



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

WELLYNGTTON ALVES SANTOS

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia*
SOBRE FITOPATÓGENOS DO MAMOEIRO

LARANJEIRAS DO SUL

2020

WELLYNGTTON ALVES SANTOS

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia*
SOBRE FITOPATÓGENOS DO MAMOEIRO**

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

Orientador: Prof. Dr. Gilmar Franzener

LARANJEIRAS DO SUL

2020

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Santos, Wellyngtton Alves
Atividade antifúngica do óleo essencial de Melaleuca
alternifolia sobre fitopatógenos do mamoeiro /
Wellyngtton Alves Santos. -- 2020.
28 f.:il.

Orientador: Dr. Gilmar Franzener

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Agronomia, Laranjeiras do Sul, PR, 2020.

1. doenças foliares e pós-colheita. 2. óleo
essencial. 3. controle alternativo. I. Franzener,
Gilmar, orient. II. Universidade Federal da Fronteira
Sul. III. Título.

WELLYNGTTON ALVES SANTOS

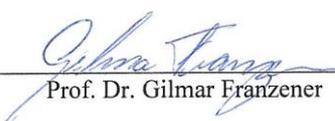
**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia*
SOBRE FITOPATÓGENOS DO MAMOEIRO**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Agronomia linha de formação em Agroecologia pela Universidade Federal da Fronteira Sul- *Campus* Laranjeiras do Sul (PR)

Orientador: Prof. Dr. Gilmar Franzener

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 18/12/2020.

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Gilmar Franzener


Engenheira Agrônoma Marizete de Paula (VIA REMOTA)


Prof. Dr. Carlos José Raupp Ramos (VIA REMOTA)

Este trabalho de conclusão de curso foi redigido em forma de artigo de acordo com as normas da revista Arquivos do Instituto Biológico disponível no anexo A. As normas de submissão podem ainda ser consultadas diretamente através do site da revista, no link: <http://www.scielo.br/revistas/aib/iinstruc.htm>.

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo, avaliar a atividade antifúngica do óleo essencial (OE) de *Melaleuca alternifolia* sobre fungos fitopatogênicos da cultura do mamoeiro, através de testes de crescimento micelial para antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) e mancha-alvo (*Corynespora cassiicola*), seguido de germinação de esporos para a varíola (*Asperisporium caricae*), em métodos direto e indireto de aplicação do OE em meio de cultura. No teste direto de crescimento micelial, o OE foi incorporado no meio de cultura BDA, e no teste indireto foi colocado OE na tampa da placa de Petri com gaze. Foram avaliadas as concentrações de 0; 0,05; 0,1; 0,5 e 1% do OE. No centro de cada placa foi repicado um disco de 5 mm de micélio, colocadas em B.O.D. e realizadas medições do diâmetro médio das colônias, até as maiores atingirem $\frac{3}{4}$ da placa. Para o teste de germinação de esporos e comprimento de tubos germinativos, foi preparada suspensão que foram adicionadas em lâmina para microscopia contendo o meio de cultura. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições. Os resultados mostram o potencial do OE de melaleuca no controle desses fitopatógenos, tanto no crescimento micelial como na germinação de esporos, o efeito antifúngico aumentou conforme houve maior concentração, em aplicação em meio direto e indireto, inibindo totalmente a partir de 0,5%.

Palavras-chave: *Carica papaya*, Fitopatologia, controle alternativo, óleo volátil.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate an antifungal activity of the essential oil (OE) of *Melaleuca alternifolia* on phytopathogenic fungi of papaya culture, through mycelial growth tests for anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) and target spot (*Corynespora cassiicola*), followed by germination of spores for smallpox (*Asperisporium caricae*), in direct and indirect methods of application of OE in culture medium. In the direct mycelial growth test, OE was incorporated into the BDA culture medium, and in the indirect test it was placed on the lid of the Petri dish with gauze. They were evaluated as rules of 0; 0.05; 0.1; 0.5 and 1% of the OE. No center of each plate was peaked in a 5 mm mycelium discotheque, placed in B.O.D. and reached the average diameter of the colonies, until reaching a greater reach $\frac{3}{4}$ of the plate. For the spore germination test and germ tube length, a suspension was prepared and added to a microscope slide containing the culture medium. The experiments were conducted in a completely randomized design with 4 replications. The results show the potential of tea tree OE in the control of phytopathogens, both in mycelial growth and spore germination, the antifungal effect increased as there was a greater concentration in direct and indirect application, inhibiting completely from 0.5%.

Keywords: *Carica papaya*, Phytopathology, alternative control, volatile oil.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	9
MATERIAL E MÉTODOS	11
Teste de crescimento micelial e esporulação	11
Teste de germinação de esporos e tamanho de tubos germinativos	12
RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
Crescimento micelial.....	13
Esporulação	17
Germinação de esporos	17
CONCLUSÃO	19
REFERÊNCIAS	19
APÊNDICE A	23
ANEXO A	25

INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) pertence à família *Caricaceae*, originário da América tropical, é um fruto carnoso do tipo baga com formato ovoide. Pode ser classificado como climatérico, ou seja, podem amadurecer depois de colhidos, tendo o índice respiratório influenciado por fatores como, temperatura e composição da atmosfera (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Esta fruta possui grande aceitação no mercado internacional, muito nutritiva, apresentando vitaminas A e C, é cultivado em mais de 40 países, sendo o Brasil, detentor da segunda colocação de produtor mundial de mamão, com uma produção de 1.060.392 t/ano, se destaca entre os principais países exportadores, principalmente para o mercado europeu. A espécie *Carica papaya* é a mais cultivada em todo mundo (FAO, 2018).

É cultivado praticamente em todos os estados brasileiros, porém são nas regiões Sudeste e Nordeste que se encontram instalados os principais Polos de produção da fruta no Brasil, sendo a Bahia e o Espírito Santo responsáveis por cerca de 70% da área e da produção de mamão no país. Este último, tendo uma produção de 361.270 t/ano, com uma área plantada de aproximadamente 7.000 ha, e uma produtividade em torno de 50 t/ha ano, acima da média nacional (INCAPER, 2020).

O Paraná, representado como líder da região sul, está localizado na 20ª posição nacional, com uma área colhida de 80 ha e uma produção anual em torno de 1.600 t/ha (IBGE, 2019).

Segundo o Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (2020), o mamão está entre as sete primeiras frutas mais exportadas do Brasil. A região de Espírito Santo, líder de exportação dessa fruta, exporta basicamente para países da União Europeia. Entretanto, pouco mais de 1,5% do mamão brasileiro é exportado, devido à grande competição do mercado internacional ser cada vez mais exigente em produtos com elevado padrão de qualidade e rigoroso em relação aos problemas fitossanitários.

Nas regiões produtoras de mamão, existem grandes dificuldades para a cultura, devido a ocorrência de fitopatógenos que constituem um fator limitante à produção. Entre as principais doenças na cultura estão a mancha-alvo ou mancha-de-corynespora causada por *Corynespora cassiicola* (MARTINS et al., 2012) a pinta-preta ou varíola causada por *Asperisporium caricae*, que se configuram como duas das mais importantes doenças foliares do mamoeiro. Outra doença de importância no mamoeiro

é a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, que é o principal fitopatógeno pós colheita da cultura.

A mancha-de-corynespora pode afetar também outras culturas de importância, como é o caso da seringueira, onde causa sérias perdas na produção de borracha natural de cerca de 20 a 25% (BARTHE et al., 2007). Já a variola é frequentemente encontrada na maioria das lavouras de mamão. Além de atacar severamente as folhas, incide nos frutos, o que pode acarretar na podridão em pós-colheita, inviabilizando sua comercialização (OLIVEIRA, 2015). Sua importância está relacionada à infecção ocorrer nas folhas e frutos, com conseqüente redução da taxa fotossintética da planta e depreciação da qualidade comercial dos frutos (REZENDE e MARTINS, 2005).

Baseado na dificuldade de cultivo e esporulação *in vitro*, trabalhos relacionados a biologia do fungo *A. caricae* são escassos, considerado por muitos autores como biotrófico (SILVA, 2010). Segundo Brunelli et al. (2006), estudos genéticos da interação patógeno-hospedeiro requerem cultivo e produção de inóculo *in vitro*, visando conduzir inoculações sob condições de ambiente controlado, assim baseando o melhoramento visando resistência à doença. No entanto há carência de trabalhos com o objetivo de estabelecer e orientar metodologias para produção de inóculo *in vitro* da variola.

Atualmente há busca por novas moléculas e produtos de menor impacto ao ambiente para o controle de doenças de plantas. Como destaca Silva e Mello (2007), o crescimento da preocupação com os problemas ambientais, inclusive com o modo de produção na agricultura, resulta na busca de alternativas de produção com enfoque ecológico. Diversas abordagens podem ser empregadas para diminuir os danos ao meio ambiente, como alternativas com produtos naturais.

Entre os produtos naturais se destacam os derivados de plantas, como extratos e óleos essenciais. Os óleos essenciais têm merecido destaque por suas diversas propriedades biológicas, inclusive em potencial uso na agricultura (OOTANI et al., 2013). A planta *Melaleuca alternifolia* tem demonstrado grande potencial antimicrobiano (SOUZA et al., 2015). Também conhecida por *tea tree*, árvore-ti e árvore-do-chá (VIEIRA et al., 2004).

É uma árvore aromática pertencente à família Myrtaceae, originária da Austrália, e com grande interesse econômico devido à presença de óleo volátil armazenado no tecido foliar (MARTINS et al., 2010), qual resultou em efeito positivo

no uso do óleo de melaleuca *in vitro* contra os fungos fitopatogênicos *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Alternaria alternata*, sendo que os pesquisadores concluíram que o óleo pode representar uma alternativa econômica e ecologicamente viável para o controle de patógenos causadores de doenças em plantas. O óleo essencial dessa planta também tem apresentado várias atividades biológicas, incluindo antimicrobiana, antioxidante, acaricida, inseticida (PUVAČA et al., 2019) e sobre protozoários e nematoides (LAM et al., 2020).

Embora tenha sido relatado o potencial do óleo essencial de melaleuca no controle de alguns fitopatógenos, ainda pouco se sabe do efeito do óleo essencial dessa planta sobre fitopatógenos do mamoeiro. Nesse sentido, o presente trabalho buscou avaliar a atividade antifúngica de óleo essencial de *M. alternifolia* sobre fungos fitopatogênicos na cultura do mamoeiro, através de testes de crescimento micelial para antracnose (*C. gloeosporioides*) e mancha-alvo (*C. cassiicola*), seguido de germinação de esporos para a varíola (*A. caricae*), em métodos de aplicação direta e indireta no meio de cultura.

MATERIAL E MÉTODOS

Esse trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *campus* de Laranjeiras do Sul – PR, Rodovia BR 158 - Km 405, CEP 85301-970.

No desenvolvimento do estudo utilizou-se o óleo essencial de melaleuca, proveniente da empresa QUINARÍ®. Os isolados dos fungos *C. cassiicola* e *C. gloeosporioides* foram obtidos da coleção micológica do Laboratório de Fitopatologia. Para o fungo *A. caricae* foram necessárias folhas de mamão *in natura*. As folhas e os isolados são provenientes de plantas presentes na região da Cantuquiriguaçu, PR.

Teste de crescimento micelial e esporulação

Foram avaliados os fitopatógenos causadores de antracnose (*C. gloeosporioides*) e mancha-alvo (*C. cassiicola*). Foi utilizado óleo essencial da planta melaleuca (*M. alternifolia*). Para tanto, foram feitos dois procedimentos para verificar a ação do óleo essencial, o primeiro foi a incorporação do óleo essencial em meio de cultura BDA, após autoclavagem e antes de verter em placas de Petri e, o segundo foi aplicação do óleo essencial em superfície absorvente para conter o produto, de forma que se tenha apenas o efeito volátil. Nesse caso foi utilizado camada de gaze

2x2 cm fixada com fita adesiva na parte superior dentro das placas, sem contato com o meio de cultura. Os procedimentos tiveram aplicação com micropipetas, nas concentrações de 0; 0,05; 0,1; 0,5 e 1%. Buscou-se verificar a eficiência antifúngica do produto em contato direto e indireto com o meio de cultura contendo os fitopatógenos. O delineamento foi inteiramente casualizado com 4 repetições. Para o centro de cada placa foi repicado um disco de 5 mm de micélio, proveniente de colônias com 7 dias de cultivo em meio BDA. As placas foram mantidas em câmara B.O.D. a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. O crescimento micelial foi determinado através da medição do diâmetro médio das colônias, por medidas perpendiculares, até que as maiores colônias atingiram $\frac{3}{4}$ da placa. O crescimento micelial nos diferentes períodos foi integralizado como área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM), através da fórmula $AACCM = \Sigma [((y_1 + y_2)/2) \cdot (t_2 - t_1)]$, onde y_1 e y_2 são duas avaliações consecutivas realizadas nos tempos t_1 e t_2 , respectivamente. Nas placas onde não foi observado crescimento ao final do experimento, os discos foram transferidos para outra placa contendo somente meio de cultura BDA, para verificar o possível efeito fungicida.

Ao final do experimento de crescimento micelial foi analisada a esporulação dos fungos. Para tanto, em cada placa foram adicionados 10 mL de água destilada, e em seguida, a colônia fúngica foi raspada com espátula para liberação dos esporos. Em seguida o material foi filtrado em camada fina de gaze e posteriormente observada a presença e quantificação de esporos.

Teste de germinação de esporos e tamanho de tubos germinativos

Para o agente causal da varíola (*A. caricae*) não foi avaliado o crescimento micelial devido ao limitado crescimento em meio de cultura, mas foi analisado o efeito do óleo essencial sobre a germinação de esporos. Para tanto, em folhas sintomáticas de mamão foram realizados recortes de 2mm na área afetada pelo patógeno contendo os esporos. Esses fragmentos depositados em copo bequer, adicionado água destilada, e agitados por 30 segundos. Em seguida o material foi filtrado em gaze, e a suspensão de esporos ajustada para 5×10^4 esporos por mL com auxílio de câmara de Neubauer. A partir da suspensão de esporos foram pipetados 30 μ L para lâmina de microscopia contendo uma fina camada (1 mL) de meio ágar-ágar (2% de ágar). As lâminas foram inseridas em placas de Petri forradas com papel filtro umedecido. No procedimento em contato direto foram montadas as lâminas aplicando OE no meio

ágar-ágar antes de verter nas lâminas. Para o procedimento indireto foi aplicado OE em gaze fixada na tampa da placa conforme descrito anteriormente. Foram avaliadas as mesmas concentrações descritas no experimento de crescimento micelial. Após a adição dos esporos, o material foi incubado a 25°C, em escuro, por 20 horas. A avaliação dos esporos foi realizada em 50 esporos por repetição e a germinação foi atribuída em porcentagem a partir do valor de esporos obtidos. Foram considerados germinados os esporos com emissão de tubos germinativos. Para os esporos germinados foram determinados os tamanhos dos tubos germinativos, com auxílio de régua micrométrica. O delineamento foi inteiramente casualizado com 4 repetições.

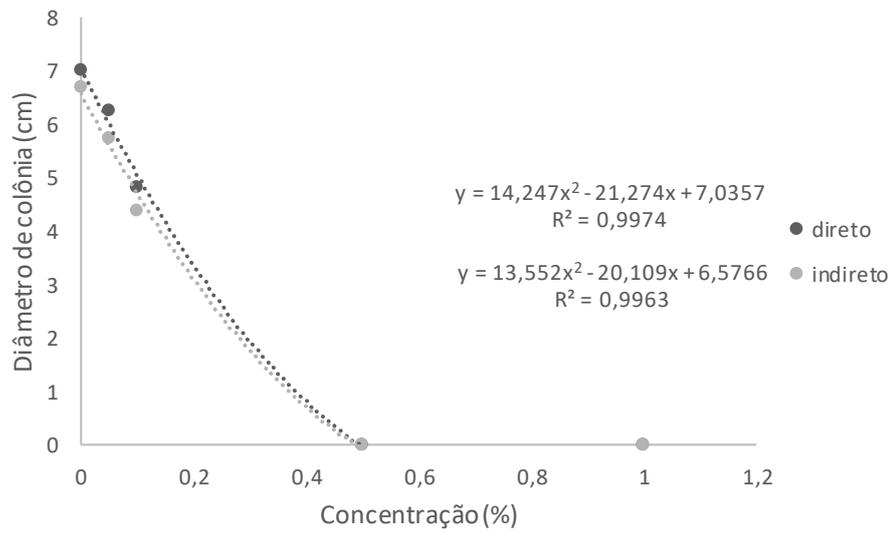
Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância e posteriormente a análise de regressão utilizando-se o pacote do Microsoft Excel 2013 e o programa computacional Sisvar.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

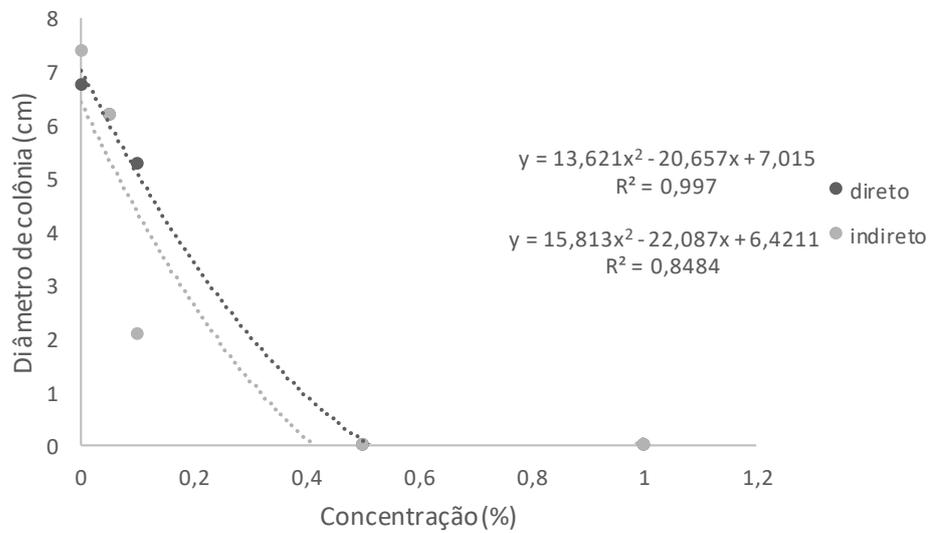
Crescimento micelial

O óleo essencial (OE) de melaleuca promoveu redução significativa no crescimento micelial, sendo mais expressivo em concentrações maiores, tanto em *C. gloeosporioides* como em *C. cassicola*. Sobre o fungo *C. gloeosporioides* o efeito do OE de melaleuca promoveu inibição total a partir de 0,5% (Figura 1A). Sobre *C. cassicola* houve destaque do OE a partir de 0,1%, uma diminuição maior quando comparada ao procedimento direto para este mesmo fungo, a inibição total do crescimento ocorreu na concentração de 0,5% (Figura 1B).

Na Figura 2, são apresentados os valores da área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) que representa a integral das avaliações do crescimento do fungo. Observou-se para o fungo *C. gloeosporioides* que houve redução no tamanho da área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) significativa, tendo o crescimento inibido em 0,5% (Figura 2A). Para o fungo *C. cassicola* houve destaque do OE a partir de 0,1%, sendo inibido a partir de 0,5% (Figura 2B).

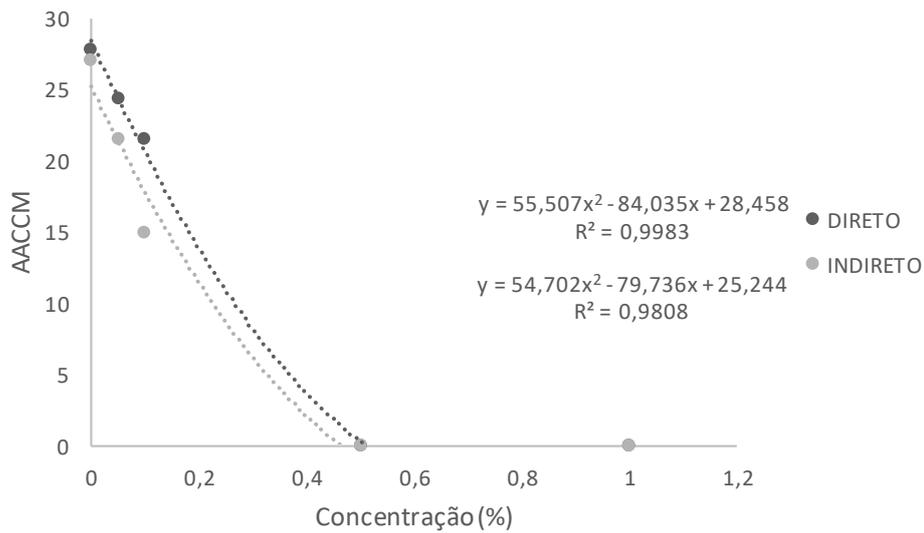


A)

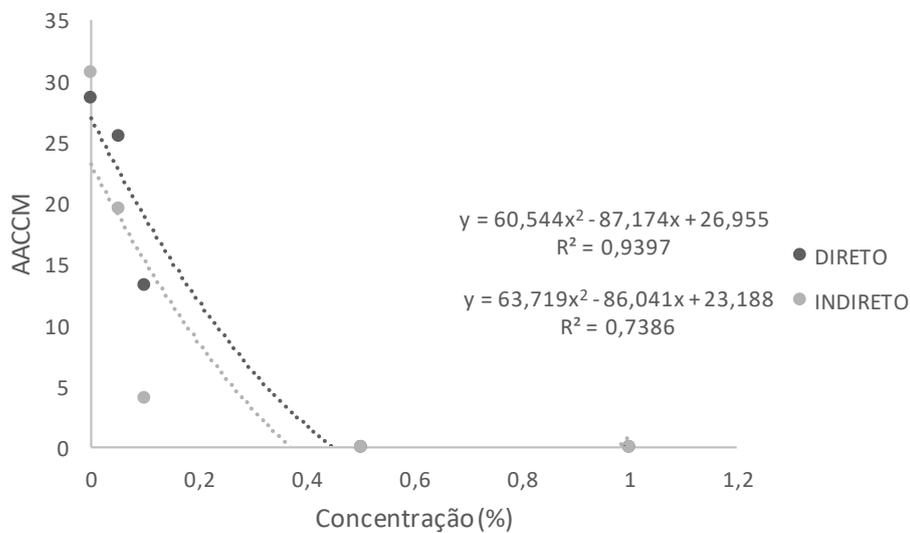


B)

Figura 1. Crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* (A) e *Corynespora cassicola* (B) em diferentes concentrações de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*.



A)



B)

Figura 2. Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) de *Colletotrichum gloeosporioides* (A) e *Corynespora cassiicola* (B) em diferentes concentrações de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*.

Esses resultados demonstram o significativo efeito antifúngico do OE sobre esses fitopatógenos do mamoeiro. Outro resultado importante foi o efeito antifúngico pela ação apenas dos compostos voláteis no procedimento indireto.

Os resultados observados indicam efeito antifúngico direto e indireto do óleo essencial sobre os fungos avaliados. Outros trabalhos têm relatado o potencial

antifúngico de óleos essenciais, indicando a presença de compostos ativos com essas propriedades.

O óleo essencial de *tea tree* é considerado de qualidade superior, quando suas concentrações de 1,8-cineol e terpien-4-ol, respectivamente são, de 2 a 5% e 40 a 47%(SIMOES e SCHENKEL, 2002; GARCIA et al., 2009). O seu óleo pode ser extraído das folhas, ramos e caule tendo sua composição regulamentada pela ISO 4730 (ISO 4730, 1996).

Considerando que o óleo utilizado neste estudo continha terpinen-4-ol como componente principal, explicaria a eficácia apresentada no controle desses fungos. Pois, segundo Castelo et al. (2013) e Vieira et al. (2004) que tem argumentos semelhantes sobre os principais componentes do óleo de melaleuca, que são o terpinen-4-ol que apresenta atividade antimicrobiana e o 1,8-cineol, também denominado eucaliptol.

Em seu trabalho, Martins et al. (2010) tiveram resultados semelhantes, de concentrações a partir de 0,2% incorporado ao meio de cultura, onde reduziu o desenvolvimento dos fungos *M. phaseolina*, *S. sclerotiorum* e *A. alternata*, utilizando óleo essencial de melaleuca. Antes ainda, Papadopoulos et al. (2006) relataram atividade no mesmo âmbito em *Pseudomonas* spp., onde a concentração mínima inibitória encontrada nos tratamentos com o óleo de melaleuca foi de 2,0%.

No trabalho de Costa Neves et al. (2016) os autores verificaram que esse mesmo óleo reduziu significativamente o crescimento micelial de *Stemphylium* spp. Já Souza et al. (2015) relataram que o óleo de melaleuca foi eficaz no controle de *Cercospora beticola* onde este patógeno prejudicava as raízes de beterraba, que com o uso do OE teve melhor desenvolvimento.

Marinelli et al. (2012) verificaram inibição total do crescimento de *C. gloeosporioides* utilizando o óleo de melaleuca na concentração de 0,5%. Assim como relatam Barbosa et al. (2015) o óleo essencial de *tea tree* possui capacidade inibitória sobre o fungo *Colletotrichum musae*, podendo ser usado como uma opção de controle em cultivos orgânicos.

Segundo Hendges (2019), o óleo essencial de melaleuca proporcionou atividade antifúngica sobre *Alternaria solani* e controle da pinta preta do tomateiro, o que pode ter ocorrido tanto por atividade antimicrobiana direta quanto por indução de resistência local e sistêmica pela ativação de enzimas de defesa.

Esporulação

Nas condições do experimento não foi observada a formação de esporos em meio de cultura para ambos fitopatógenos, independentemente do tratamento ou não com as concentrações do óleo essencial, embora sejam fungos que podem esporular abundantemente em condições naturais. A esporulação de fungos fitopatogênicos pode ser influenciada por vários fatores, como idade da colônia, meio de cultivo e condições de estresse.

Segundo Orozco-miranda (2003), a doença causada por *C. gloeosporioides* é expressa somente em condições especiais de suscetibilidade da planta e ou modificação das condições ambientais.

Germinação de esporos

O óleo essencial de melaleuca promoveu significativa inibição tanto da germinação dos esporos (Figura 3A), como no tamanho dos tubos germinativo (Figura 3B) de *A. caricae*. Nas condições desse experimento, embora maior inibição tenha ocorrido em maiores concentrações, nenhum tratamento promoveu inibição total. Nesse experimento também foi observada ação tanto pelo contato direto, com a incorporação do óleo essencial no meio de cultura, como indireto, apenas pelos compostos voláteis. Embora a tendência dos dados tenha sido semelhante entre as formas de aplicação, as médias da aplicação indireta foram inferiores a direta na maioria das concentrações utilizadas, tanto sobre a germinação dos esporos como no tamanho dos tubos germinativos. Essa informação do efeito indireto é muito importante pois demonstra o efeito do óleo essencial por compostos voláteis, mesmo sem o líquido entrar em contato direto com o fungo.

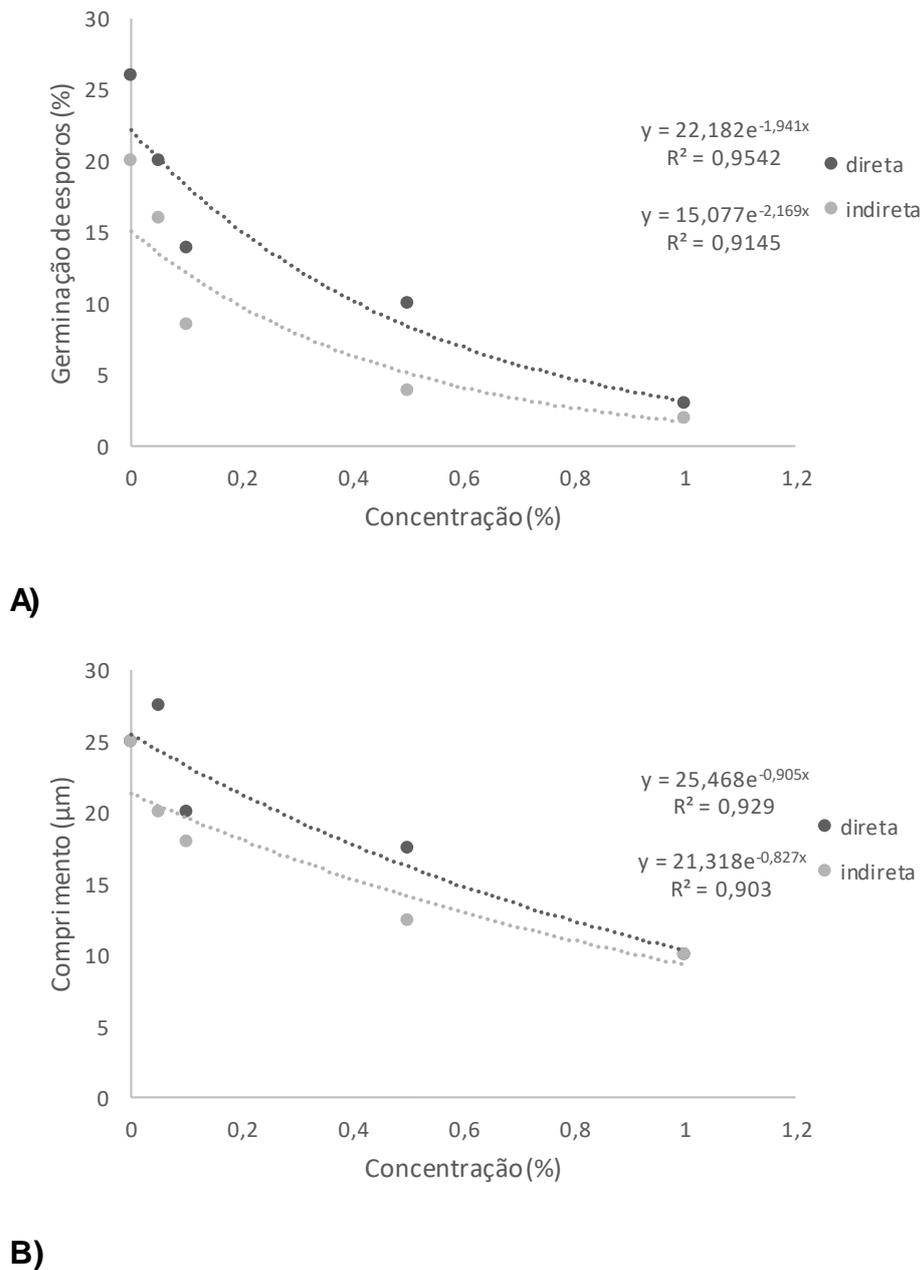


Figura 3. Germinação de esporos de *Asperisporium caricae* (A) e tamanho de tubos germinativos (B) em diferentes concentrações de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*.

A germinação e o desenvolvimento dos tubos germinativos são fundamentais para infecção, então, um efeito inibitório nessa fase pode ser determinante para o controle da doença.

A ação antimicrobiana do óleo essencial de melaleuca tem sido relatada sobre diferentes microrganismos, incluindo alguns de importância médica (PUVAČA et al., 2019).

Enquanto Lorenzetti et al. (2011), concluíram que os componentes voláteis de *M. alternifolia* apresentaram controle *in vitro* do crescimento micelial *Botrytis cinerea*.

No experimento de avaliação do efeito dos óleos essenciais sobre *Phakopsora euvitis in vitro*, Fialho et al. (2015) constataram uma porcentagem de inibição de germinação dos esporos de 26 a 100% e as inibições aumentaram com o aumento das concentrações dos óleos essenciais. Na concentração de 1% o óleo essencial de melaleuca inibiu mais de 75% a germinação dos esporos de *P. euvitis*, na concentração de 2% inibiu, pelo menos, 80% da germinação de esporos de *P. euvitis*. Conforme Nascimento et al. (2019), óleos essenciais podem inibir a germinação de esporos atuando em diferentes mecanismos metabólicos, como a síntese de proteínas e RNA, e a respiração, e assim podem atuar inclusive como fungicidas.

CONCLUSÃO

O óleo essencial de melaleuca inibiu o desenvolvimento dos fungos fitopatogênicos testados, apresentou efeito antifúngico tanto em aplicação em método direto quanto indireto para *C. cassiicola* e para *C. gloeosporioides* reduzindo significativamente o crescimento das colônias, aumentando a eficácia do efeito com o aumento da concentração. Para *A. caricae* o óleo essencial inibiu a germinação de esporos e o tamanho dos tubos germinativos.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, M. S. et al. Atividade biológica *in vitro* de própolis e óleos essenciais sobre o fungo *Colletotrichum musae* isolado de bananeira (*Musa* spp.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n.2, p.254-261, 2015.

BARTHE P. et al. Structure analysis of cassiicolin, a host-selective protein toxin from *Corynespora cassiicola*. **Journal of Molecular Biology** 367: 89-101. 2007.

BRUNELLI, K.R. et al. Effect of culture media and light exposure on the sporulation of *Cercospora zea-maydis*. **Summa Phytopathologica**, 32:92-94. 2006.

CASTELO, A. V. M. et al. Rendimento e composição química do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Chell, na região do Distrito Federal. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.8, n.1, p.143-147, 2013.

CHITARRA, M. I. F; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças:** fisiologia e manuseio. 2. ed. Lavras: Universidade Federal de Lavras, p. 785, 2005.

COSTA NEVES F. O. B et al. Efeito do óleo essencial de melaleuca sobre o crescimento micelial *do Stemphylium* sp., agente etiológico da queima-de-estenfilio na cultura da cebola. IFTM - Instituto Federal do Triângulo Mineiro. Uberlândia, MG. 2016.

FAO. FAOSTAT. Food and agriculture organization of the united nations.

Estatistical Databases Agriculture. 2018. Disponível em: <

http://www.cnpmf.embrapa.br/Base_de_Dados/index_pdf/dados/mundo/mamao/w1_mamao.pdf > Acesso em: 08 de dezembro de 2020.

FIALHO, R. O. et al. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Phakopsora euvitis*, agente causal da ferrugem da videira. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 82, 00211, 2015.

GARCIA, C. C. et al. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade físico-química de formulações de sabonete líquido íntimo acrescidas de óleo de melaleuca. **Rev. Bras. Farm**, v. 90, n. 3, p. 236-240, 2009.

HENDGES, C. **Atividade antifúngica, controle da pinta preta e ativação de mecanismos de defesa em tomateiro por óleos essenciais.** Dissertação de Pós-Graduação - Marechal Candido Rondon, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Unioeste, PR. 2019.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA. **Produção Agrícola Municipal**, 2019. Disponível em:

<http://www.cnpmf.embrapa.br/Base_de_Dados/index_pdf/dados/brasil/mamao/b1_mamao.pdf>. Acessado: 02 de dezembro de 2020.

INCAPER - INSTITUTO CAPIXABA DE PESQUISA, ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL. **Polos de Fruticultura – Mamão.** 2020. Disponível em:

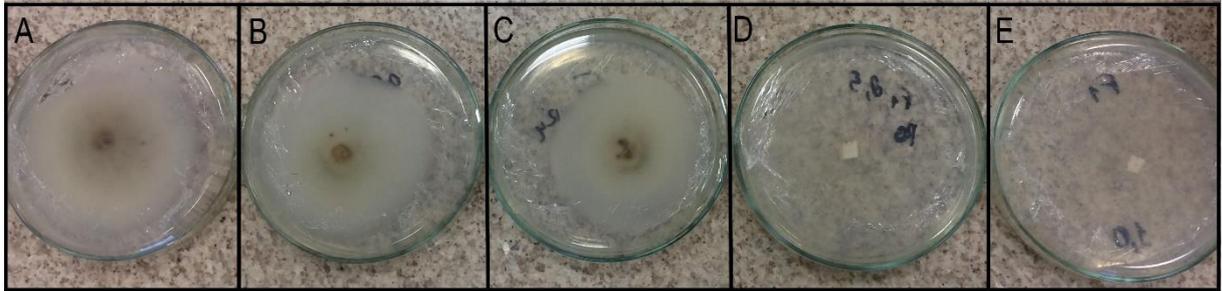
<<https://incaper.es.gov.br/fruticultura-mamao>>. Acessado: 20 de outubro de 2020

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 4730:2004, Oil of *Melaleuca terpinen-4-ol* type (tea tree oil).** Geneva, Switzerland: ISO, 1996.

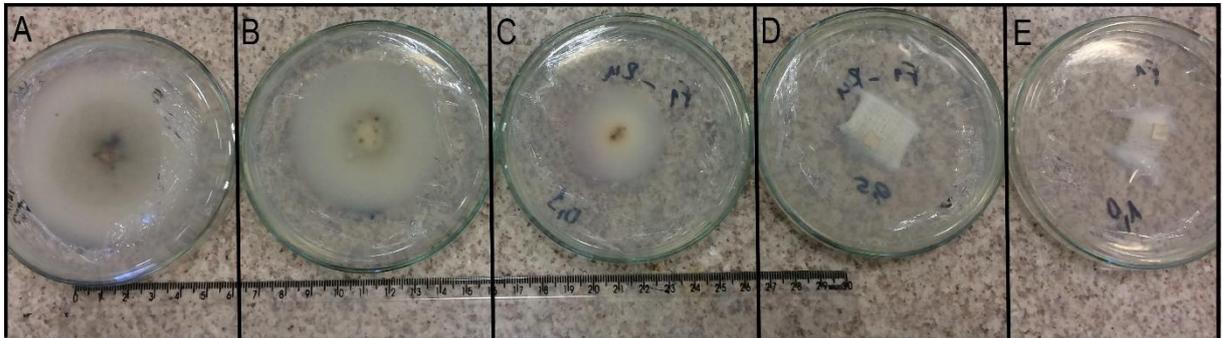
- LAM, N. S. et al. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its monoterpene constituents in treating protozoan and helminthic infections. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 130, p. 110624, 2020.
- LORENZETTI, E. R. et al. Bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morangueiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, SciELO**, Botucatu, SP, v. 13, p. 619–627, 2011.
- MARINELLI, E. et al. Activity of Some Essential Oils against Pathogenic Seed Borne Fungi on Legumes **Asian Journal of Plant Pathology**. v. 6, p. 66-74, 2012.
- MARTINS, J. A. S. et al. Avaliação do efeito do óleo de *Melaleuca alternifolia* sobre o crescimento micelial in vitro de fungos fitopatogênicos. **Bioscience Journal**, v.27, p.49-51, 2010.
- MARTINS, M. V. V. et al. Monitoramento, Sanitização e Controle Químico no Manejo da Mancha-de-Corynespora do Mamoeiro. Fortaleza – CE. Embrapa Agroindústria Tropical, 19 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 69), 2012. Disponível em: <
<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/80202/1/Mancha-de-CorynesporadoMamoeiro69.pdf> >. Acessado: 14 de setembro de 2020.
- NASCIMENTO, D. M. et al. Essential oils inhibit *Colletotrichum gloeosporioides* spore germination. **Summa Phytopathologica**, v. 45, n. 4, p. 432–433, 2019.
- OLIVEIRA, C. R. R. **Resistência de mamoeiro à pinta-preta e variabilidade genética de *Asperisporium caricae* (SPEG.) MAUBL**. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do norte Fluminense – UENF, 2015.
- OROZCO-MIRANDA, E. F. **Caracterização morfológica, molecular, bioquímica e patogênica de isolados de *Colettotrichum* spp. associados ao cafeeiro em Minas Gerais e comparação com *Colletotrichum kahawae***. 2003. 145]7 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.
- OOTANI, M. A. et al. Use of essential oils in agriculture. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. 2, p. 162–175, 2013.

- PAPADOPOULOS, C. J. et al. Susceptibility of pseudomonads to *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and components. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy** n.58, p.449-451. 2006.
- PUVAČA, N. et al. Tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and its essential oil: Antimicrobial, antioxidant and acaricidal effects in poultry production. **World's Poultry Science Journal**, v. 75, n. 2, p. 235–246, 2019.
- REZENDE, J. A. M.; MARTINS, M. C. Doenças do mamoeiro (*Carica papaya* L.). In: KIMATI, H. et al. (Eds.) **Manual de Fitopatologia. Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo SP. Agronômica Ceres. p. 435-443. 2005.
- SILVA, J. B. T.; MELLO, S. C. M. Utilização de *Trichoderma* no controle de fungos fitopatogênicos. EMBRAPA, Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 241. ISSN 0102-0110, Brasília, 17.p. 2007.
- SILVA, L.G. **Isolamento e crescimento de *Asperisporium caricae* e sua relação filogenética com *Mycosphaerellaceae***. 58 f. Tese (Mestrado em Fitopatologia). Universidade Federal de Viçosa, MG. 2010.
- SIMOES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. **Rev. bras. farmacogn.** v.12, n. 1, p. 35-40, 2002.
- SOUZA, A. D. et al. Óleo de melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Maiden & Betche, Cheel) no controle de cercosporiose em beterraba. **Rev. bras. Plantas Med.** v.17 n.4, 2015.
- VIEIRA, T. R. et al. Constituintes químicos de *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). **Química Nova**, São Paulo, v.27, n.4, 2004.

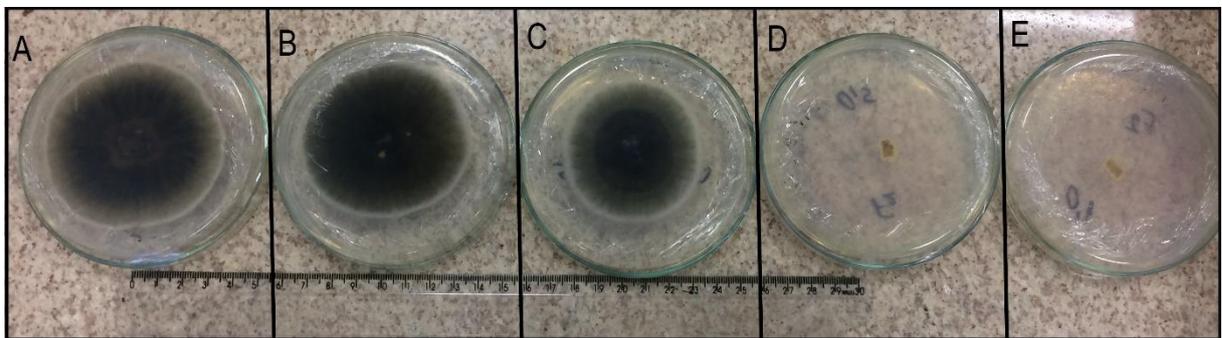
APÊNDICE A
(Imagens do desenvolvimento do trabalho)



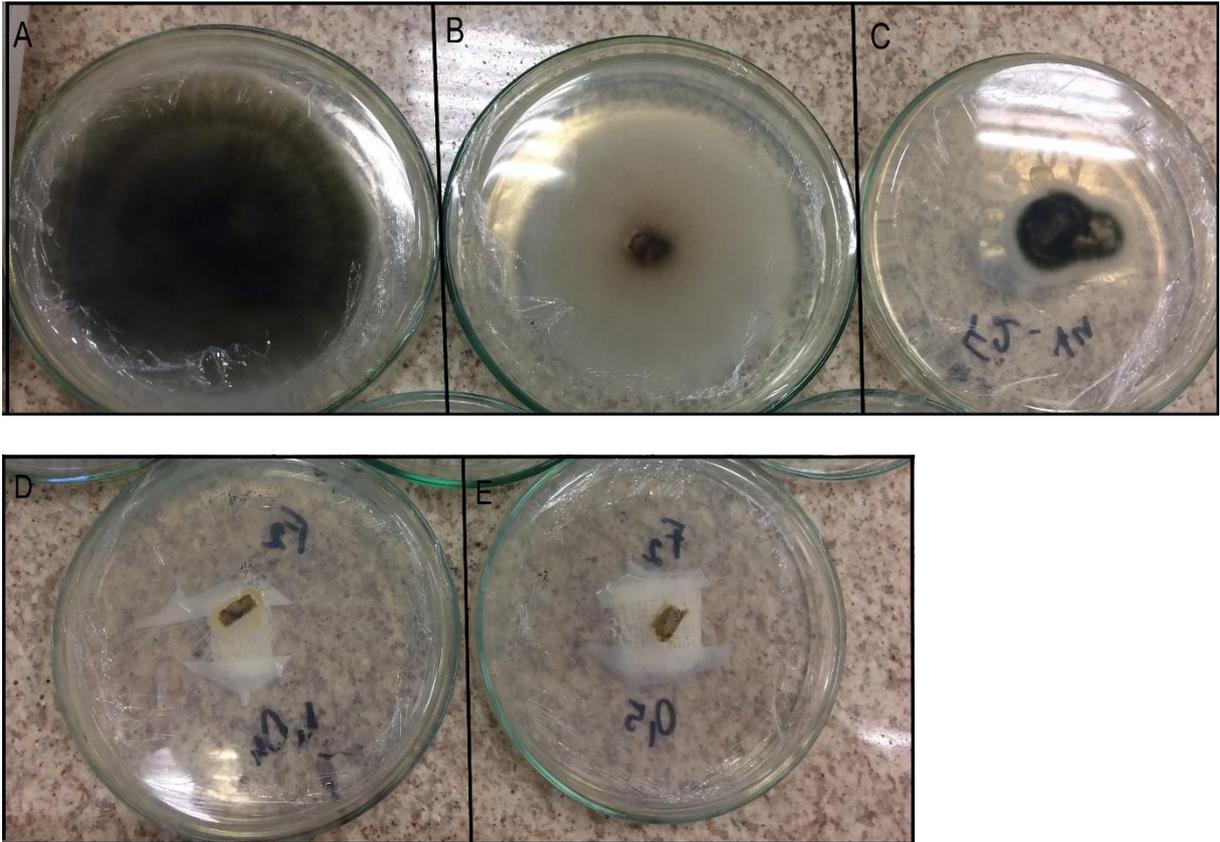
Crescimento micelial *Colletotrichum gloeosporioides*, procedimento direto com concentrações de 0%(A); 0,05%(B); 0,1%(C); 0,5%(D) e 1%(E).



Crescimento micelial *Colletotrichum gloeosporioides*, procedimento indireto com concentrações de 0%(A); 0,05%(B); 0,1%(C); 0,5%(D) e 1%(E).



Crescimento micelial *Corynespora cassiicola*, procedimento direto com concentrações de 0%(A); 0,05%(B); 0,1%(C); 0,5%(D) e 1%(E).



Crescimento micelial *Corynespora cassiicola*, procedimento indireto com concentrações de 0%(A); 0,05%(B); 0,1%(C); 0,5%(D) e 1%(E).

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.

Additional information: Studies involving: 1- animal experimentation and/or genetically modified organisms must be approved by the Ethics and Biosafety Committee, mentioning the process number in the paper and a copy of the approval provided by the correspondent responsible Committee of the author's home institution must be forwarded; 2- plants must have the prior registration and deposit of this material (vouchers) in registered collections and accessible to the public, with the inclusion of its identification number on the manuscript. 3- DNA sequences must have the accession number in enabled databases informed in the manuscript.

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 reais) 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. ; PETTINELLI 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.biologico.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 aflatoxinas. 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>.