

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE CASSILÂNDIA
CURSO DE AGRONOMIA

**USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE *IN VITRO*
DE *Fusarium solani* f.sp *glycines***

Acadêmica: Daniele Maria do Nascimento

Orientador: Gustavo Haralampidou da Costa Vieira

Cassilândia-MS

Novembro/2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE CASSILÂNDIA
CURSO DE AGRONOMIA

**USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE *IN VITRO*
DE *Fusarium solani* f.sp *glycines***

Acadêmica: Daniele Maria do Nascimento

Orientador: Gustavo Haralampidou da Costa Vieira

“Trabalho apresentado como parte das exigências do Curso de Agronomia para a obtenção do título de Engenheira Agrônoma”.

Cassilândia-MS

Novembro/2014

“Pelo amor de deus, rapaz! Já não basta eu ter respondido tantas perguntas suas? O que mais você quer saber?”

“E Pippin respondeu: “Tudo! Quero saber sobre o céu e a terra e o nome de todas as estrelas, claro! Porque menos?” J. R. R. Tolkien.

A Deus,

A meu pai, Jorge Marcos do Nascimento (*in memoriam*), que mesmo não estando presente,
foi quem me deu forças para não desistir em momento algum,

E a minha mãe, Maria Josilene do Nascimento, por ter acreditado na minha capacidade,
sempre me incentivando e apoiando.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por ter me iluminado e me dado forças para superar todos os obstáculos.

A minha mãe, por apoiar todas as minhas escolhas, não medindo esforços para que eu chegasse até aqui, pela confiança em mim depositada quando decidi estudar fora, e por ter entendido minha ausência durante esses cinco anos. Por me inspirar sempre, a ela devo tudo que sou, e tudo que ainda conquistarei.

A minha irmã, Dayane, que mesmo distante, se fez presente em todos os momentos, me apoiando, incentivando, e compartilhando de minhas conquistas.

As companheiras de república, Adriana, Josiane, Claudirene e Rafaela, pelos anos de convivência que, apesar de terem sido pouco tempo com algumas, outras me acompanharam desde o início (né Adriana, rs), e de cada uma carrego além da amizade e das boas recordações, uma lição.

A Marli, Amanda e ao Andrey, por terem sido amigos, companheiros, confidentes, estando ao meu lado durante todo esse tempo em que convivemos, sendo parceiros, seja para tomar uma cerveja, um tereré, assistir a um filme, ou os três juntos!

Ao Thiago, não apenas por ter ajudado e acompanhado todos os meus projetos, mas também pela sua amizade, por ter sido paciente, prestativo, e de certa forma, pelos puxões de orelha (que não foram poucos, aliás), não me deixando nunca desistir de meus objetivos. Por ter me apresentado o autor desta epigrafe, e diversos outros, e pela disposição em ir até Jataí, apenas para assistir aos X-Men! haha

A Giovana e a Ludmilla, por terem se disposto a ler esse trabalho e participar desta banca.

A Prof. Dra. Maria Luiza, por ter me apresentado a fitopatologia, não como uma disciplina essencial a minha formação, mas sim como uma área instigante e desafiante, ensinando-me a enxergar a beleza por detrás desses fungos.

Ao Prof. Dr. Gustavo H. da Costa Vieira, que confiou em mim desde o início, aceitando minhas idéias, incentivando as pesquisas, transmitindo seus conhecimentos, que foram essenciais a minha formação, e me guiando no mundo da escrita. Agradeço também pela imensa disposição e paciência, que sempre teve ao me orientar, principalmente nesta reta final.

E novamente, dedico este trabalho *in memoriam* ao meu Pai, pelos seus ensinamentos, que levarei sempre comigo, e por estar sempre ao meu lado, “pra me levantar quando eu cair”.

A todos que contribuíram para realização deste trabalho, meu muito obrigada!

SUMÁRIO

Páginas

RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
INTRODUÇÃO	10
MATERIAL E MÉTODOS.....	12
RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
CONCLUSÕES	17
AGRADECIMENTOS	17
REFERÊNCIAS.....	17
Apêndice 1 – Normas da Revista	21

Uso de óleos essenciais no controle *in vitro* de *Fusarium solani* f.sp *glycines*

NASCIMENTO, D.M.^{1*}; VIEIRA, G.H.C.¹

¹Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Rodovia MS 306 Km 6, Cassilândia/MS, CEP: 79540-000. *daniele_ocz@hotmail.com.

RESUMO: O presente trabalho objetivou determinar o efeito de diferentes óleos essenciais no controle *in vitro* do fungo *Fusarium solani* f.sp *glycines*, causador da fusariose na soja. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x4 (cinco óleos essenciais: copaíba, nim, basilicão, hortelã e palma rosa e quatro concentrações: 4000, 6000, 8000 e 10000 $\mu\text{L L}^{-1}$) e uma testemunha, com cinco repetições. Discos de meio de cultura com 3 mm de diâmetro colonizados pelo patógeno foram transferidos para meios de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) acrescidos das referidas substâncias nas diferentes concentrações. O tratamento testemunha foi constituído por BDA sem adição de óleos. Os tratamentos foram mantidos em BOD, com temperatura de 28°C e fotoperíodo de 12 horas. Aos sete dias após a inoculação, foram realizadas medições do diâmetro da colônia. Esses dados foram usados para a determinação da porcentagem de inibição de crescimento micelial (PIC). Os dados foram submetidos à análise estatística, aplicando se o teste Tukey (5%) para comparar as médias do fatorial e o teste Dunnett (5%) para comparar a testemunha com cada tratamento. Constatou-se que todos os óleos apresentaram efeito inibitório sobre o patógeno, sendo os óleos de basilicão, hortelã e palma rosa altamente eficientes no controle do fungo, inibindo seu desenvolvimento em todas as concentrações testadas. Por outro lado o óleo de nim demonstrou baixa eficácia, com índices inibitórios inferiores a 30% nas concentrações de 6000 e 10000 $\mu\text{L L}^{-1}$.

Palavras-chave: controle alternativo, crescimento micelial, manejo de doenças.

ABSTRACT: Using essential oils in the control *in vitro* of *Fusarium solani* f.sp *glycines*, cause of fusarium in soybeans. This study aimed to determine the effect of different essential oils in the *in vitro* control of *Fusarium solani* f.sp *glycines*, which causes fusarium in soybeans. The experimental design was completely randomized, factorial 5x4 (five essential oils: Copaiba, neem, basilicon, mint and pink palm and four concentrations: 4000 , 6000 , 8000 and 10 000 $\mu\text{L L}^{-1}$) and a control with five replications. Discs of culture medium with 3 mm diameter colonized by the pathogen were transferred to media PDA (potato dextrose agar) added culture of those substances in different concentrations. The control treatment consisted of BDA without added oils. Treatments were maintained in BOD, with temperature of 28 ° C and 12 hours photoperiod. Seven days after inoculation, colony diameter measurements were performed. These data were used to determine the percentage inhibition of mycelial growth (PIC). Data were statistically analyzed by applying the Tukey test (5%) to compare the means of factorial and the Dunnett test (5%) to compare the witness with each treatment. It was found that all oils exhibited inhibitory effect on the pathogen, being basilicon oils, mint and pink palm highly effective in controlling fungus, inhibiting its development in all tested concentrations. Moreover neem oil showed low efficacy with inhibitory rates lower than 30% at concentrations of 6000 to 10000 $\mu\text{L L}^{-1}$.

Key words: alternative control, mycelial growth, disease management.

INTRODUÇÃO

A fusariose, causada pelo fungo *Fusarium solani* f.sp. *glycines*, também conhecida por "síndrome da morte súbita" ou "podridão vermelha da raiz", destaca-se como uma das doenças mais prejudiciais à cultura da soja.

Seu sintoma se inicia na raiz principal, com o aparecimento de uma mancha avermelhada que logo se expande, circunda a raiz, torna-se vermelho-arroxeadada e finalmente, negra. Em condições de alta umidade, forma-se um anel vermelho na haste, frequentemente coberto por uma massa de coloração bege, constituída de conídios do patógeno. Na parte aérea, observa-se a formação de folhas "carijó" (Almeida et al., 2005).

No Brasil, foram desenvolvidas cultivares resistentes à fusariose (Embrapa, 1997), embora esse método seja pouco eficiente, já que a reação a doença pode variar de acordo com o ano e a época de semeadura (Hershman et al., 1990). Em relação ao manejo, não são conhecidas até então práticas agronômicas que minimizem o impacto da doença. A rotação de cultura com milho ou cobertura com milheto não controla o patógeno, e o plantio direto e as safras chuvosas favorecem o seu desenvolvimento (Embrapa, 2005).

Sendo assim, o uso de fungicidas torna-se a alternativa mais viável ao controle, entretanto, seu uso indiscriminado proporciona o aparecimento de populações resistentes do patógeno (Ghini & Kimati, 2002) e ocasiona danos ao ambiente. Esse último fator tem sido mais preocupante, visto que as pessoas têm se conscientizado a respeito da preservação do ambiente e também da necessidade de alimentos saudáveis, livres de resíduos químicos. Outro fator que também merece destaque é quanto aos produtores de soja orgânica brasileiros, que são os maiores produtores mundiais e se veem sem uma alternativa para o controle da fusariose, uma vez que os fungicidas químicos não são aceitos no sistema orgânico (Medice et al., 2007).

A utilização de extratos brutos e óleos essenciais mostra-se uma alternativa promissora no controle de doenças e tem sido amplamente relatado na literatura.

Segundo Schawan-Estrada et al. (2000), essas substâncias, obtidas a partir de plantas medicinais, atuam por ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos e também pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de compostos com características de elicitores.

A ação desses extratos e/ou óleos essenciais sobre fitopatógenos é identificada através de ensaios laboratoriais, expondo os organismos patogênicos a diferentes concentrações dessas substâncias e avaliando-se sua interferência no crescimento vegetativo do fungo. A partir desses ensaios é que são identificadas as plantas com potencial de controle de doenças, sendo então realizados os ensaios em campo (Silva et al., 2010).

Vários trabalhos já foram desenvolvidos nesse sentido, e alguns autores já relataram o controle *in vitro* de espécies do gênero *Fusarium* por óleos essenciais e extratos vegetais. Amaral et al. (2005) obtiveram 61,51% de inibição do crescimento de *F. oxysporum* ao utilizar o extrato de açafraão a 1%. Esses mesmos autores testaram, ainda, a aplicação do extrato de coração de negro, que causou uma discreta inibição desse mesmo fungo (6,75%) e estimulou o crescimento de *F. solani*. Zacaroni et al. (2009) verificaram inibição total do crescimento micelial de *F. oxysporum* utilizando o óleo essencial de *Piper hispidinervum* (pimenta longa) na concentração de 1000 ug/mL e Costa et al. (2011) constataram que o óleo essencial de cravo apresenta atividade fungicida sobre *F. oxysporum* e *F. solani* na concentração de 0,15%.

O objetivo final dessas pesquisas é disponibilizar aos pequenos produtores rurais ou àqueles interessados no cultivo orgânico, tecnologias oriundas dos compostos de plantas medicinais, de eficácia comprovada (Schawan-Estrada et al., 2000).

O Brasil se destaca como o país de maior diversidade vegetal do mundo, de modo que muitas plantas medicinais ainda carecem de avaliação quanto a sua atividade contra os mais diversos fungos de interesse na agricultura, e seu estudo revela-se promissor, com possibilidades de novas e relevantes descobertas (Silva et al., 2010).

Diante desse contexto, o presente trabalho objetivou determinar o efeito *in vitro* dos óleos essenciais de copaíba, nim, basilicão, hortelã e palma rosa no controle de *Fusarium solani* f.sp *glycines*.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitossanidade da UEMS, Unidade Universitária de Cassilândia/MS.

Os óleos essenciais e o óleo de nim utilizados no experimento foram adquiridos da empresa Oficina de Ervas, registrada na Anvisa sob o nº CEVS 354340218-477-000401-1-8.

O fungo *Fusarium solani* f. sp. *glycines*, cadastrado como MMBF 86-09, foi adquirido da Coleção de Culturas Fúngicas, Micoteca “Mário Barreto Figueiredo”, Instituto Biológico, de São Paulo (SP) e isolado de plantas de soja, em 2009. O isolado foi repicado para meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) a fim de se obter várias colônias puras, das quais foram retirados os discos miceliais utilizados no experimento. As placas com o fungo foram mantidas em BOD a 28°C e fotoperíodo de 12 horas.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x4, sendo cinco óleos essenciais (copaíba, nim, basilicão, hortelã e palma rosa) e quatro concentrações (4000, 6000, 8000, e 10000 $\mu\text{L L}^{-1}$), e uma testemunha, com cinco repetições. O tratamento testemunha foi constituído por meio de cultura BDA sem adição de óleos.

Os óleos essenciais foram adicionados, nas devidas concentrações, ao meio BDA fundente, no momento deste ser vertido nas placas de Petri (9 cm de diâmetro). Posteriormente, sobre o meio solidificado, foram transferidos para o centro da placa, discos de meio de cultura de 3 mm de diâmetro, colonizados pelo patógeno. Em seguida, as placas foram mantidas em BOD com temperatura de 28°C, e fotoperíodo de 12 horas, durante sete dias.

Após este período, foi avaliado o crescimento micelial do fungo, realizando-se medições do diâmetro da colônia, considerando-se a média de duas medidas diametralmente opostas. Os resultados foram expressos em centímetros (cm).

A partir dos resultados de crescimento micelial foi calculada a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), usando-se a fórmula (Edgington et al., 1971).

$$\text{PIC} = \frac{\text{diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento}}{\text{diâmetro da testemunha}} \times 100$$

Os dados de crescimento micelial (diâmetro das colônias) foram submetidos à análise de variância pelo teste F. A média de cada tratamento foi comparada à média da testemunha pelo teste de Dunnett (5%) e, para o esquema fatorial, foi utilizado o teste Tukey (5%).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito inibitório dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial do fungo *Fusarium solani* f.sp. *glycines* está disposto na Tabela 1.

O óleo essencial de copaíba (*Copaifera langsdorfii*) se mostrou mais eficiente na concentração de 6000 $\mu\text{L L}^{-1}$, inibindo 61,88% do crescimento de *F. solani*, se comparado à testemunha, diferindo desta e das demais concentrações. Um crescimento intermediário foi observado na maior concentração utilizada, enquanto que as doses de 4000 e 8000 $\mu\text{L L}^{-1}$ não diferiram estatisticamente entre si e da testemunha, apresentando os maiores diâmetros de colônia obtidos para este óleo, não ocorrendo inibição no crescimento do patógeno.

O efeito fungicida do óleo de copaíba sobre o gênero *Fusarium* já foi relatado por Ishida et al. (2008). Esses autores verificaram que esse óleo, na concentração

de 1000 ppm, inibe o crescimento micelial do *Fusarium solani* f.sp. *piperis*. Sousa et al. (2012) observaram que o óleo de copaíba nas concentrações de 0,2% a 1% inibiu o crescimento do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, porém, assim como nesse trabalho, não foi observada uma correlação direta entre a inibição e a concentração usada.

TABELA 1. Diâmetro da colônia (cm) e porcentagem de inibição de crescimento (PIC; %) do fungo *Fusarium solani* f.sp. *glycines* exposto a tratamentos com óleos essenciais em diferentes concentrações. Cassilândia, MS, 2014.

Tratamentos	Crescimento micelial		PIC
		(cm)	(%)
Copaíba	4000 $\mu\text{L L}^{-1}$	2,90 a B	0,00
	6000 $\mu\text{L L}^{-1}$	1,09 c B*	61,88
	8000 $\mu\text{L L}^{-1}$	2,87 a A	0,00
	10000 $\mu\text{L L}^{-1}$	1,96 b B	31,56
Nim	4000 $\mu\text{L L}^{-1}$	5,59 a A*	0,00
	6000 $\mu\text{L L}^{-1}$	2,08 c A	27,27
	8000 $\mu\text{L L}^{-1}$	3,09 b A	0,00
	10000 $\mu\text{L L}^{-1}$	2,66 b A	7,00
Basilicão	4000 $\mu\text{L L}^{-1}$	0,00 a C*	100,00
	6000 $\mu\text{L L}^{-1}$	0,14 a C*	92,10
	8000 $\mu\text{L L}^{-1}$	0,00 a B*	100,00
	10000 $\mu\text{L L}^{-1}$	0,00 a C*	100,00
Hortelã	4000 $\mu\text{L L}^{-1}$	0,00 a C*	100,00
	6000 $\mu\text{L L}^{-1}$	0,00 a C*	100,00
	8000 $\mu\text{L L}^{-1}$	0,00 a B*	100,00
	10000 $\mu\text{L L}^{-1}$	0,00 a C*	100,00
Palma-rosa	4000 $\mu\text{L L}^{-1}$	0,00 a C*	100,00
	6000 $\mu\text{L L}^{-1}$	0,00 a C*	100,00
	8000 $\mu\text{L L}^{-1}$	0,00 a B*	100,00
	10000 $\mu\text{L L}^{-1}$	0,00 a C*	100,00
Testemunha		2,86	
CV (%)		39,26	

a, b, c - Para cada óleo essencial, médias de concentração seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$). A, B, C - Para cada

concentração, médias de óleo essencial seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). *Médias de tratamento diferem da média da testemunha pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

Para o óleo essencial de nim (*Azadirachta indica*), apenas a menor concentração testada diferiu estatisticamente da testemunha e das demais concentrações, apresentando um desenvolvimento superior aos demais tratamentos, o que demonstra que esse óleo pode estimular o crescimento micelial. Houve pequena inibição do crescimento em relação à testemunha apenas nas concentrações de 6000 e 10.000 $\mu\text{L L}^{-1}$ (27,27% e 7%, respectivamente).

Os resultados obtidos para o nim neste estudo diferem dos resultados encontrados por Dias-Arieira et al. (2010), que observaram que nas concentrações de 1% e 1,5%, o óleo de nim inibiu significativamente o desenvolvimento fúngico de *Colletotrichum acutatum*, após seis dias de incubação. Mello et al. (2005) também obtiveram resultados satisfatórios com o nim, nas concentrações de 0,25 a 2%, obtendo a redução do crescimento micelial e formação de escleródios do fungo *Sclerotinia sclerotiorum*.

Esse efeito estimulante proporcionado pela aplicação de óleos essenciais em fungos não é o primeiro observado na literatura, entretanto, ainda não há registros desse comportamento com o óleo de nim sobre *Fusarium solani* f.sp. *glycines*.

Chagas et al. (2014), ao trabalhar com o óleo de *Citrus limon* (limão) no controle de *Amphobotrys ricini*, constataram esse mesmo efeito estimulante, que, segundo eles, pode ser explicado devido ao fato do óleo possuir algum constituinte que favoreça o desenvolvimento do patógeno. Segundo Norman (1997) e McCalley e Torres-Grifol (1992), esse resultado pode estar relacionado a uma possível especificidade dos constituintes do óleo por algum fungo.

Os óleos essenciais de basilicão (*Ocimum basilicum* L.), hortelã (*Mentha arvensis*.) e palma rosa (*Cymbopogon martinii*) inibiram completamente o crescimento de *F. solani* f.sp. *glycines*, com exceção da concentração de 6000 $\mu\text{L L}^{-1}$ do óleo de basilicão, que apresentou um discreto crescimento micelial, de 0,14 cm, correspondendo a uma inibição de 95,10% do crescimento do patógeno. Embora esse crescimento tenha ocorrido, os valores obtidos não diferiram estatisticamente entre si. Em relação às concentrações desses três óleos, não se observou diferença

estatística entre as mesmas, sendo a inibição obtida independente da concentração utilizada.

Pereira et al. (2006) obtiveram controle do fungo *Aspergillus ochraceus* a partir de uma concentração de 1000 mg/mL do óleo essencial de basilicão. Nessa mesma concentração, houve uma discreta inibição no crescimento micelial de *A. niger* e *A. flavus*, mas o desenvolvimento desses patógenos foram estimulados com o aumento das concentrações. O fungo *Fusarium* sp. não foi inibido em nenhuma das concentrações testadas, diferindo dos resultados aqui obtidos. Esses mesmos autores sugerem, ainda, que o resultado inferior desse óleo sobre os fungos possa ser atribuído às baixas concentrações utilizadas, sendo necessárias doses mais elevadas. A composição química dos óleos também pode variar de acordo com a idade da planta, tipo de tecido, solo e habitat, explicando também a discrepância encontrada em pesquisas realizadas com a mesma espécie de planta e o mesmo patógeno (Silva, 2006).

Com relação ao óleo essencial de hortelã, Pereira et al. (2006) obtiveram a inibição no desenvolvimento micelial de *A. niger* e *A. flavus* nas concentrações de 1500 e 2000 mg/mL, respectivamente, enquanto que o fungo *Fusarium* sp. teve seu crescimento micelial afetado na concentração de 1000 mg/mL, mas retomou seu desenvolvimento nas doses seguintes.

Com resultados semelhantes aos encontrados no presente trabalho, Singht et al. (1993) comprovaram o efeito fungicida do óleo de *Mentha piperita* sobre 23 espécies de microrganismos, entre eles, *Alternaria* sp., *Curvularia lunata*, *Rhizoctonia bataticola*, *Fusarium solani* e *F. moniliforme*, inibindo totalmente o desenvolvimento dos patógenos na concentração de 2000 mg/mL.

Carnelossi et al. (2009) observaram uma relação dose dependente ao utilizar o óleo de *Mentha arvensis* no controle do fungo *Colletotrichum gloesporioides*, ou seja, o aumento de inibição ocorreu de acordo com o aumento da concentração usada, sendo que na maior concentração testada (50 µL por placa), a inibição foi completa, sugerindo que concentrações iguais ou superiores a essa são suficientes para o controle total do fungo.

Esse fato havia sido observado por Diniz et al. (2008), que obtiveram taxas de inibição superiores a 80% dos fungos *Aspergillus* sp., *Penicillium rubrum*, *Sclerotinia* sp., *Fusarium moniliforme* e *Corynespora cassiicola*, na presença do óleo essencial de *Mentha arvensis*, na concentração de 100 µL (por placa). No presente trabalho inibição completa do crescimento micelial já na concentração de 4000 µL L⁻¹.

Com relação ao óleo essencial de palma rosa (*C. martini*), sua ação fungistática já foi comprovada por Delespaul et al. (2000), que comprovaram seu efeito fungicida sobre espécies de *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus* e *A. parasiticus*), *Chaetomium globosum* e *Penicillium funiculosum*. Singh et al. (1980) constataram, também, sua eficiência no controle de *Helminthosporium oryzae* na concentração de 1%, superando o controle obtido por fungicidas sintéticos.

Estudos posteriores devem ser realizando para comprovar o comportamento *in vivo* desses óleos, a fim de que produtos derivados dos mesmos possam ser utilizados como uma alternativa aos fungicidas sintéticos.

CONCLUSÕES

Os óleos essenciais de basilicão, hortelã e palma rosa apresentam efeito fungicida sobre *F. solani*. O óleo de copaíba também possui ação inibitória sobre o fungo, embora em menor eficiência que os três anteriormente citados. O óleo de nim nas concentrações testadas neste estudo não é recomendado para o controle de *F. solani* f.sp. *glycines*.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de pesquisa.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A.M.R. et al. Doenças da soja (*Glycine max*). In: KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia**: Doenças das plantas cultivadas. 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005, p.570-588.

AMARAL, M.F.Z.J. et al. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.2, p.5-8, 2005. Disponível em: www.revistas.ufg.br/index.php/REF/article/download/1959/1927. Acesso em: 20 set. 2014.

CARNELOSSI, P.R. et al. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.4, p.399-406, 2009.

CHAGAS, H.A. et al. Avaliação de fungicidas, óleos essenciais e agentes biológicos no controle de *Amphobotrys ricini* em mamoneira (*Ricinus communis* L.). **Summa Phytopathologica**, v.40, n.1, p.42-48, 2014.

COSTA, A.R.T. et al. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.2, p.240-245, 2011.

DELESPAUL, Q. et al. The antifungal activity of essential oils as determined by different screening methods. **Journal of Essential Oil Research**, v.12, ed. 2, p.256-266, 2000.

DIAS-ARIEIRA, C.R. Atividade do óleo de *Eucalyptus citriodora* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. **Summa Phytopathologica**, v.36, n.3, p.228-232, 2010.

DINIZ, S.P.S.S. et al. Bioatividade do óleo essencial de *Mentha arvensis* L. no controle de fungos fitopatógenos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.10, n.4, p.9-11, 2008.

EDGINGTON, L.V.; KNEW, K.L. & BARRON, G.L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, v.61, n.1, p.42-44, 1971.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina, PR). Recomendações técnicas para a cultura de soja na Região Central do Brasil 1997/98. Londrina, 1997. 171p. (EMBRAPACNPSO. Documentos, 106).

EMBRAPA. Tecnologias de produção de soja Região Central do Brasil 2004. Londrina: Embrapa Soja, 237 p. 2005.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. 2.ed. Jaguariúna/SP: Embrapa Meio Ambiente, 2002. 78p.

HERSHMAN, D.E. et al. Influence of planting date and cultivar on soybean sudden death syndrome in Kentucky. **Plant Disease**, v. 74, p. 761-766, 1990.

ISHIDA, A.K.N. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Copaifera* sobre *Fusarium solani* f.sp. *piperis* Albuquerque. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRICOLAS NATURAIS, n.4, 2008, Belém/PA. **Anais...** Belém/PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2008. p.46.

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

MELLO, A.F.S. et al. Alternative products in the "in vitro" inhibition of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Scientia Agricola**, v.62, n.2,p.179-183, 2005.

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

PEREIRA, M.C. et al. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, n.4, p.731-738, 2006.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. et al. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Floresta**, v.30, n.12, p.129-137, 2000.

SILVA, M.B. et al. Extratos de plantas e seus derivados no controle de doenças e pragas. In: VENZON, M.; JÚNIOR, T.J.P; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica**. Viçosa/MG: Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), 2010, p.33-54.

SILVA, G. Substâncias naturais: uma alternativa para o controle de doenças. **Fitopatologia Brasileira**, v.31 (suplemento), p.9, 2006.

SINGH, A.K. et al. Fungitoxic activity of some essential oils. **Economic Botany**, v.34, ed.2, p.189-190, 1980.

SINGH, H.N.P. et al. Efficacy of leaf extracts of some medicinal plants against disease development in banana. **Letters in Applied Microbiology**, v.17, n.6, p.269-71, 1993.

SOUSA, R.M.S. et al. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. **Summa Phytopathologica**, v.38, n.1, p.42-47, 2012.

ZACARONI, L.M. et al. Potencial fungitóxico do óleo essencial de *Piper hispidinervum* (pimenta longa) sobre os fungos fitopatogênicos *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Amazonica**, v.39, p.193-198, 2009

Escopo e política

A **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** - RBPM é publicação trimestral, exclusivamente eletrônica a partir de 2012, e destina-se à divulgação de trabalhos científicos originais, revisões bibliográficas, e notas prévias, que deverão ser inéditos e contemplar as grandes áreas relativas ao estudo de plantas medicinais. Manuscritos que envolvam ensaios clínicos deverão vir acompanhados de autorização da Comissão de ética pertinente para realização da pesquisa. Os artigos podem ser redigidos em português, inglês ou espanhol, sendo obrigatória a apresentação do resumo em português e em inglês, independente do idioma utilizado. Os artigos devem ser enviados por e-mail: rbpm.sbpm@gmail.com, com letra Arial 12, espaço duplo, margens de 2 cm, em "Word for Windows". Os artigos, em qualquer modalidade, não devem exceder 20 páginas. No e-mail, enviar telefone para eventuais contatos urgentes.

Para a publicação, os artigos aprovados submetidos à RBPM a partir de 1º de Abril de 2013 (inclusive), terão custo de tramite de 300 reais (trezentos reais) a ser efetivado pelos autores/responsáveis somente na ocasião do recebimento da carta de aceitação do artigo, quando receberão o respectivo boleto e instruções para o pagamento.

Forma e preparação de manuscritos

ARTIGO CIENTÍFICO

Os artigos deverão ser organizados em:

TÍTULO: Deverá ser claro e conciso, escrito apenas com a inicial maiúscula, negrito, centralizado, na parte superior da página. Se houver subtítulo, deverá ser em seguida ao título, em minúscula, podendo ser precedido de um número de ordem em algarismo romano. Os nomes comuns das plantas medicinais devem ser seguidos pelo nome científico (binômio latino e autor) entre parênteses.

AUTORES: Começar pelo último sobrenome dos autores por extenso (nomes intermediários somente iniciais, sem espaço entre elas) em letras maiúsculas, 2 linhas abaixo do título. Após o nome de cada autor deverá ser colocado um número sobrescrito que deverá corresponder ao endereço: instituição, endereço da instituição (rua e número ou Caixa Postal, cidade, sigla do estado, CEP, e-mail). Indicar o autor que deverá receber a correspondência. Os autores devem ser separados com ponto e vírgula.

RESUMO: Deverá constar da mesma página onde estão o título e os autores, duas linhas abaixo dos autores. O resumo deverá ser escrito em um único parágrafo, contendo objetivo, resumo do material e método, principais resultados e conclusão. Não deverá apresentar citação bibliográfica.

Palavras-chave: Deverão ser colocadas uma linha abaixo do resumo, na margem esquerda, podendo constar até cinco palavras.

ABSTRACT: Apresentar o título e resumo em inglês, no mesmo formato do redigido em português, com exceção do título, apenas com a inicial em maiúscula, que virá após a palavra ABSTRACT.

Key words: Abaixo do Abstract deverão ser colocadas as palavras-chave em inglês, podendo constar até cinco palavras.

INTRODUÇÃO: Na introdução deverá constar breve revisão de literatura e os objetivos do trabalho. As citações de autores no texto deverão ser feitas de acordo com os seguintes exemplos: Silva (1996); Pereira & Antunes (1985); (Souza & Silva, 1986) ou quando houver mais de dois autores Santos et al. (1996).

MATERIAL E MÉTODO (CASUÍSTICA): Deverá ser feita apresentação completa das técnicas originais empregadas ou com referências de trabalhos anteriores que as descrevam. As análises estatísticas deverão ser igualmente referenciadas. Na metodologia deverão constar os seguintes dados da espécie estudada: nome popular; nome científico com autor e indicação da família botânica; nome do botânico responsável pela identificação taxonômica; nome do herbário onde a exsicata está depositada, e o respectivo número (Voucher Number); época e local de coleta, bem como, a parte da planta utilizada.

RESULTADO E DISCUSSÃO: Poderão ser apresentados separados, ou como um só capítulo, contendo a conclusão sumarizada no final.

AGRADECIMENTO: deverá ser colocado neste capítulo (quando houver).

REFERÊNCIA: As referências devem seguir as normas da ABNT 6023 e de acordo com os exemplos:

Periódicos:

AUTOR(ES) separados por ponto e vírgula, sem espaço entre as iniciais. Título do artigo. Nome da Revista, por extenso, volume, número, página inicial-página final, ano.

KAWAGISHI, H. et al. Fractionation and antitumor activity of the water-insoluble residue of *Agaricus blazei* fruiting bodies. *Carbohydrate Research*, v.186, n.2, p.267-73, 1989.

Livros:

AUTOR. Título do livro. Edição. Local de publicação: Editora, Ano. Total de páginas.

MURRIA, R.D.H.; MÉNDEZ, J.; BROWN, S.A. *The natural coumarins: occurrence, chemistry and biochemistry*. 3.ed. Chinchester: John Wiley & Sons, 1982. 702p.

Capítulos de livros:

AUTOR(ES) DO CAPÍTULO. Título do Capítulo. In: AUTOR (ES) do LIVRO. Título do livro: subtítulo. Edição. Local de Publicação: Editora, ano, página inicial-página final.

HUFFAKER, R.C. Protein metabolism. In: STEWARD, F.C. (Ed.). *Plant physiology: a treatise*. Orlando: Academic Press, 1983. p.267-33.

Tese ou Dissertação:

AUTOR. Título em destaque: subtítulo. Ano. Total de páginas. Categoria (grau e área de concentração) - Instituição, Universidade, Local.

OLIVEIRA, A.F.M. Caracterização de Acanthaceae medicinais conhecidas como anador no nordeste do Brasil. 1995. 125p. Dissertação (Mestrado - Área de Concentração em Botânica) - Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Trabalho de Evento:

AUTOR(ES). Título do trabalho. In: Nome do evento em caixa alta, número, ano, local. Tipo de publicação em destaque... Local: Editora, ano. página inicial-página final.

VIEIRA, R.F.; MARTINS, M.V.M. Estudos etnobotânicos de espécies medicinais de uso popular no Cerrado. In: INTERNATIONAL SAVANNA SYMPOSIUM, 3., 1996, Brasília. Proceedings... Brasília: Embrapa, 1996. p.169-71.

Publicação Eletrônica:

AUTOR(ES). Título do artigo. Título do periódico em destaque, volume, número, página inicial-página final, ano. Local: editora, ano. Páginas. Disponível em: <<http://www.....>>. Acesso em: dia mês (abreviado) ano. PEREIRA, R.S. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. Revista de Saúde Pública, v.38, n.2, p.326-8, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 18 abr. 2005.

Não citar resumos e relatórios de pesquisa, a não ser que a informação seja muito importante e não tenha sido publicada de outra forma. Comunicações pessoais devem ser colocadas no rodapé da página onde aparecem no texto e evitadas se possível. Devem ser também evitadas citações do tipo: Almeida (1994) citado por Souza (1997).

TABELAS: Devem ser inseridas no texto, com letra do tipo Arial 10, espaço simples. A palavra TABELA (Arial 12) deve ser em letras maiúsculas, seguidas por algarismo arábico; já quando citadas no texto devem ser em letras minúsculas (Tabela).

FIGURAS: As ilustrações (gráficos, fotográficas, desenhos, mapas) devem ser em letras maiúsculas seguidas por algarismo arábico, Arial 12, e inseridas no texto. Quando citadas no texto devem ser em letras minúsculas (Figura). As legendas e

eixos devem ser em Arial 10, enviadas em arquivos separados, com resolução 300 DPI, 800x600, com extensão JPG ou TIFF, para impressão de publicação.

Processo de avaliação: Os manuscritos são analisados por, pelo menos, dois pareceristas, segundo um roteiro de análise baseado principalmente no conteúdo científico. Os pareceristas recomendarão a aceitação com ou sem necessidade de retornar; recusa, ou sugerir reformulações, e que, neste caso, o artigo reformulado retornará ao parecerista até que a avaliação seja concluída. Quando no mínimo 2 pareceristas aprovarem, sem necessidade de retornar, o artigo estará pronto para ser publicado e o autor receberá a carta de aceite bem como as instruções para pagamento dos custos de tramite (R\$300 reais)*. Os nomes dos pareceristas permanecerão em sigilo, omitindo-se também perante estes os nomes dos autores.

* Somente os artigos aprovados que foram submetidos a partir de 1º de abril de 2013 terão custo para publicação.

Direitos autorais: Ao encaminhar um manuscrito para a RBPM os autores devem estar cientes de que, se aprovado para publicação, o copyright do artigo, incluindo os direitos de reprodução em todas as mídias e formatos, deverá ser concedido exclusivamente para as Memórias.

ATENÇÃO: Artigos que não estiverem de acordo com essas normas serão devolvidos.

Observação: São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos. Contudo, reserva-se ao Conselho Editorial, o direito de sugerir ou solicitar modificações que julgarem necessárias.