE) de todas as plantas bioativas avaliadas promoveram redução significativa no crescimento micelial em maiores concentrações, tanto em *Rhizoctonia Solani* como em *Fusarium oxysporum*. Sobre o fungo *F. oxysporum* o OE de tomilho promoveu inibição total a partir de 0,1% (Figura 1A). Sobre *R. solani*, inibição total do crescimento ocorreu com OE de tomilho e manjerição a partir das concentrações de 0,1, 0,5 e 1%, respectivamente (Figura 1B). O OE de tomilho também se destacou com inibição total do crescimento em todas as concentrações.

O fungo *R. solani* não produziu esporos, somente *F. oxysporum* apresentou a formação de esporos. Os óleos essenciais (OE) das plantas bioativas promoveram redução na produção de esporos sobretudo nas maiores concentrações. O OE de tomilho se destacou com inibição total da esporulação já a partir da concentração de 0,1% (Figura 2).



Figura

Crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* (A) e *Rhizoctonia solani* (B), sob diferentes concentrações de óleo essencial de (*Thymus vulgaris*), coentro (*Coriandum sativum*) e manjeriço (*Ocimum basilicum*).

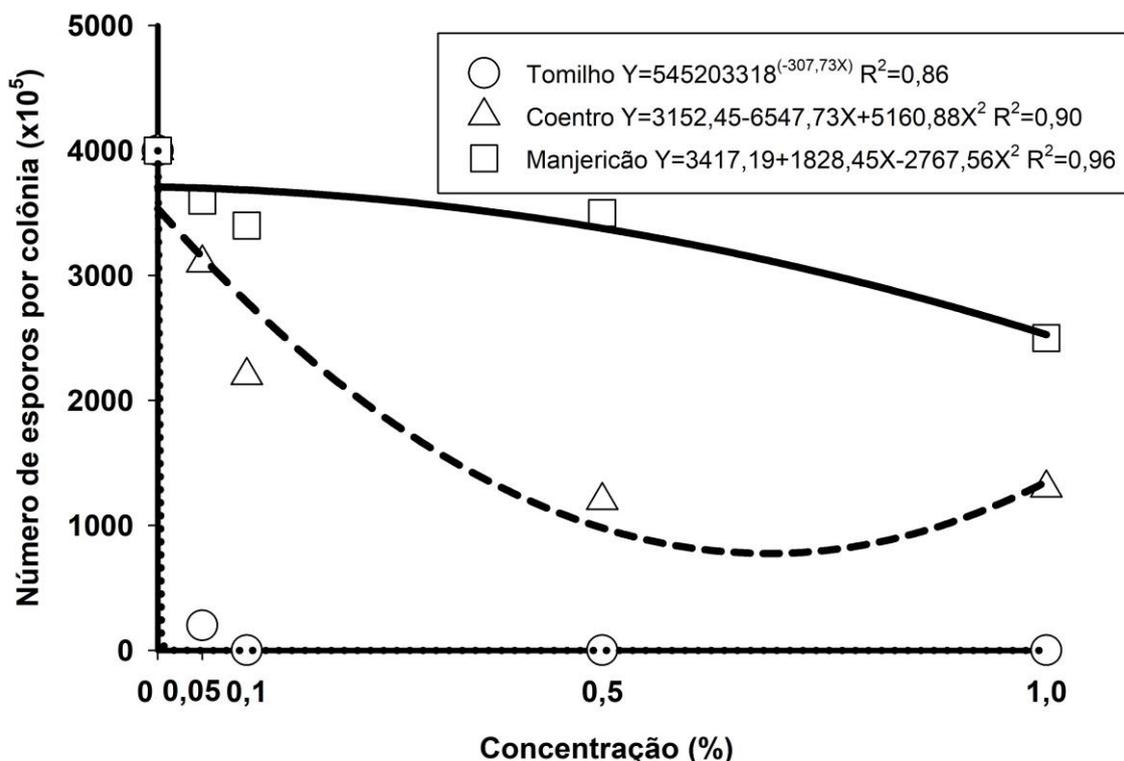


Figura 2. Produção de esporos de *Fusarium oxysporum*, sob diferentes concentrações de óleo essencial de (*Thymus vulgaris*), coentro (*Coriandum sativum*) e manjeriço (*Ocimum basilicum*).

Esses resultados indicam efeito antifúngico direto desses óleos essenciais sobre os fungos avaliados. Outros trabalhos, como os citados abaixo, já tem relatado o potencial antifúngico de óleos essenciais, indicando a presença de compostos ativos com essas propriedades.

Tais efeitos antifúngicos como a toxicidade ou estaticidade na inibição do crescimento dos micélios e formação de esporos, são de vital importância para qualquer atividade agrícola, pois se mostra como alternativa de controle ao patógeno.

Em seu trabalho, Barrera-Necha et al, (2009) teve resultados de total inibição de micélios de *Fusarium oxysporum*, utilizando óleo essencial de tomilho. Singh et al. (2006) verificariam que o óleo essencial de coentro foi fitotóxico em oito fungos incluindo *Fusarium oxysporum*.

Segundo Özcan, (2007) óleo essencial de erva-doce (*Foeniculum vulgare ssp. piperitum*) exerceu diferentes níveis de efeitos antifúngicos no crescimento micelial experimental de *Alternaria alternata*, *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum*.

Angioni et al. (2006) constataram em seu trabalho, que óleo essencial de lavanda (*Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas*) foram eficazes na inativação de *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum*.

Bouzenna et al. (2012) observaram em seu experimento atividade antifúngica com óleos essenciais de gerânio rosa (*Pelargonium graveolens* L'Her) e losna (*Artemisia arborescens* L.), sobre o a inibição de *Rhizoctonia solani*.

Lee et al., (2007) confirmaram em seu trabalho, que o óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) suprimiu o crescimento micelial *Fusarium oxysporum* e *Rhizoctonia solani*.

Teste de fitotoxidez

Como mostra as Figuras 3A, 3B e 3C, os óleos essenciais (OE) de todas as plantas bioativas avaliadas promoveram significativa fitotoxidez. Conforme aumentou a concentração dos OE foi menor o comprimento do hipocótilo (Figura 3A). O comprimento da raiz também foi afetado conforme aumentou a concentração (Figura 3B), assim como a taxa de germinação (Figura 3C). O OE de tomilho se destacou por apresentar elevada fitotoxidez a partir de 0,05% e inibindo completamente a germinação a partir de 0,1%.

No teste de tetrazólio observou-se que as maiores concentrações causaram fitotoxidez, inibindo a germinação, diminuindo vigor mas não matando as sementes e alguns casos atingindo diretamente o embrião, deixando a semente inviável, até o 21° D.A.S. O óleo essencial de tomilho, na concentração de 1%, promoveu alguns pontos de vermelho mais intenso no embrião, indicando deterioração do tecido (Figura 4B). O OE de coentro a 1 %, promoveu oxidação com pontos escurecidos e morte do tecido meristemático do embrião em alguns pontos esbranquiçados (Figura 4C).

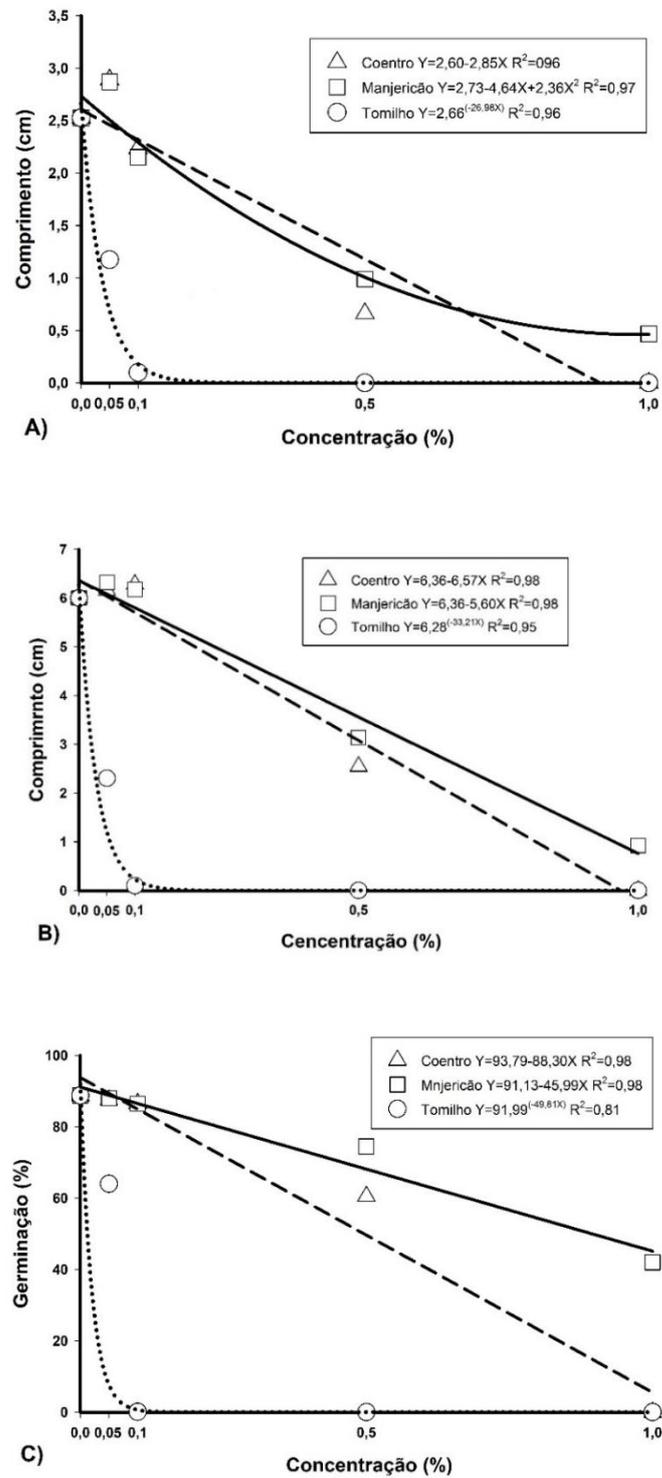


Figura 3. Comprimento de parte aérea (A), comprimento de raiz (B) e taxa de germinação (C) de plantulas de tomateiro, sob diferentes concentrações de óleo essencial de (*Thymus vulgaris*), coentro (*Coriandum sativum*) e manjeriçao (*Ocimum basilicum*).

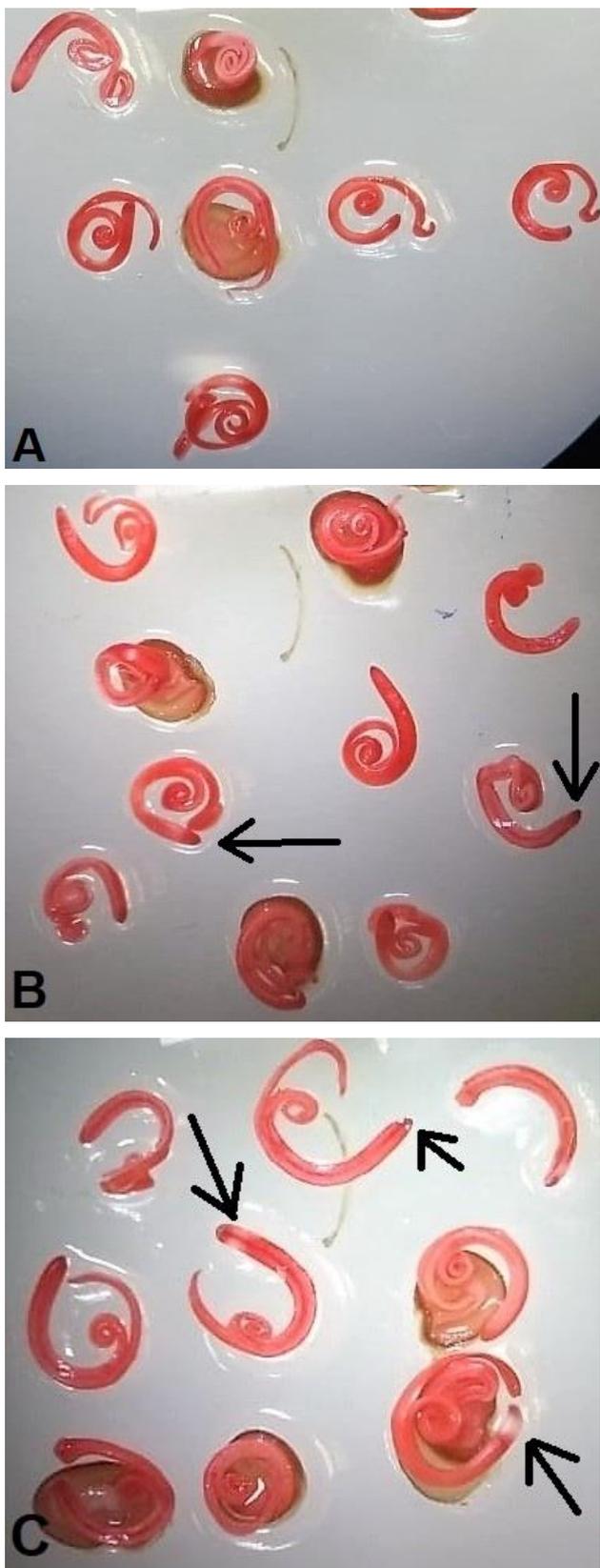


Figura 4. Teste de tetrazólio, nos tratamentos que não germinaram aos 21 dias após semeadura, tomilho (*Thymus vulgaris*) a 0,5% (A), 1% (B) e coentro (*Coriandrum sativum*) a 1% (C).

Tworkoski (2002) demonstrou em seu trabalho, uma forte fitotoxicidade de óleos essenciais de tomilho na concentração de 1%, pois causam vazamento de eletrólitos, resultando na morte celular de dente de leão.

Almeida et al. (2010) constataram uma inibição de germinação acima de 80%, em sementes de alface (*Lactuca sativa*) e rabanete (*Raphanus sativus*), tratadas com óleo essencial de tomilho na concentração de 0,25%.

De acordo com Wolffenbüttel (2007) o óleo essencial é um produto composto podendo ultrapassar 300 componentes químicos diferentes que apresentarem estruturas diversas como terpenos, sesquiterpenos, fenólicos, fenilpropanóicos, alifáticos não-terpênicos, heterocíclicos, álcoois, cetonas, aldeídos, ácidos carboxílicos, ésteres, acetatos, cada qual com sua característica aromática e ação bioquímica, podendo explicar sua ação fitotóxica.

Teste em substrato inoculado

Na Tabela 1, o tratamento com substrato esterilizado, a taxa de emergência 85,5% foi condizente com a taxa de germinação a embalagem de semente, não ocorrendo tombamento. Nos tratamentos feitos em *Rhizoctonia solani* não houve diferença significativa na taxa de emergência.

Nos tratamentos de substrato inoculado com *Fusarium oxysporum*, a taxa de emergência mais baixa foi com o substrato inoculado, mas não houve diferença significativa entre os tratamentos com substrato inoculado mais óleo essencial de coentro e manjeriço.

Nos tratamentos com substrato inoculado mais óleo essencial, tanto de coentro como de manjeriço, teve uma significativa redução de tombamento em relação ao substrato inoculado com *R. solani* e *F. oxysporum*.

Tabela 1. Porcentagem de emergência e tombamento de plântulas de tomateiro em substrato tratado com óleos essenciais.

Tratamento	EMERGÊNCIA (%)		TOMBAMENTO (%)	
	<i>Fusarium</i>	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Rhizoctonia</i>
Substrato esterilizado	85,5 cA	85,5 aA	0 a A	0 aA
Substrato inoculado	58 aA	82 aB	15,5 cA	15 cA
Substrato inoculado + óleo essencial de coentro	72 bA	75,5 aA	5,5 bA	3,0 abA
Substrato inoculado + óleo essencial de manjeriço	68,5 abA	83,5 aB	6 b A	5,5 bA

Medidas seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quanto ao comprimento de raiz e de parte aérea, os tratamentos com o fungo *Fusarium oxysporum*, diferiram significativamente apenas do substrato inoculado, que teve o menor comprimento (Tabela 2).

Nos tratamentos com o fungo *Rhizoctonia solani*, o substrato inoculado mais óleo essencial, de coentro e manjeriço, o comprimento de parte aérea foi maior que no substrato esterilizado e o comprimento de raiz diferiu apenas do substrato inoculado.

Tabela 2 comprimento da parte aérea e raízes de plântulas de tomateiro em substrato tratado com óleos essenciais.

Tratamento	AÉREA (cm)		RAIZ (cm)	
	<i>Fusarium</i>	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Rhizoctonia</i>
Substrato esterilizado	5,4 bA	5,4 bA	8 bA	8,2 bA
Substrato inoculado	4,1 aA	3,6 aA	3 aA	3,1 aA
Substrato inoculado + óleo essencial de coentro	6,2 bA	6,5 cA	7,36 bA	7,2 bA
Substrato inoculado + óleo essencial de manjeriço	6,2 b A	5,8 cA	8,1 bA	7,4 bA

Medidas seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na Figura 5, foi observado as raízes das plantas com podridão radicular causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* (Figura 5A), e maior sanidade nas mudas produzidas em substrato inoculado mais óleo essencial de coentro (Figura 5B) e manjerição (Figura 5C). Assim como na (Figura 6), com *Rhizoctonia solani*, o substrato inoculado apresenta sintomas de tombamento (Figura 6 A), e comprimento de raiz e parte aérea maior nos tratamentos com substrato inoculado mais óleo essencial de coentro (Figura 6B) e manjerição (Figura 6C).



Figura 5. Mudanças de tomateiro, sob tratamento de substrato inoculado com *Fusarium oxysporum* (A), substrato inoculado mais óleo essencial de coentro (*Coriandrum sativum*) (B), substrato inoculado mais óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*) (C) e substrato esterilizado (D).



Figura 6. Mudas de tomateiro, sob tratamento de substrato inoculado com *Rhizoctonia solani* (A), substrato inoculado mais óleo essencial de coentro (*Coriandrum sativum*) (B), substrato inoculado mais óleo essencial de manjerição (*Ocimum basilicum*) (C) e substrato esterilizado (D).

Esses resultados demonstram o efeito protetor desses óleos essenciais em plântulas de tomateiro. Óleos essenciais de diferentes espécies já tem demonstrado potencial no controle de doenças em plantas, no entanto maioria dos trabalhos tem sido direcionados para aplicação nas plantas, mas ainda pouco se sabe sobre a aplicação em substrato para produção de mudas, pois também pode prejudicar outros organismos do solo.

Bowers, (2000) concluiu que o tratamento de solo infestado com *Fusarium oxysporum* feito com 5 e 10% de emulsões aquosas dos extratos de pimenta (*Capsicum frutescens*), mostarda (*Brassica alba*), cássia (*Cassia spectabilis*) e cravo (*Syzygium aromaticum*) suprimiram o desenvolvimento da doença em experimentos com 80 a 100% de plantas saudáveis, quando comparados com o solo infestado não tratado <20%.

Hashem et al., (2010) também observou um significativo aumento na altura de planta e quantidade de ramos, após inoculação de *Fusarium oxysporum*. No trabalho de Hashem et al., (2010) demonstraram que o óleo essencial de manjeriço, possui atividade antifúngica e efeito inibitório em *Fusarium oxysporum*.

Oxenham et al., (2005) verificaram em seus experimentos *in vitro*, que o óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*), conteve o crescimento micelial de *Botrytis fabae*, comprovando sua atividade antifúngica.



Figura 7. Mudanças de tomateiro, sob tratamento de substrato esterilizado (T), inoculado com *F. oxysporum* (F), inoculado com *R. solani* (R), substrato inoculado com *F. oxysporum* e OE *Coriandrum sativum* (FC), substrato inoculado com *F. oxysporum* e OE *Ocimum basilicum* (FM),

substrato inoculado com *R. solani* e OE *Coriandrum sativum* (RC), substrato inoculado com *R. solani* e OE *Ocimum basilicum* (RM).

Pode-se observar na figura 7, a presença de micélios do fungo *R. solani* (R) e *F. oxysporum* (F) nas mudas onde não teve tratamento com óleos essencial ou autoclave e que apesar de não sofrerem com damping-off, ainda tem grande quantidade dos fungos, que pode ser disseminado no campo na hora do transplântio. No caso de *F. oxysporum* o fungo pode entrar por um ferimento da raiz, feito no momento do transplântio e causar murcha no tomateiro, trancando os vasos condutores.

CONCLUSÃO

Os óleos essenciais de coentro e manjeriço apresentaram efeito antifúngico direto, tanto para *Fusarium oxysporum* com para *Rhizoctonia solani*, reduzindo significativamente o tombamento de plântulas de tomateiro quando aplicado em substrato inoculado.

O óleo essencial de tomilho apresentou, mesmo em baixas concentrações, assim como coentro a 1%, obtiveram elevado efeito antifúngico sobre *Fusarium oxysporum* e *Rhizoctonia solani*, bem como efeito fitotóxico quando aplicado em sementes de tomateiro.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L. F. R.; FREI, F.; MANCINI, E.; MARTINO, L. M.; FEO, A. Phytotoxic Activities of Mediterranean Essential Oils. **Molecules**. V.15, n.6, p.4309-4323, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20657443>>. Acesso em: 26 DE Nov. 2018.
- ANGIONI, A.; BARRA, A.; CORONEO, V.; DESSI, S.; CABRAS, P. Chemical Composition, Seasonal Variability, and Antifungal Activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* Essential Oils from Stem/Leaves and Flowers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.54, n.12, p.4364-4370, 2006.

Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0603329>>. Acesso em: 25 de Nov. 2018.

BARRERA-NECHA, L. L.; GARDUÑO-PIZAÑA, C.; GARCIA-BARRERA, I. J. In-vitro antifungal activity of essential oils and their compounds on mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* (Massey) Snyder na Hansen. **Plant Pathology Journal**. v.8, n.1, p.17-21, 2009. Disponível em: <<http://www.docsdrive.com/pdfs/ansinet/ppj/2009/17-21.pdf>>. Acesso em: 25 de Nov. 2018.

BETTIOL, W; GHINI R; MORANDI, M. **Métodos alternativos para controle de doenças em plantas disponíveis no Brasil**. EMBRAPA Meio Ambiente. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1026316/1/2006AA038.pdf>> Acesso em: 2 de Jun. 2018.

BOITEUX, L. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Prosa Rural - Cultivares de tomate que agregam de valor à agricultura familiar**. EMBRAPA, 2018. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/34301805/prosa-rural---cultivares-de-tomate-que-agregam-de-valor-a-agricultura-familiar>> Acesso em: 5 de mai. 2018.

BOUZENNA, H.; KRICHEM, L. *Pelargonium graveolens* L'Her. and *Artemisia arborescens* L. essential oils: Chemical composition, antifungal activity against *Rhizoctonia solani* and insecticidal activity against *Rhysopertha dominica*. **Journal Natural Product Research**. v.27, n.9, p.841-846. 2012. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786419.2012.711325>>. Acesso em: 15 de Nov. 2018.

BOWERS, J.H.; LOCKE, J.C. Effect of Botanical Extracts on the Population Density of *Fusarium oxysporum* in Soil and Control of *Fusarium* Wilt in the Greenhouse. **APS Journals**. v.84,n.3, p.300-305. 2000. Disponível em: <<https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS.2000.84.3.300>>. Acesso em: 25 de Nov. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399p.

HASHEM, M., MOHARAM, A.M., ZAIED, A.A., SALEH, F.E.M. (Efficacy of essential oils in the control of cumin root rot disease caused by *Fusarium* spp. **Crop Protection**, v.29, p.1111–1117, 2010.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA.

Produção brasileira de tomate. Disponível em:

<<https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/1612#resultado>> Acesso em: 8 de jun. 2018.

ISLA SEMENTES. Hortaliças, Tomate Santa Cruz Kada. Disponível em:

<[https://isla.com.br/produto/Tomate-Santa-Cruz-Kada-\(Paulista\)/263](https://isla.com.br/produto/Tomate-Santa-Cruz-Kada-(Paulista)/263)> Acesso em: 6 de Jun de 2018.

LEAL, M. A. A. **Sistema PESAGRO RIO para produção de tomate orgânico**.

Documentos 97, ISSN 1413-3903. EMBRAPA, Rio de Janeiro, 2006. Disponível em:

<https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/recursos/Producao_Tomate_Organico/D-YcnBQ625NK.pdf> Acesso em: 8 de jun. 2018.

LEE, S.; CHOI, G.; JANG, K.; LIM, H.; CHO, K.; KIM, J. Antifungal Activity of Five Plant Essential Oils as Fumigant Against Postharvest and Soilborne Plant Pathogenic Fungi. **The Plant Pathology Journal**. v.23, n.12, p.97-102. 2007.

Disponível em:

<http://www.koreascience.or.kr/article/ArticleFullRecord.jsp?cn=E1PPBG_2007_v23n2_97>. Acesso em: 26 de Nov. 2018.

LOPES, C. A. **Hortaliças orgânicas só podem ser produzidas com sementes orgânicas**. Embrapa hortaliças. 2014. Disponível em:

<<https://www.embrapa.br/hortalicas/busca-de-noticias/-/noticia/3234227/hortalicas-organicas-so-podem-ser-produzidas-com-sementes-organicas>>. Acesso em: 25 de Nov. 2018.

OLIVEIRA, A. C. C; **Análise morfológica e genética de isolados de *Rhisoctonia solani* e estudos epidemiológicos de grupos de anastomose (AGs) em algodão**. Tese de pós graduação da Universidade Federal de

Lavras UFLA. Minas Gerais 2009. Disponível em:

<http://prpg.ufla.br/_ppg/fitopatologia/wp-content/uploads/2016/07/TESE_An%C3%A1lise-morfol%C3%B3gica-e-gen%C3%A9tica-de-isolados.pdf> Acesso em: 2 de Jun. 2018.

OXENHAM, S. K.; SVOBODA, K. P.; WALTERS, D. R. Antifungal Activity of the Essential Oil of Basil (*Ocimum basilicum*). **Journal of Phytopathology**. v.153, n.3, p. 154-180. 2005. Disponível em:

<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1439-0434.2005.00952.x>>. Acesso em: 26 de Nov. 2018.

ÖZCAN, M. M.; CHALCAHT, J. C.; ARSLAN, D.; ATES, A.; ÜNVER, A. Antifungal Effect of Bitter Fennel (*Foeniculum vulgare ssp. piperitum*) Fruit Oils Obtained During Different Vegetation. **Journal of Medicinal Food**.v.9, n.4, 2007. Disponível em:<

<https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/jmf.2006.9.552#>>. Acesso em: 26 de Nov. 2018.

REIS FILHO, J. S; MARIN, J. O. B.; FERNANDES, P. M. Os agrotóxicos na produção de tomate de mesa na região de Goianópolis, Goias. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 39, n. 4, p. 307-316, out./dez. 2009.

Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/pat/article/viewFile/4947/5876>> Acesso em: 9 de jun. 2018.

SANTOS, M. A. O; Avaliação do potencial fisiológico de sementes de tomate através do teste de tetrazólio. Esalq, Piracicaba, 2003.

SCHIEDECK, G. **Aproveitamento de plantas bioativas**. Revista Cultivar. 2008. Disponível em: <https://www.grupocultivar.com.br/noticias/artigo-aproveitamento-de-plantas-bioativas>. Acesso em: 27 de Nov. 2018.

SINGH, G.; Sumitra MAURYA, S.; Lampasona, M. P. de; Catalan, C. A. N. Studies on essential oils, Part 41. Chemical composition, antifungal, antioxidant and sprout suppressant activities of coriander (*Coriandrum sativum*) essential oil and its oleoresin. **Flavour and Fragrance Journal**. V.21, n.3, p.472-479,

2006. Disponível em: < <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ffj.1608>>. Acesso em: 26 de Nov. 2018.

SILVA, J. B. C.; OLIVEIRA-NAPOLEÃO, I. T.; FALCÃO, L. L. Desinfestação de substratos para produção de mudas, utilizando vapor de água. **Horticultura Brasileira**. v.19, n.2, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-05362001000200013>. Acesso em: 26 de Nov. 2018.

SCHWAN-STRADA, K.R.F.; BONALDO, S.M.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. & FIORI-TUTIDA, A.C.G. Contribuição ao estudo das atividades antifúngica e elicitoras de fitoalexinas em sorgo e soja por eucalipto (*Eucalyptus citriodora*). **Summa Phytopathologica**. v.33, p.383-387, 2000.

SUMIDA, Ciro Hideki; BALBIPEÑA, Maria Isabel. **Tombo alto**. Revista Cultivar Hortaliças e Frutas, exemplar 80, ano 2013. Disponível em: <<https://www.grupocultivar.com.br/artigos/tombo-alto>> Acesso em: 6 de jun. 2018.

TWORKOSKI, T. Herbicide effects of essential oils. **Weed science**. v.50, n.4, pp.425-431, 2002. Disponível em: <<https://www.cambridge.org/core/journals/weed-science/article/herbicide-effects-of-essential-oils/12E79407D8741A7819A22C5F10CAECE0#>>. Acesso em: 26 de Nov. 2018.

VIEIRA, M. **Substrato orgânicos são usados para formação de mudas**. Centro de produções técnicas. Viçosa Minas Gerais, 2011. Disponível em: <<http://www.tecnologiaetreinamento.com.br/agricultura/agricultura-organica-agricultura/cultivo-organico-hortalicas-mudas/>> Acesso em: 9 de jun. 2018.

WOLFFENBÜTTEL, A. N; Mas afinal o que são óleos essenciais. **CRV-Q**. v. 11, n. 105, p.6-7, 2007.

ZAVATTI, L. M. S.; ABAKERLI, R. B. **Resíduos de agrotóxicos em frutos de tomate**. Artigos e periódicos EMBRAPA, 1999. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/97610/residuos-de-agrotoxicos-em-frutos-de-tomate>> Acesso em: 7 de Jun. 2018.

Anexo A

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Scope and editorial policy

Form and preparation of manuscripts

Send of the manuscripts

Arquivos do Instituto Biológico aims to publish in Portuguese, English or Spanish original high quality scientific articles, which contribute significantly to the development of the Agricultural Sciences, in the field of animal and vegetal sanity, related to agribusiness and its implication in the agri-environment, including quality and food safety. It is also accepted papers on urban pests. The journal supports and follows the principles and standards recommended by COPE (Committee on Publication Ethics), an international organization reference on integrity and ethics in scientific publishing. Thus, the entire process, selection criteria and journal publication follow the conduct rules and ethics in accordance with http://publicationethics.org/files/u2/New_Code.pdf.

A cover letter should come along with the manuscript describing the importance of the work in the field, qualifying it for publication in Arquivos do Instituto Biológico. In addition, a statement signed by the corresponding author on behalf of all authors, must be attached as a supplementary document in the designated area in the online system where the authors state that: a) the data contained in the manuscript is original and authentic, so there is no fraud and/or plagiarism derivations (all received manuscripts are subjected to a software to detect plagiarism); b) the manuscript was not submitted for publication in any other printed or electronic vehicle; c) the manuscript content is authors' responsibility, who assume they have contributed significantly to research and must provide retractions or correct mistakes if necessary. In case of doubt, see the Singapore Statement; d) in case of conflicts of interest, they will be manifesting, which will subsequently be examined by the Editorial Committee.

The manuscripts submitted to **Arquivos do Instituto Biológico** are preliminarily analysed by the Editorial Committee. During the pre-analysis, the Committee checks if it fits in the scope and merit for publication. The manuscripts that do not match the editorial requirements or that need to be redrafted will be rejected without a review. The preselected manuscripts will be submitted to critical analysis of at least 2 Scientific Consultants (ad hoc) chosen by specialists in the field of the submitted article. The Scientific Consultant also fills an evaluation form. The acceptance of the article is in agreement with the Editor-in-chief of the Editorial Committee. In case the article is rejected by part of the Scientific Consultants, the Associate-Editor will issue his conclusive technical opinion. The reviews and the conclusive technical opinion will be forwarded to the authors for corrections, justifications and presentation of the new version of the draft, which is compared to the original version by the Editor-in-chief of the Editor Committee. Once it is accepted, the article is forwarded to reference, abstract and vernacular review. After the layout change, the text is submitted to final corrections by the authors

and by the Editorial Committee. All articles are published following the approval order.

The fare for publication in the journal *Arquivos do Instituto Biológico* is R\$ 60,00 (sixty Brazilian reals) per diagrammed page.

After the work is accepted, as communicated by the editor-in-chief, the authors must deposit the total amount of this fee to the account Fundação de Desenvolvimento da Pesquisa do Agronegócio - FUNDEPAG (CNPJ 50.276.237/0001-78) [Banco do Brasil (001), bank branch 4328-1, bank account 30.200-7 or Banco Santander (033), bank branch 0637, bank account 13-001316-9]. A copy of the proof of deposit must be sent by fax or e-mail, mentioning the work's publication ID number, to: +(55-11) 5087-1790 or Email: arquivos@biologico.sp.gov.br

Form and preparation of manuscripts

To be considered for publication, the work must be either a scientific article or scientific communication, although the Editorial Committee will also accept review articles, at its discretion.

Scientific article: consists of the following items: title, name(s) of the author(s), address of the corresponding author and place of origin of the other authors, abstract, keywords, translated title, translated abstract, translated keywords, followed by the introduction, materials and methods, results, discussion, conclusions, acknowledgments and references.

Scientific communication: consists of the following items: title, name(s) of the author(s), address of the corresponding author and place of origin of the other authors, abstract, keywords, translated title, translated abstract, translated keywords, followed by the text without subdivisions, acknowledgments and references. Scientific publication is a brief report, its publication is immediate as this is an relevant original fact but its content is insufficient for a scientific article.

Review article: consists of the following items: title, name(s) of the author(s), address of the corresponding author and place of origin of the other authors, abstract, keywords, translated title, translated abstract, translated keywords, followed by the text without subdivisions, and references.

Presentation: the works must be submitted in Microsoft WORD format (.doc or .docx), page-size A4, margins 2.5 cm, size 12 Times New Roman font, double spaced, with continuous page numbering using the Layout tool in the Page Setup or Page Layout menu item. The maximum number of pages is 25 for review articles, 20 for scientific articles and 10 for scientific communications, including tables and figures.

Language: the work can be written in Portuguese, English or Spanish. When written in Portuguese, the translated title, abstract and keywords will be in English. When written in English or Spanish, the translated title, abstract and keywords will be in Portuguese.

Title: although brief, the title should tell precisely what the article is about, focusing on its main purpose.

Name (s) and Address (es) of the author(s): should not be included in the manuscript body because *Arquivos do Instituto Biológico* uses double blind peer review. This information should be inserted in the specific field of the online submission system.

Abstract: should concisely present the aim of the work, the materials and methods and conclusions, in a single paragraph. The length must not exceed 250 words.

Keywords: under the abstract and separated by a space, provide at most five keywords separated by commas. Avoid terms that appear in the title.

Translation of title, abstract and keywords: works in Portuguese must provide a translation of the title, abstract and keywords in English. Works in English or Spanish must provide a translation of the title, abstract and keywords in Portuguese. The length of the abstract must not exceed 250 words.

Introduction: describe the nature and the purpose of the work, its relation with other research studies in the context of existing knowledge, along with the reason why the present study was carried out.

Material and methods: present a description that is brief yet sufficient to allow for the repetition of the work. Previously published techniques and processes, except when modified, should be merely cited. Scientific names of species and of drugs should be cited in accordance with international standards.

Results: accompanied by tables and/or figures when necessary. The tables and figure should be inserted after the references.

Discussion: discuss the results obtained, comparing them with those of other published works (results and discussion may be combined within a single section).

Tables and figures: include a clear and concise title that allows the table or figure to be understood without consulting the text. The tables should not contain vertical lines. In the text, use the abbreviated word (e.g.: Fig. 3). The figures must be in the format jpg (photos) or gif (graphics and diagrams), of a size less than 500 Kb. The original or higher-definition figures will be requested after the submission is approved for publication. These should be sent in individual files and named according to the number of the figure, for example Fig1.gif, Fig2.jpg.

Conclusions: presented in their order of importance. They can be given in a separate section or as part of the discussion.

Acknowledgments: these may refer to people and/or institutions. In case of funding agency, the financing process number must be included.

References and citations in the text: the citations in the text and references are directly linked. It is recommended around 25 references to articles and scientific communications. All of the authors cited should be included in the references. The citation of authors should be presented in the format of author's last name and the year of the publication, and should be in small caps, for example: one author Allan (1979) or (Allan, 1979); two authors – Lopes; Macedo (1982) or (Lopes; Macedo, 1982); more than two authors – Besse et al. (1990) or (Besse et al., 1990); coincidences of authors or year of publication – (Curi,

1998a), (Curi, 1998b) or (Curi, 1998a, 1998b). The references should be formatted according to NBR 6023/2002, of the Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), and be in alphabetical order by first author, as in the examples in the following link:

The following examples will serve as a guideline for the formatting and presentation of references:

a) **Periodical article** ANDRÉA, M.M. ; PETTINELLII JÚNIOR, A. Efeito de aplicações de pesticidas sobre a biomassa e a respiração de microrganismos de solos. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.67, n.2, p.223-228, 2000.

b) **Article in periodical published on Internet** FELÍCIO, J.D.; SANTOS, R. da S.; GONÇALES, E. Componentes químicos de *Vitis vinifera* (Vitaceae). *Arquivos do Instituto Biológico.*, São Paulo, v.68, n.1, p.47-50, 2001. Disponível em: <http://www.biológico.br/arquivos/v68_1/9>. Acesso em: 5 mar. 2002.

c) **Dissertations and Theses** PERES, T.B. *Efeito da aplicação de pesticidas na atividade microbiológica do solo e na dissipação do ¹⁴C-Paration Metílico*. 2000. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2000. SIMONI, I.C. *Utilização de diferentes linhagens celulares para propagação do vírus da doença infecciosa da bursa*. 2001. 77f. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular - Área de Microbiologia) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

d) **Dissertation/Thesis published on Internet** BATISTA, A.S. *Saccharomices cerevisiae* em milho armazenado e o efeito na redução de aflatoxicoses. 2001. 96p. Dissertação (Mestrado – Microbiologia Agrícola) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br>> Acesso em: 28 jun. 2005.

e) **Entire books, brochures, etc.** BECKMANN, N. (Ed.). *Carbon-13 NMR spectroscopy of biological systems*. San Diego: Academic Press, 1995. 334p.

f) **Part of a book (chapter, passage, fragment, etc.) Chapter or part without specific authorship – author of the part is the same author as the overall work** ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J.D. Cell junctions, cell adhesion, and the extracellular matrix. In: _____. *Molecular biology of the cell*. 3th.ed. New York: Garland Publications, 1994. 1294p. Chap. 19.

Part with specific authorship BANIJAMALI, A. Thyroid function and thyroid drugs. In: FOYE, W.O.; LEMKE, T.L.; WILLIAMS, D.A. (Eds). *Principles of medicinal chemistry*. 4th. Ed. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins, 1995. chap.30, p.688-704.

Send of the manuscripts

The original should be submitted only in electronic form at the address <https://mc04.manuscriptcentral.com/aib-scielo>.