



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO
TOCANTINS
CAMPUS ARAGUATINS
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

ANA CLÁUDIA TEIXEIRA SILVA

**EFICÁCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM – LIMÃO (*Cymbopogon citratus*) NO
CONTROLE DE FITOPATÓGENOS DO MILHO INCIDENTES NO EXTREMO
NORTE DO TOCANTINS**

ARAGUATINS-TO

2017



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO
TOCANTINS
CAMPUS ARAGUATINS
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

ANA CLÁUDIA TEIXEIRA SILVA

**EFICÁCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM – LIMÃO (*Cymbopogon citratus*) NO
CONTROLE DE FITOPATÓGENOS DO MILHO INCIDENTES NO EXTREMO
NORTE DO TOCANTINS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do Título de Grau de Graduada do Curso Superior de Licenciatura em Ciências Biológicas do Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Tocantins, *Campus Araguatins*.

Orientador: Prof. Me. Janaína Costa e Silva

ARAGUATINS-TO

2017

Silva, Ana Cláudia Teixeira

Eficácia do óleo essencial de capim – limão (*Cymbopogon citratus*) no controle *in vitro* e *in vivo* de fitopatógenos do milho incidentes no extremo norte do Tocantins, Brasil / Ana Cláudia Teixeira Silva. - Araguatins, 2018.

46 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins – *Campus Araguatins*, 2017.

Orientador: Prof. Me. Janaína Costa e Silva

1. Plantas medicinais. 2. Controle alternativo. 3. Qualidade Sanitária. 4. Crescimento micelial



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO TOCANTINS
CAMPUS ARAGUATINS
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "EFICÁCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM-LIMÃO (*Cymbopogon citratus*) NO CONTROLE DE FITOPATÓGENOS DO MILHO INCIDENTES NO EXTREMO NORTE DO TOCANTINS"

AUTOR: ANA CLÁUDIA TEIXEIRA SILVA

ORIENTADOR: Profa. Me. Janaína Costa e Silva

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins, *Campus Araguatins*, como parte das exigências para a conclusão do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Aprovado (a) em 07 / 03 / 2018.

Profa. Me. Janaína Costa e Silva
Instituto Federal do Tocantins – IFTO, *Campus Araguatins*

Prof. Dr. Samuel de Deus da Silva
Instituto Federal do Tocantins – IFTO, *Campus Araguatins*

Me. Andréa Ohanna Santos Carvalho
Instituto Federal do Tocantins – IFTO, *Campus Araguatins*

DEDICATÓRIA

Ao fim de uma importante etapa conquistada, dedico este Trabalho de Conclusão de Curso a **Deus**, às pessoas mais importantes da minha vida: meus pais, **Antônio Francisco T. da Silva** e **Valdirene R. da Silva**, aos meus irmãos **Guilherme R. da Silva** **Gustavo R. da Silva** e **Ana Caroline R. da Silva**, à minha tia **M^a Edinalva T. S. Veras**, que confiaram em minha capacidade para esta conquista. Não conquistaria nada se não estivessem ao meu lado. Obrigado, por estarem sempre presentes em todos os momentos, me dando carinho, apoio, incentivo, determinação, fé e principalmente pelo amor de vocês.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer ao meu **DEUS**, por ter concedido a mim o sopro de vida, pela proteção e força para vencer todas as dificuldades até aqui enfrentadas. “Sei que tudo posso naquele que me fortalece.”

Aos meus pais, **Antônio Francisco Teixeira da Silva e Valdirene Rodrigues da Silva**, que até aqui tem dedicado sua vida e me ensinaram a vê-la com dignidade, sei que não basta um obrigada. À vocês, agradeço o esforço sub-humano que realizaram em todo meu processo de graduação, onde as dificuldades foram inúmeras, mas com a força de Deus e a de vocês consegui contornar e realizar um dos sonhos que carrego no peito, não basta um obrigada. À vocês que se doaram por inteiros e renunciaram seus sonhos para que, muitas vezes, ajudassem ao meu. Pela longa espera entre minha idas e vindas para casa. A vocês, pela educação que me foi dada, pelo carinho, pelo amor incondicional, pela compreensão, pela oportunidade, pelos conselhos, pelos perdões, pelos inúmeros momentos felizes que me tornaram a pessoa que sou hoje, não bastaria falar um obrigada, não bastaria falar que não tenho palavras para agradecer tudo feito por mim até hoje. Não sei como expressar tamanha felicidade e exprimir tamanha emoção. Um sentimento inexplicável. Obrigada por tudo meus heróis da vida real.

Aos meus irmãos **Guilherme Rodrigues da Silva, Gustavo Rodrigues da Silva**, meu moreno perfeito, à **Ana Caroline Rodrigues da Silva** minha melhor. A vocês obrigada por palavras de ânimo, por me dar forças quando pensei em desistir, por todas as vezes que falei que não daria certo que não conseguiria, vocês acreditaram e me deram forças.

À minha tia **M^a Edinalva Teixeira da Silva Veras** por ser minha segunda mãe, segunda irmã que sempre esteve ao meu lado, me apoiou, me auxiliou em todos, literalmente todos os momentos que solicitei “ajuda”, não bastaria um obrigada. À você o meu eterno amor, carinho e admiração. Sei que um obrigada não basta a tudo que fez por mim até hoje. Obrigada por tudo!

Aos meus avós, **Lourenço, Eva e Elza**, à minha tia **Valdenir Rodrigues** (*in memorian*) que hoje brilha no céu, obrigada por acreditarem em mim. Vocês são minha fortaleza.

A melhor e grande amiga **Mônica Santana** meu muito obrigada. Agradeço-a por toda a ajuda e incentivos, por me aguentar nos meus piores momentos, por ter rido comigo, conhecer meus piores defeitos e mesmo assim nunca ter me abandonado.

À **Pedro Henrique**, por todo o apoio, por acreditar em mim, por me dar forças quando pensei que nada daria certo, por me auxiliar no trabalho e por toda a paciência. Obrigada por tudo!

A linda e grande professora, **Janaina Costa e Silva**, pela enorme paciência, clareza e dedicação nos ensinamentos transmitidos, sempre disposta a atender minhas necessidades e dúvidas e por me orientar neste trabalho de conclusão de curso. Seu apoio foi determinante na elaboração deste trabalho. Obrigada por tudo!

Aos meus professores **Robson José Silva, Rosângela Martins de Oliveira e Danilo Henrique da Mata** por me ensinarem as melhores lições na graduação, por serem exemplo de pessoa e profissional. Obrigada pelas oportunidades. A professora **Katia Paulino, Sérgio Alves e Alessandro Silva**. Obrigada por tudo!

A **Fábio Rolvander Mendes de Sousa**, por toda dedicação, paciência e compreensão na elaboração de pré-projeto e início do projeto. Obrigada por tudo!

Ao IFTO - Instituto Federal de Educação Ciências e Tecnologia do Tocantins – *Campus Araguatins*, professores, técnicos e funcionários, pelo apoio e disponibilidade que se fizeram úteis e indispensáveis ao desenvolvimento das atividades realizadas durante o curso, em especial a técnica em laboratório **Me. Andréa Ohanna Santos Carvalho** por todo auxílio no laboratório.

Ao professor **Dr. Richard Pereira Dutra** por toda a ajuda, por mesmo com seus diversos compromissos, a linda Maria Júlia pra cuidar se dispôs a me ajudar na extração do óleo essencial. A UFMA – Universidade Federal do Maranhão meu muito obrigada. Obrigada por tudo!

Aos técnicos administrativos, **Karleone Lopes, Ubiratan Vicente, Rafael Deleon, Raimunda Vieira, Eduardo Guimarães**, e estagiário **Vinícius Oliveira** pelo carinho e acolhimento no setor de licitações. Obrigada por tudo!

À **Francisca Carvalho, Marcia Lima, Fábio Neres e Adriana Santos** pelos melhores momentos vividos no início de toda essa jornada. À **Dayane Brandão, Ana Maria, Edilainne Rodrigues, Luciene Nunes, Marinara Cabral, Wanessa Borges, Jéssica Borges**, obrigada pelos momentos vividos, pelos conhecimentos compartilhados. Em especial **Adriana Santos** pela ajuda fundamental na conclusão do TCC.

À todos aqueles que de alguma maneira me ajudaram a concluir esta caminhada que sei bem, é apenas o início, pois o caminho do conhecimento é longo e não se fecha a esse final, mas nos guia a outros caminhos a serem percorridos nesta infinita highway.

Obrigada!

“Investir em conhecimento rende sempre os melhores juros”.

(Benjamin Franklin)

RESUMO

O extremo norte do Tocantins é caracterizado por possuir uma grande quantidade de pequenos produtores rurais, que em sua maioria sobrevive a base da agricultura familiar. Entre os grãos de maior renda familiar está o milho, e doenças fúngicas é um fator limitante para a produção devido as grandes percas na produtividade e qualidade do produto. Fungos fitopatogênicos como *Fusarium* sp. são importante por causarem grandes perdas aos pequenos produtores da região. Para o controle da maioria das doenças é utilizado o controle convencional com uso de agrotóxicos. Porém, a busca de controle livre de resíduos químicos tem incentivado o uso de produtos alternativos como os óleos essenciais de plantas medicinais. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo utilizar óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), como alternativa no controle biológico de fungos fitopatogênicos que acometem a cultura do milho (*Zea mays*) no extremo norte do estado do Tocantins. Na etapa I realizou-se o teste de sanidade nas sementes utilizando o método de *Blotter-test*. A fim de comprovar o patógeno foi realizado o teste de patogenicidade, no qual foi inoculado esporos fúngicos de *Fusarium* sp., em plântulas jovens de milho. Na etapa II foi avaliado o efeito de diferentes concentrações de óleo essencial de capim-limão (*C. citratus*) no controle de fungos sob as sementes. Já na etapa III foi analisado o efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de capim-limão (*C. Citratus*) sob o crescimento micelial de *Fusarium* sp. onde foram realizadas cinco avaliações, em intervalos de 48h, com o auxílio de um paquímetro. Para o teste de sanidade os resultados expressaram alta incidência dos fungos *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp. Os resultados permitiram concluir que os tratamentos de sementes com óleo essencial de capim-limão a 5% inibiu 100% dos fungos. A melhor faixa de inibição do crescimento micelial se deu nas concentrações de 2% a 5%. do óleo essencial de capim-limão.

Palavra-chave: Plantas medicinais, controle alternativo, qualidade sanitária, crescimento micelial.

ABSTRACT

The extreme north of Tocantins is characterized by a large number of small rural farmers, mostly surviving the basis of family agriculture. Among the grains of higher family income is corn, and fungal diseases is a limiting factor for production due to large losses in productivity and product quality. Phytopathogenic fungi like *Fusarium* sp. are important because they cause large losses to small producers in the region. For the control of most diseases, conventional pesticide-based control is used. However, the search for free control of chemical residues has encouraged the use of alternative products such as essential oils from medicinal plants. Thus, the present study aimed to use lemon grass essential oil (*Cymbopogon citratus*), as an alternative in the biological control of phytopathogenic fungi that affect maize (*Zea mays*) in the extreme north of the state of Tocantins. In the first step, the sanity test was performed on the seeds using the Blotter-test method. In order to prove the pathogen, the pathogenicity test was carried out, in which fungal spores of *Fusarium* sp. were inoculated on young corn seedlings. In the second stage, the effect of different concentrations of lemon grass essential oil (*C. citratus*) on the control of fungi under the seeds was evaluated. In the III, the effect of different concentrations of lemon grass essential oil (*C. citratus*) under the mycelial growth of *Fusarium* sp. where five evaluations were performed, at 48 hour intervals, with the aid of a pachymeter. For the sanity test, the results expressed a high incidence of the fungi *Fusarium* sp. and *Penicillium* sp. in all replicates while *Rhizopus* was expressed to a lesser extent. The results allow to conclude that seed treatments with 5% lemon grass essential oil inhibited 100% of fungal species. The best inhibition range of mycelial growth occurred at concentrations between 2% and 5%. of lemongrass essential oil.

Keyword: medicinal plants, alternative control, health quality, mycelial growth

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estimativa de área plantada de milho primeira safra – 2016/17.....	18
Figura 2 - Série histórica de área plantada de milho segunda safra	19
Figura 3 - Capim-limão <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf. em arbusto, detalhe das folhas e detalhes da inflorescência 2014.	23
Figura 4 - Estrutura química dos isômeros formadores de citral.....	24
Figura 5 - estrutura dos compostos marcadores detectados no óleo essencial de capim-limão <i>C. citratus</i>	24
Figura 6 - Mapa do Estado do Tocantins.....	25
Figura 7 - Região do extremo norte do Estado do Tocantins, com destaque aos pontos de coleta.....	26
Figura 8 - Postulado de Koch demonstrando o reisolamento do patógeno, cultivo e aplicação, utilizado para estabelecer a relação casual entre um microrganismo e uma doença.....	28
Figura 9 - Incidência de espécies fúngicas em sementes de milho do extremo norte do Tocantins	31
Figura 10 - Sintomas de <i>Fusarium</i> sp. na cultura do milho. Podridão da raiz em primeiro estágio (A), podridão do colmo (B), murcha das folhas (B, e C) podridão total da raiz (D)	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Porcentagem média de incidência de fungos em amostras de sementes de milho submetidas a diferentes tratamentos	34
Tabela 2. Incidência de fungos e porcentagem de germinação em amostras de sementes de milho submetidas a diferentes tratamento	35
Tabela 3. Diâmetro médio micelial (mm) de <i>Fusarium</i> sp. submetido a diferentes concentrações de óleo essencial de capim limão (<i>C. citratus</i>), in vitro (T = testemunha; T1 = óleo diluído a 1%; T2 = óleo diluído a 2%; T3 = óleo diluído a 3%; T4 = óleo diluído a 4%; T5 = óleo diluído a 5%) em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8, 10 dias de incubação)	36

LISTA DE ABREVIATURAS

BDA	Ágar Batata Dextrose
BOD	Demanda Bioquímica de Oxigênio
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
CO ₂	Dióxido de carbono
et al.	et al (do latim): e outros
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFTO	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins
PIB	Produto interno bruto
sp.	<i>Speciei</i> (do latim): espécie
UFMA	Universidade Federal do Maranhão

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Grau Celsius

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 Histórico, produção e importância econômica do Milho (<i>Zea mays</i>).....	18
2.2 Doenças da cultura do Milho.....	19
2.3 <i>Fusarium</i> sp. como agente patogênico do milho	20
2.4 Controle convencional de patógenos do Milho	21
2.5 Óleos essenciais	21
2.6 Óleo essencial de capim-limão (<i>Cymbopogon citratus</i>) e sua natureza fúngica.....	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 Área de estudo.....	25
3.2 Experimentos Executados.....	26
3.3 Obtenção do óleo essencial.....	26
3.4 Testes de sanidade com sementes de milho produzidos na região do extremo norte do Tocantins	27
3.4.1 Método de Filtro (blotter test)	27
3.4.2 Patogenicidade de <i>Fusarium</i> sp. em plântulas de milho	28
3.5 Tratamento com óleo essencial de capim-limão (<i>C. citratus</i>), sobre a qualidade sanitária das sementes de milho (<i>Zea mays</i>).....	29
3.6 Controle do crescimento micelial de patógenos do milho utilizando concentração de óleo essencial de capim-limão (<i>C. citratus</i>), na ordem de 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%	30
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5 CONCLUSÃO.....	38
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	39
7 REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

O crescimento populacional habitacional, além de diminuir as áreas apropriadas ao cultivo agrícolas, aumenta a demanda por alimentos (BRUM, 2012), e a previsão para o ano de 2050 é que a população chegue aos nove bilhões de habitantes (CARRER et al., 2010). Assim, produzir alimentos que supram esta necessidade torna-se um desafio ao setor agrícola e aos produtores rurais.

Segundo Barros e Calado (2014), originário do teosinto, o milho (*Zea mays*), é um dos representantes da família das Gramineae/Poaceae, encontra-se no topo dos cereais mais produzidos e comercializados no país, sendo cultivado em quase todo território brasileiro e em diferentes sistemas de produção. O mesmo se trata de uma cultura de grande importância social e econômica inquestionável pelo seu uso na alimentação humana, também, por consistir como principal insumo para a produção de ração animal, merecendo destaque na conservação de grãos e a tolerância às doenças causadas em grande escala por fungos, bactérias e insetos (CRUZ, 1996).

Embora a produção do milho seja de fácil cultivo, a cultura está sujeita a uma série de doenças que podem comprometer a produção dos grãos. Algumas safras sofrem grandes perdas devido às ações de fungos fitopatogênicos, que podem reduzir de forma significativa a produção da cultura (BRUM, 2012). No Brasil, os principais fungos que acometem as sementes de milho em campo de produção são *Fusarium moniliforme* e *Cephalosporium spp.*, e em armazém destaca-se o *Aspergillus spp.* e *Penicilium spp.* Estudos constataram que fungos como *Aspergillus spp.* e *Penicilium spp.* normalmente não afetam o processo de germinação da semente de milho, mas *Fusarium moniliforme* pode impossibilitar o desenvolvimento das raízes das plântulas (PINTO, 2003).

Atualmente, o controle da maioria das doenças em plantas é realizado com base no uso de agrotóxicos, estes foram difundidos no Brasil na década de 60 (SOARES, 2010). O uso desse produto a fim de combater essas doenças e pragas traz efeitos positivos em primeiro momento, já que o agricultor procura uma solução rápida e eficaz. Apesar da grande importância que esses químicos têm na agricultura, o uso contínuo e desregulado de agrotóxicos pode causar sérios problemas, como infertilidade no solo, contaminação na água e meio ambiente, bem como promoverem resistências de patógenos e favorecem o aparecimento de novas pragas (BRUM, 2012).

A demanda por produtos livres de resíduos químicos tem provocado a busca por

métodos alternativos de controle, como o uso de óleos e extratos de plantas medicinais pelo seu baixo custo comercial e baixo impacto ambiental (NASCIMENTO, 2016). De acordo com Brum (2012), óleos essenciais apresentam potencial para o manejo de doenças em plantas e possuem capacidade de agir como fontes fungicidas, dependendo do método utilizado.

Trabalhos com controle de doenças fúngicas utilizando óleos essenciais de plantas medicinais em culturas no Brasil, têm tido de maneira geral um destaque a pesquisa no setor agrícola. Óleos essenciais são compostos voláteis com baixo peso molecular extraído de vegetais por diferentes técnicas. Alguns desses compostos apresentam grande eficácia no controle de microrganismos e estão sendo extraídos e analisados através das técnicas fotoquímicas, com a finalidade de posteriormente, serem utilizados no setor agrícola de grande escala, em indústrias alimentícias e cosméticas (SOARES, 2009).

Embora estudos já tenham sido realizadas com a cultura do milho, em várias regiões do país e do mundo, informações acerca desse tema ainda são escassas no estado do Tocantins. Dessa forma, identificar os fungos causadores de doenças nessa cultura e métodos alternativos para o seu controle são de grande importância para o auxílio de produtores agrícolas da região. Assim, o presente trabalho teve como objetivo utilizar óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) como uma alternativa no controle de fungos fitopatogênicos que acometem a cultura do milho (*Zea mays*) no extremo norte do estado do Tocantins.

2 REVISÃO DE LITERATURA

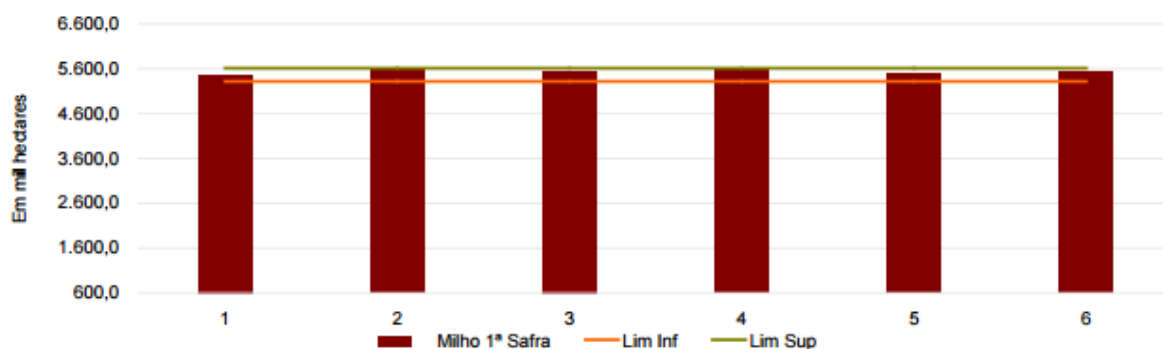
2.1 Histórico, Produção e importância econômica do milho (*Zea mays* L.)

O milho (*Zea mays* L.) não é nativo do Brasil, apenas o México e a Guatemala são considerados países que deram origem a este cereal. Segundo Lerayer (2006), a mais antiga espiga de milho que se tem notícia foi vista a primeira vez no vale do Tehucan, em 7.000 a.c. região que hoje é localizado o México. Ao longo do tempo o milho sofreu domesticação pelo homem por meio de seleção visual de campo dando origem as variedade conhecidas atualmente.

O milho (*Zea mays* L.) espécie que pertence à família Gramineae/Poaceae e destaca-se como uma das culturas mais cultivadas no mundo (SIQUEIRA, 2013), ultrapassada somente pelo arroz e pelo trigo (FAGERIA, 1989). A cultura além de fornecer produtos largamente utilizados pelo homem, é importante matéria-prima para a indústria por intermédio do seu alto potencial produtivo (SEVERINO et al., 2005 explorações agrícolas (BARROS e CALADO, 2014).

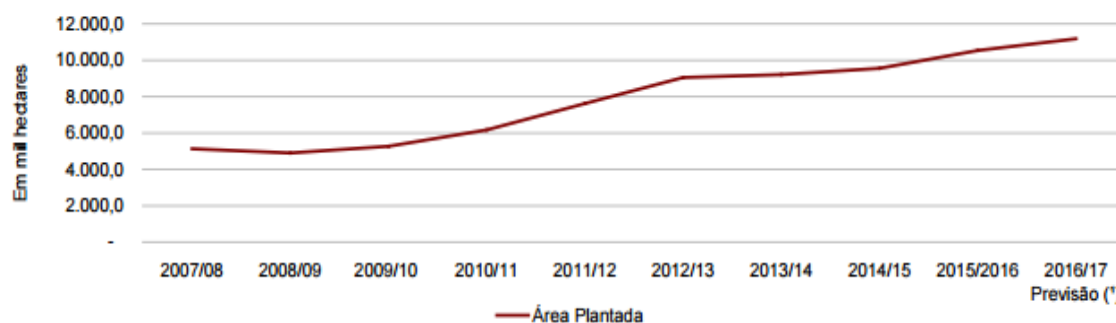
Em relação ao cultivo do milho no Brasil, Siqueira (2013) destaca que a cultura constitui umas das mais importantes atividades do contexto de agronegócio, sendo cultivada e consumida das mais diversas formas direta ou indireta, destinado tanto ao consumo humano, aves e suínos, a partir dos grãos, insumos e seus derivados quanto para produção de biocombustível. Nos últimos tempos, a produtividade da cultura do milho no Brasil tem apresentado aumento significativo, resultante do progresso dos sistemas de cultivo agrícola (COSTA e COSTA, 2012). Segundo os dados da CONAB (2017), nos anos de 2016 a 2017 no sexto levantamento da safra brasileira de grãos a estimativa é que o Brasil cultive mais de 60 milhões de hectares de grãos em toda sua região geográfica (figura 01 e 02).

Figura 1 - Estimativa de área plantada de milho primeira safra – 2016/17.



Fonte: CONAB, 2017

Figura 2 - Série histórica de área plantada de milho segunda safra.



Fonte: CONAB, 2017

Para Milanez et al. (2014) em busca da substituição da cana-de-açúcar na produção do etanol o setor privado vem considerando o milho como alternativa de alto potencial. Nos Estados Unidos as empresas utilizam o milho com matéria prima principal para produção de etanol, sendo esta uma cultura que melhor se adéqua ao solo e clima do país e apresenta produção significativa (MENDONÇA et al., 2010). Favorecido pelo preço do milho, pela redução dos custos de produção e produção em grande escala no Brasil, o etanol a partir do milho pode vir a ser uma realidade brasileira não tão distante (BORTOLETTO e ALCARDE, 2015).

O milho é cultivado em todo território brasileiro, sendo a região Centro-sul o maior produtor, com produtividade de cerca de 82.424,5 toneladas na safra de 2016/2017, seguida pela região Centro-Oeste com cerca de 43.816,9 t, a região Sul segue com produtividade de cerca de 26.474,2 t, Sudeste com 12.133,4 t, Nordeste com 6.446,8 t e o Norte com cerca de 2.597,1 t (CONAB, 2017).

2.2 Doenças da Cultura do Milho

O milho foi sempre considerado uma cultura rústica, capaz de resistir a diversos tipos de estresse ambiental. No entanto, atualmente com o grande crescimento das demarcações agrícolas, com o desempenho da monocultura e aumento das épocas/formas de cultivo, esta realidade mudou, surgiram fatores prejudiciais a cultura, principalmente as doenças capazes de acometer significativamente o mercado econômico (KIMATI et al., 1997).

Chagas et al. (2015) destacam que embora estudadas em várias partes do Brasil e do mundo, é escasso o conhecimento de epidemiologia e o controle de doenças na cultura do milho no estado do Tocantins. Considerando que o principal setor econômico do estado é a agropecuária, com o PIB de 40 % (CRUZ et al., 2009). A identificação das principais doenças

prevalentes na região, o estudo, o entendimento de seu desenvolvimento e o conhecimento das medidas de controle é de extrema importância para expansão da cultura na região.

As pesquisas na área de fitopatologia têm colaborado com o entendimento relacionado à epidemiologia, demonstrado a importância da semente na continuação do ciclo de vida de fungos, pois a maioria dos patógenos se propagam por meio das sementes (REIS et al., 2016).

De acordo com Kimati et al. (1997), as principais doenças causadas por fungos em cultura no Brasil são: Podridões de Semente e Morte de “Seedling”; Podridão de Raízes; Ferrugem Tropical; Mancha Foliar de *Helminthosporium Turcicum*; Ferrugem Polisora; Ferrugem Comum; Mancha Foliar de *Helminthosporium Mayds*, Mancha Foliar de *Helminthosporium Carbonum*; Mancha Foliar de *Phaeosphaeria*; Mancha Marrom; Mildio; Carvão Comum; Carvão do Topo; Falso-Carvão; Podridão de Colmo Causada por *Diplodia*; Podridão de Colmo Causada por *Fusarium*; Podridão de Colmo Causada por *Colletotrichum* (Antracnose); Podridão de Colmo Causada por *Pythium*; Podridão de Espiga causada por *Diplodia*; Podridão de Espiga causada por *Fusarium*; Podridão de Espiga causada por *Gibberella*; Podridão de Espiga causada por *Penicillium*.

Chagas et al. (2015) ainda afirma que, a importância de cada doença é variável em relação as condições climáticas, formas de cultivo e resistências as cultivares. De acordo com Brum (2012) diante de todos os fatores que influenciam na perda de produção de grãos e alimentos, as doenças fúngicas são os fatores que causam maior impacto na agricultura.

2.3 *Fusarium* sp. como agente patogênico do milho

Além do trigo, outro grão produzido em grande escala no país e alvo de contaminações por fungos é o milho (PUZZI, 1997). Devido às condições ambientais favoráveis à atividade metabólica do grão, umidade e temperatura alta (IAPAR, 2013). Segundo Pinto et al. (2006), mudanças climáticas, mudanças no sistema de cultivo, época de plantio e cultivo consecutivos em uma mesma região contribuem acentuadamente para a multiplicação e preservação de inoculo de diversos patógenos entre os patógenos encontra-se o gênero *Fusarium*.

O gênero *Fusarium* é classificado como um fungo nitospórico, evidenciado por um micélio hialino, tabicado e ramificado, com esporóforos em forma de filóides e conídios de forma e tamanho variável. Apresenta macroconídios fusiformes com vários septos. *Fusarium* sp. classifica-se entre os fungos de campo, demanda umidade elevada para seu desenvolvimento, invade a semente e produz toxina no período de pré colheita. Incapaz de competir com fungos de estocagem devido ao crescimento lento tende a desaparecer

relativamente rápido durante a armazenagem, ficando apenas a toxina produzida durante o seu desenvolvimento (LEAL et al., 2005).

No Brasil a incidência de doenças como a podridão do colmo chega a mais de 70% de percas na produtividade. Os sintomas da doenças caracteriza-se pela clorose e queda de folhas, redução do crescimento, murcha e morte das plantas. A murcha das plantas são mais comuns em seu estágio de reprodução podendo também ocorrer em plantas jovens, que em determinadas situações apresentam um acelerado progresso precedendo a morte da planta (TINOCO, 2010).

2.4 Controle convencional de patógenos do milho

Segundo Costa e Costa (2012), é importante compreender que o ataque de patógenos (microrganismos causadores de doenças) e a evolução de doenças na cultura do milho está relacionada diretamente a evolução do sistema de produção, onde as modificações ocorrentes nas formas de produção foram também responsáveis pelo aumento da incidência das doenças.

Tradicionalmente, o manuseio dessas pragas/doenças na cultura do milho tem distendido novos meios de controle como o manejo de cultura e o uso de cultivares resistentes. No entanto, nos dias atuais o uso de fungicidas químicos em lavouras comerciais designadas a produtividade de grãos tem aumentado de forma significativa (COTA et al., 2009). O controle de pragas e doenças atualmente é realizado da forma convencional com o uso de agrotóxicos. O Brasil consome cerca de 84% dos agrotóxicos vendidos na América. Entre os anos de 1999 a 2009 foi quantificado cerca de 62 mil casos de intoxicação por agrotóxico de uso exclusivamente agrícola, o que significa dizer que houve cerca de 5.600 intoxicações por ano no país (BOMBARDI, 2011).

Nas últimas décadas, o uso de controles químicos tem ganho destaque e se tornado cada vez mais comum na cultura do milho. Resultados obtidos pela Embrapa Milho e Sorgo e outras pesquisas comprovam que fungicidas químicos têm se mostrado eficientes quanto ao combate de doenças na cultura do milho. Contudo, algumas condições precisam ser analisadas para que o uso desses químicos sejam superior aos custos de sua utilização (COTA et al., 2012).

2.5 Óleos essenciais

Óleos essenciais incluem uma mistura de substâncias voláteis extraídos de plantas aromáticas e segundo Maia et al. (2015) podem ser sintetizados por todos os órgãos das plantas: folhas, flores, caules, sementes, raízes, frutos e casca de árvores. Em seu trabalho

Soares (2009) relata que o potencial desses organismos biossintetizarem os mais variados tipos de moléculas é algo fascinante, seria desperdício não aproveitar das inúmeras capacidades da flora brasileira.

Para Gomes (2011), o Brasil destaca-se na produção de óleos essenciais estando entre os quatro maiores produtores mundiais. Já se conhecem aproximadamente 300 óleos essenciais, dos quais, todos são de importância comercial no mundo. Várias são as fontes em que se pode extrair óleos essenciais, como espécies do gênero *Citrus*: eucalipto, hortelã, menta, laranja, citronela, limão, cravo-da-índia, cedro, lima destilada, apearmint; no mais plantas como alecrim, alfavaca, neen, noni, alfazema, arruda, boldo, capim-limão, camomila, canela, gengibre, dentre muitas outras.

Apesar de nem sempre ser necessário para que a planta complete o seu ciclo de vida, os óleos essenciais desempenham uma função importante na interação de planta e meio ambiente. Uma das principais funcionalidades desses compostos gerados é atuar como mecanismo de defesa das plantas, agindo contra patógenos, fungicidas, herbívoros e atração de organismos benéficos, como a atração de agentes polinizadores e microrganismos simbioses (JAKIEMI, 2008).

Utilizados como agentes medicinais, os óleos essenciais são conhecidos desde a remota antiguidade. São elementos aromáticos, voláteis que exercem papel fundamental na defesa contra microrganismos e predadores (SINAI, 2000). Para Trancoso (2013), óleos essenciais possuem grande importância industrial, podendo ser utilizado na indústria farmacêutica, perfumarias e cosmética. Óleos puros apresentam toxicidade elevada, onde é recomendado o uso de pequenas dosagens quando utilizado (CARDOSO et al., 2000).

Segundo Gomes (2014), as literaturas têm destacado as eficiências de óleos essenciais, com natureza fungicida, impedido o crescimento micelial e sua proliferação em culturas. Várias espécies já foram testadas e obtiveram resultados satisfatórios no controle de fungos. O capim-limão, planta que produz ótima quantidade de óleo essencial é muito utilizado como aromatizante. O Cravo-da-índia, bastante utilizado como planta medicinal. O Eucalipto, possui fins industriais, perfumaria e medicinal rico em composto monoterpênico. A Menta possui um dos maiores rendimentos em óleo essencial (BIZZO e REZENDE, 2009).

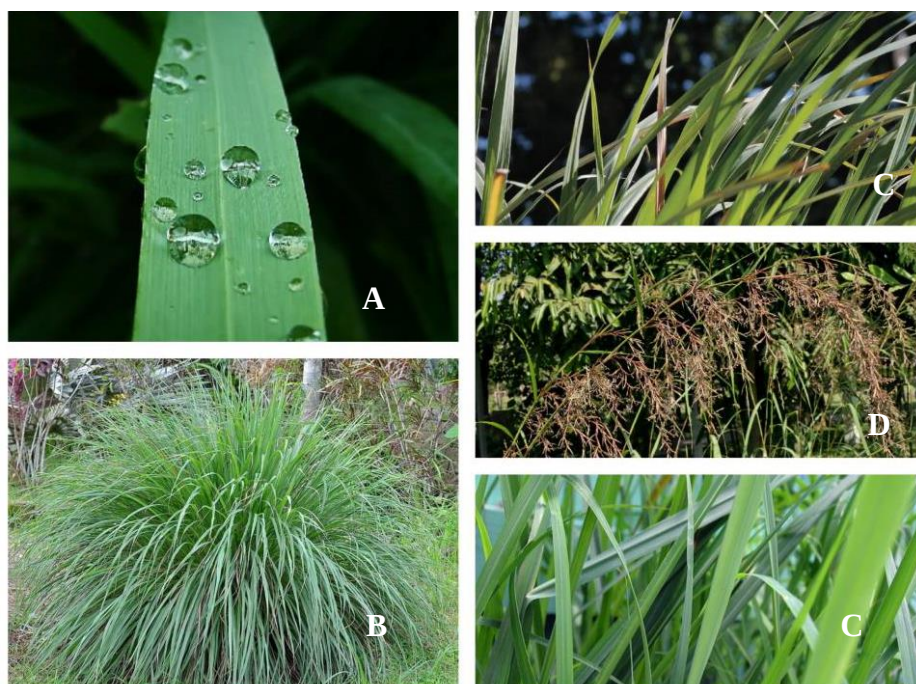
A obtenção destes compostos voláteis pode ser desempenhada por diversos sistemas, tais como: hidrodestilação, arraste com vapor d'água, extração a frio e a quente com solvente, enfleuragem, CO₂ supercrítico e outros (CASSEL, 2006; SCHANEBERG, 2002). No entanto o método de hidrodestilação e arraste com vapor de água são os mais utilizados.

Durante décadas, as buscas em prevenir, controlar e eliminar essas doenças estão concentrados no uso de fungicidas químicos. Mesmo obtendo resultados satisfatórios, o uso repetido desse químicos tem ocasionado desequilíbrio no ecossistema e promovendo resistência a patógenos (COTA et al., 2009). A crescente procura por métodos alternativos utilizando subprodutos de vegetais de qualidade, livres de riscos e contaminação por resíduos químicos têm incentivado a redução do uso de agrotóxicos (CARVALHO et al., 2008).

2.6 Óleo Essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e sua natureza fungicida

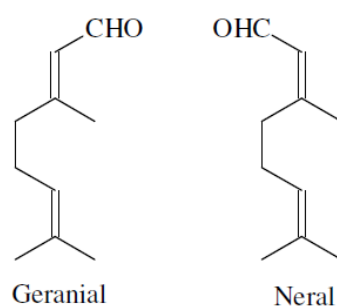
Cymbopogon citratus conhecido popularmente no Brasil como capim-santo, capim-limão, capim-codró, capim-cheiroso, capim-cidrão, capim-cidreira, citronela-de-java e erva-cidreira possui em sua composição química itens essenciais para produção de óleo essencial sendo amplamente aplicado a indústrias farmacêuticas, perfumarias e controle fungicida (SILVA e BASTOS 2007). Segundo Brum (2012), óleos essencial de capim-limão (*C. Citratus*) (figura 03,) apresenta ação antifúngico sobre o desenvolvimento de fungos fitopatogênicos, onde o óleo extraído de suas folhas, cerca de 35,6% é constituído de mirceno, linalol (limoneno), geraniol (GUIMARÃES, 2007) e 65,4% do óleo é constituído de citral, mistura entre isômeros *cis* e *trans* (figura 04), onde demanda uma apreciável atividade contra fungos e bactérias (PARABOCZ, 2006). Independente de região de cultivo, o composto predominante (mistura dos aldeídos neral e geranial), tem dominância em geral (Figura 05) (GOMES, 2003). O citral, componente dominante no óleo de capim-limão (*C. Citratus*), é indicado como fundamental componente responsável pelas mais variadas atividades conferidas ao seu óleo essencial, tais como repelentes, aplicação da indústria farmacêutica, cosmética, fungicidas, entre outros (GUIMARÃES, 2007).

Figura 3 - Capim-limão *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. em arbusto (B), detalhe das folhas (A, C e E) e detalhe da inflorescência (D), (J. GilA, Jan DemmanB, Missouri Botanical GardenC, Tony RoodD, Layla DishmanE, <https://www.flickr.com> 2014).



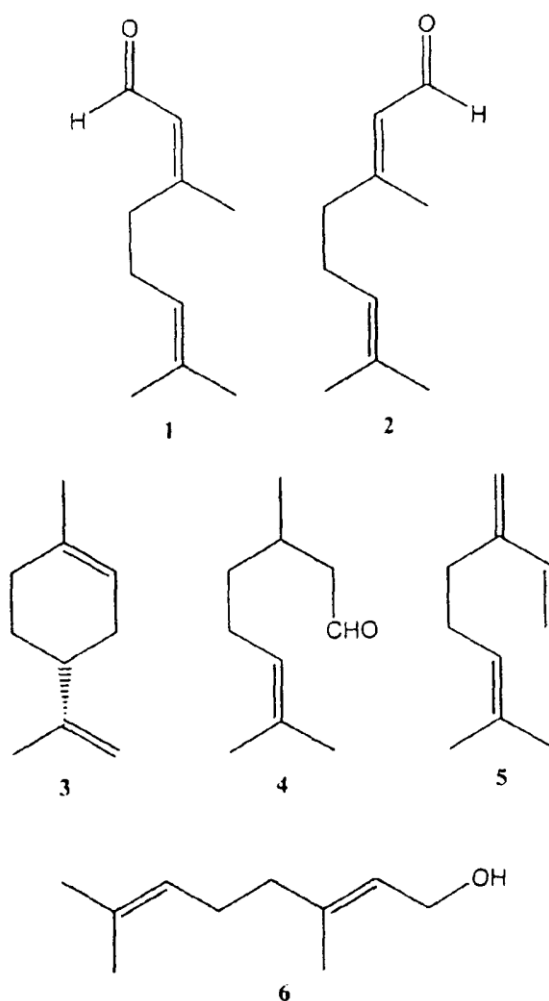
Fonte: RORIZ et al. 2014

Figura 4 – Estrutura química dos isômeros formadores de citral.



Fonte: Guimarães, (2007).

Figura 5 – estrutura dos compostos marcadores detectados no óleo essencial de capim-limão *C. Citratus*: (1) neral, (2) genanial, (3) Limoneno, (4) citronelal, (5) mirceno, (6) geraniol.



Fonte: Schanenberg e Khan, (2002).

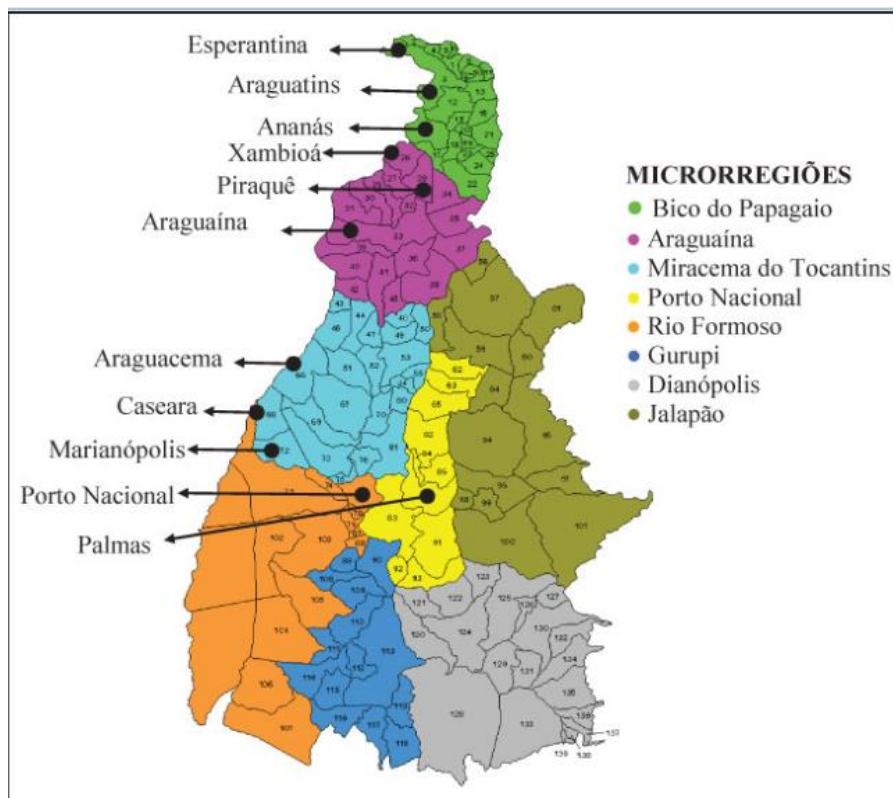
3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

O estudo foi conduzido no IFTO - Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Tocantins, Campus Araguatins, localizado à 7 km da cidade de Araguatins no extremo Norte do Tocantins, nas coordenadas 05°39'04" de latitude e 48°07'28" de longitude, a 621 km de Palmas, com uma população de 34.392 habitantes e área demográfica de 2.625,286 km² (IBGE, 2016).

O estado do Tocantins (figura 06), especificadamente a região Norte do Estado, a microrregião do Bico do Papagaio possui um clima tropical, com temperaturas médias de 26 °C em meses de chuva e 32 °C em estações secas (ACHE TUDO e REGIÃO, 2016). Embora esteja situado na região norte do país, o território encontra-se em zona de transição geográfica entre a floresta Amazônica e Cerrado, onde as atividades econômicas baseiam-se na produção agrícola, com proeminência na produção de milho, arroz, soja, mandioca e cana-de-açúcar.

Figura 06 - Mapa do Estado do Tocantins com as suas respectivas microrregiões.



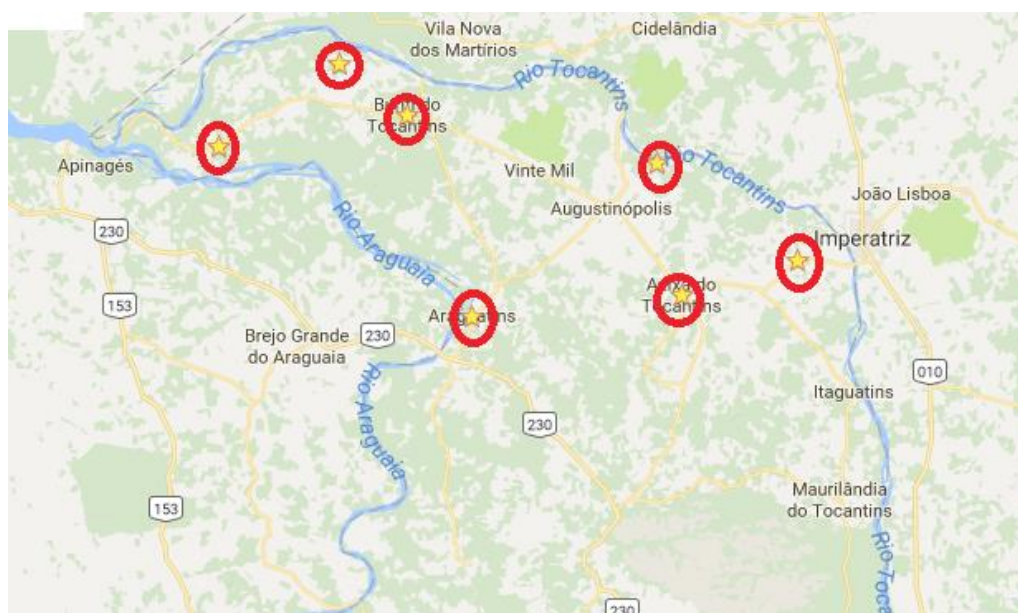
Fonte: Parise et al. (2011)

As análises foram realizadas no Laboratório de Biologia e Microbiologia, o plantio de sementes de milho e o teste de inoculação do fungo na planta foi realizado no viveiro do IFTO, no período compreendido entre os meses de maio de 2017 a fevereiro de 2018.

3.2 Experimentos Executados

Para a pesquisa foram utilizadas amostras de milho da variedade crioulo, adquiridas em feiras comerciais dos respectivos pontos escolhidos (Figura 07). A avaliação da eficiência do óleo essencial de capim-limão (*C. citratus*), foi executada em três etapas distintas: o teste de sanidade das sementes coletadas em alguns pontos do extremo norte do Tocantins, a patogenicidade dos fungos encontrados nas sementes do milho; o teste de controle de fungos nas sementes, utilizando concentrações de óleo essencial de capim-limão, na ordem de 0% (testemunha), 1%, 2%, 3%, 4%, 5% e a terceira etapa foi a avaliação dessas mesmas concentrações sob o crescimento micelial de *Fusarium* sp.

Figura 07 - Região do extremo norte do Estado do Tocantins, com destaque aos pontos de coleta.



Fonte: Google Maps, (2017)

3.3 Obtenção do óleo essencial

A parte vegetal utilizada na obtenção do óleo essencial (folhas de capim-limão – *C. citratus*) foi adquirido na horta do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins – IFTO, Campus Araguaia. A coleta das folhas foi realizada no dia 22 de janeiro de 2018 no período da manhã, em torno de 09h30min com temperatura amena e ausência de

chuva. A escolha da planta utilizada neste estudo foi baseada no seu alto potencial de controle fúngico, evidenciado em alguns estudos já publicados.

O processo de extração do óleo essencial de capim-limão foi realizado no laboratório de Química da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) – Imperatriz – MA. O método utilizado foi o de arraste a vapor, utilizando o aparelho Clevenger. As folhas de capim-limão foram desidratadas e trituradas para favorecer a extração do óleo essencial. Em seguida, o material vegetal foi posto no balão do equipamento e recoberto por água destilada. O processo de extração foi realizado em um período de 2h30min, mantendo a solução em ebulição. Posteriormente, o hidrolato centrifugado foi coletado com um bquer de 10 mL. O óleo foi retirado com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, adicionado em um frasco de vidro escuro com tampa de rosca e mantido sob refrigeração até o momento de uso.

3.4 Testes de sanidade com sementes de milho produzidos na região do extremo norte do Tocantins

O teste de sanidade determina o estado sanitário de uma amostra de sementes e, conseqüentemente, do lote que representa, obtendo-se dados referente ao seu valor genético e físico que podem ser utilizados para as mais diversas finalidades (BRASIL, 2009).

3.4.1 Método de Filtro (blotter test)

A qualidade sanitária das sementes foi avaliada através do teste de sanidade por meio do método “*Blotter Test*”. Para o ensaio foram utilizados 06 repetições de 250 sementes totalizando um número de 1.500 sementes amostrais. As sementes foram adquiridas em sete pontos (cidades), do extremo norte do Tocantins. Para o teste, as sementes foram dispostas de forma individual sobre duas camadas de papel-filtro previamente esterilizado e umedecido com água destilada, mantendo-as à 1-2 cm de distância uma da outra, no interior de uma caixa de “*Gerbox*” desinfetada com etanol a 70% e com hipoclorito a 1%. As caixas de gerbox contendo as sementes foram dispostas em uma câmara BOD de fotoperíodo a $23\pm3^{\circ}\text{C}$, com 12 horas de regime de luz, durante período de 07 dias conforme a metodologia proposta por Brasil (2009).

Após o período de 07 dias, as sementes foram submetidas a avaliação de forma individual utilizando um microscópio estereoscópio, verificado a incidência de fungos sobre os grãos e identificando os gêneros fúngicos visualmente com o auxílio de um microscópio estereoscópio. Para auxiliar na identificação, foi utilizada uma bibliografia especializada de

Barnett; Hunter (2010), manual de detecção e identificação de fungos, considerando-se a porcentagem de contaminação nas sementes por fungos.

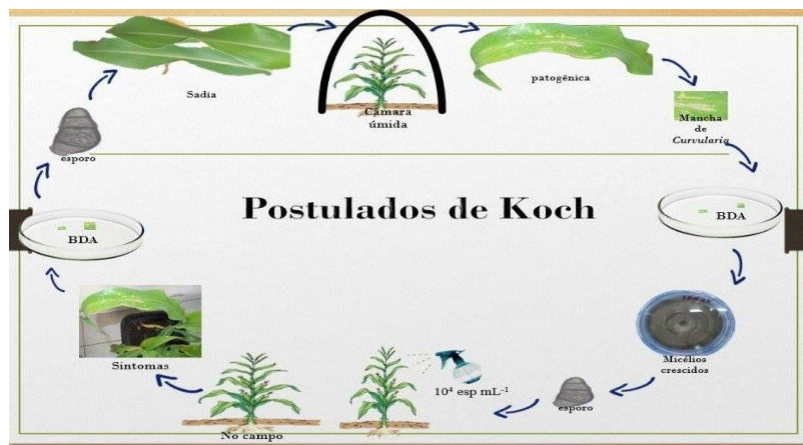
O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. A incidência fúngica apresentada foi expressa em porcentagem. Os dados foram submetidos ao programa Excel 10.0.

3.4.2 Patogenicidade de *Fusarium* sp. em plântulas de milho

Para o ensaio foi utilizado fungo *Fusarium* sp. isolado e inoculado em placas de Petri e mantido em laboratório. Para repicagem foram utilizados placas de 90x15 mm com meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar) acrescido de 500 mg L⁻¹ de antibiótico ampicilina para evitar contaminações por bactéria. Foram vertidos cerca de 20 mL de meio de cultura por placa de Petri. No centro foi inoculada a amostra fúngica. As placas foram vedadas com filme plástico e mantidas em BOD de fotoperíodo a 23±3°C, com 12 horas de regime de luz por um período de 15 dias. Após os 15 dias propostos, as placas foram retiradas da BOD de fotoperíodo e avaliadas em estereoscópio, e foram feitas lâminas para visualização dos esporos fúngicos.

Após o período de incubação (15 dias em câmara BOD, as placas foram retiradas da BOD de fotoperíodo, adicionado cerca de 10 mL de água destilada estéril, coletando os esporos e adicionado a um borrifador manual. A amostra foi levada ao viveiro e a solução de esporos fúngicos foi inoculada na planta jovem de 30 dias, utilizando um borrifador manual, baseando-se na técnica do postulado de Koch (figura 08).

Figura 8 - Postulado de Koch demonstrando o reisolamento do patógeno, cultivo e aplicação, utilizado para estabelecer a relação casual entre um microrganismo e uma doença.



Fonte: Google imagens, (2017).

O teste de postulado de Koch consiste no reisolamento do patógeno em meio de cultura pura de batata-dextrose-ágar (BDA) e incubada em condições de laboratório, seguida do cultivo dos mesmos em ágar-ágar, contendo esporos do fungo para permitir a esporulação e confirmar a presença do fungo inoculado.

3.5 Tratamento com óleo essencial de capim-limão (*C. citratus*), sobre a qualidade sanitária das sementes de milho (*Zea mays*)

Para o ensaio foram utilizadas sementes comerciais de milho da variedade crioula e óleo essencial de capim-limão (*C. citratus*) diluído em água destilada - Tween 80, em concentração de 0%, 1%, 2%, 3%, 4% e 5%. Preparadas as soluções, as sementes foram imediatamente submetidas a tratamento de imersão por um minuto e secas a sombra, em temperatura ambiente (27°C) por uma hora. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos T0 = Testemunha água destilada; (T1 = concentração de 1%), (T2 = concentração de 2%), (T3 = concentração de 3%), (T4 = concentração de 4%) (T5 = concentração de 5%) de óleo essencial de capim-limão, conduzidos em quatro repetições.

Para avaliar o efeito do óleo essencial no tratamento sobre as sementes utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e quatro repetições e submetidos à análise de variância, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A análise foi efetuada por meio do software AgroEstat versão 1.1.0.711 (BARBOSA; MALDONADO JR., 2015).

3.6 Controle do crescimento micelial de patógenos do milho utilizando concentração de óleo essencial de capim-limão (*C. citratus*), na ordem de 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%

No ensaio foi utilizado o fitopatógeno *Fusarium* sp. O fungo foi repicado a partir das sementes do teste de sanidade. Para o isolamento foram utilizadas placas de Petri com diâmetro de 90x15 mm com meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar), onde foi acrescentado cerca de 50 mg de ampicilina para evitar a contaminação por bactérias. Foram vertido cerca de 20mL de meio de cultura sobre a placa.

Para o ensaio foi utilizado óleo essencial de capim-limão (*C. citratus*) diluído em água destilada - Tween 80, em concentração de 0%, 1%, 2%, 3%, 4% e 5%, distribuídos na superfície do meio de cultura com uma alça tipo Drigalsky.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com quatro repetições, sendo constituído por quatro métodos de avaliação de fungitoxidade *in vitro* em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).

Após a aplicação dos tratamentos, foi inoculado no centro da placa um disco de 5 mm de diâmetro do micélio fúngico. As placas então foram vedadas com plástico filme, identificadas e levadas a BOD de fotoperíodo 12±12h em temperatura de 23 °C. As avaliações foram realizadas por medição do diâmetro micelial, utilizando-se paquímetro digital, a cada 48 horas, a partir da implantação do experimento até a realização das 5 avaliações (2, 4, 6, 8 e 10 dias de incubação).

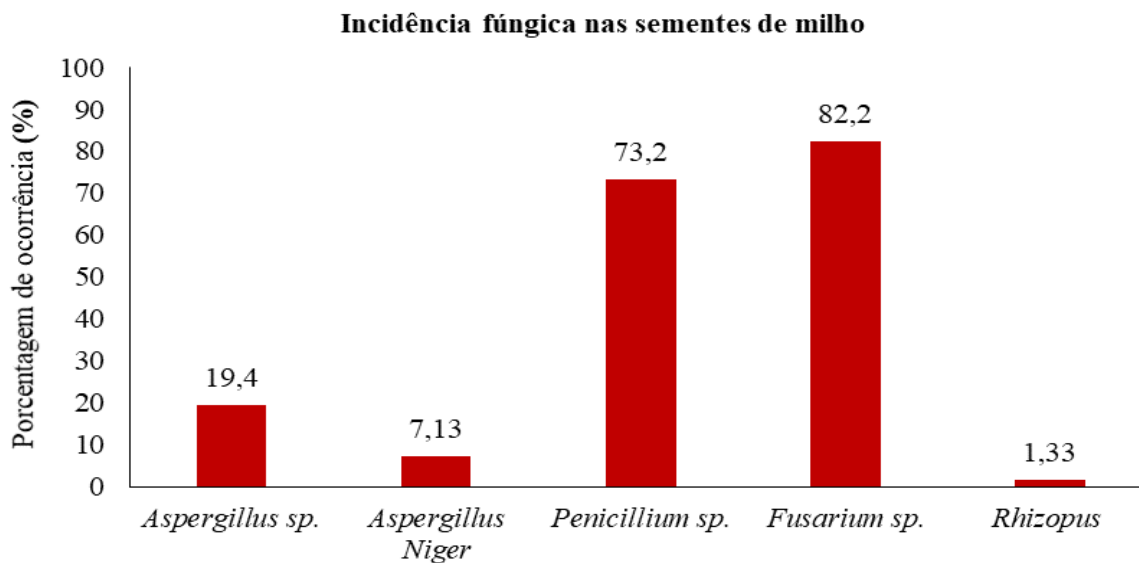
Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas por meio do sistema computacional AgroEstat versão 1.1.0.711 (BARBOSA; MALDONADO JR., 2015).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Testes de sanidade com sementes de milho produzidos na região do extremo norte do Tocantins

Os resultados expressaram alta incidência de *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp. apresentando diferença significativa entre as espécies encontradas (Gráfico 1). A porcentagem de propagação por *Rhizopus* sp. e *Aspergillus niger* foi baixa entre as repetições sendo que a soma de ambas conferiu 8,46% em seis repetições e *Aspergillus* sp. correspondeu a 19,4% de contaminação nas sementes. Segundo Lazzari (1997) os principais fatores que contribuem para o desenvolvimento de fungos quando armazenados para replantio estão as condições físicas e sanitária das sementes.

Figura 09 - Incidência de espécies fúngicas em sementes de milho do extremo norte do Tocantins



Entre as espécies fúngicas ocorrente, *Fusarium* sp. apresentou maior índice de contaminação, sendo esse o único patógeno encontrado nas sementes avaliadas. Catão (2007) em seu trabalho com qualidade sanitária de sementes de milho crioulo verificou alta incidência de *Fusarium* sp. nas repetições avaliadas, concluindo que as sementes de milho crioulo possuem baixa qualidade sanitária. Diniz (2002) destaca que contaminações fúngicas podem acarretar diversos problemas relacionados a saúde e a classe econômica incluindo a perda de produtos agrícolas e a morte de animais por contaminação.

Esses resultados podem ser considerados altos para *Fusarium* sp. e semelhante para *Penicillium* sp. quando comparados com o estudo desenvolvido por Antonello et al. (2009), que trabalhando com qualidade de sementes de milho crioulo verificou alta incidência de *Penicillium* sp. No entanto apresentou valores semelhantes aos observados por Catão (2007) que em seu trabalho observou maior incidência de *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp., com amostra de sementes da mesma variedade.

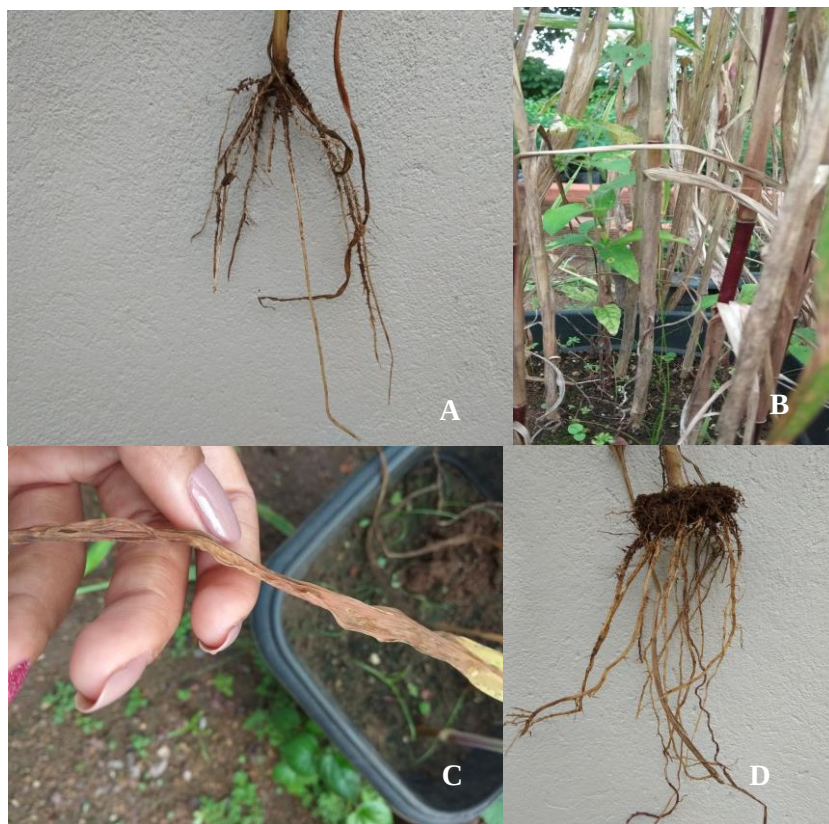
O baixo índice de *Rhizopus* sp. Entre tratamentos observadas durante o teste pode ser o um reflexo de que o solo onde o milho foi cultivado possuía baixa incidência de fungos filamentosos cosmopolitas, fungos capazes de desenvolver podridão nos grãos durante a armazenagem e comercialização. Esses dados podem ser comparados com o trabalho de Márcia (1998), que monitorando fungos na cultura milho verificou que o processamento do grão de em grits reduziu substancialmente as porcentagens de amostras com presença de *Rhizopus*. Em estudo, conduzido por Tanaka et al. (2001) conferiram a incidência do fungo *Penicillium* sp. nas sementes de milho ocorreu durante o período de armazenamento. Giehl et al. (2011) observou que entre as cultivares de milho avaliadas, a incidência de *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp. sugeriu uma possível competição entre os dois gêneros. Em trabalho com sementes de milho crioulo Noal et al. (2011) constatou maior quantidade de *Fusarium* sp., em relação a outras cultivares.

Segundo Almeida et al. (2000), testando grãos em três regiões do Estado de São Paulo, constataram que *Fusarium* sp. teve incidência superior à outras espécies fúngicas. *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. também foram encontrados, mas em quantidade inferior, sendo, possivelmente, apenas contaminações.

4. 2 Patogenicidade de *Fusarium* sp. em plântulas de milho

Para o teste de inoculação os sintomas foram reproduzidos e o patógeno reisolado comprovado a partir do Postulado de Koch. Os sintomas iniciaram, com aparecimento de podridão no colmo, podridão das raízes impossibilitando o transporte de nutrientes para as partes aéreas com seguida de murchas das folhas e a morte da planta como mostra (Figura 10).

Figura 10 - Sintomas de *Fusarium* sp. na cultura do milho. Podridão da raiz em primeiro estágio (A), podridão do colmo (B), murcha das folhas (B, e C) podridão total da raiz (D).



A murcha da parte aérea já foi descrita por Alvidrez-Villareal et al. (2012) em seus estudos com isolamento de fungos a partir de uma praga (*Euplatypus segnis*), onde os fungos *Fusarium saloni* e *F. oxysporum* foram identificados como fitopatógeno para a espécie provocando a murcha dos ramos. Lazaratto (2013) detectou a presença de *Fusarium* sp. isolado em flores e raízes de nogueira-pecan. Observaram a incidência de *Fusarium* sp. em raízes e murcha ou anelamento do colo.

Conforme Querales (2010), avaliando a caracterização morfológica e genética de *Fusarium* sp. isolados de sementes e associados à podridão do colmo de milho, observou que todos os isolados de *Fusarium* sp. causaram podridão do colmo em três híbridos comerciais de milho e não variaram em agressividade, independentemente do nível de resistência.

Fantin et al. (1994) em estudos realizados com o uso de fungicidas para controle na cultura do milho, realizaram a conclusão do postulado de Koch, no Brasil, reproduzindo sintomas similares aos descritos no trabalho de Rane et al. (1990). Paccola-Meirelles et al. (2001), analisando lesões jovens, isolaram e identificaram o patógeno, que reproduziu sintomas da doença, sendo inoculada em planta de milho em casa de vegetação seguindo o postulado de Koch.

4.3 Tratamento com óleo essencial de capim-limão (*C. citratus*), sobre a qualidade sanitária das sementes de milho (*Zea mays*)

Os resultados da análise mostraram que os tratamentos 4% e 5% com óleo essencial de capim-limão foram eficientes no controle dos fungos, e apresentaram diferença significativa em relação ao tratamento de 1%, e a testemunha. Já as concentrações de 2 e 3% não diferiram estatisticamente das duas primeiras nem das duas últimas (Tabela 1)

Tabela 1. Porcentagem média de incidência de fungos em amostras de sementes de milho submetidas a diferentes concentrações de óleo essencial de capim-limão (*C. citratus*). Araguatins, 2017/2018.

Doses (%)	Média ($\pm$ erro padrão)
Testemunha	17,625 $\pm$ 3,19 a
1%	19,125 $\pm$ 3,89 a
2%	12,125 $\pm$ 3,91ab
3%	7,125 $\pm$ 5,29ab
4%	1,000 $\pm$ 0,00b
5%	0,000 $\pm$ 0,00b
F	6,88**
CV	37,42

Médias ($\pm$ erro padrão) seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si.

De acordo com Souza et al. (2007), utilizando capim-limão (*C. citratus*) e extrato de alho (*Allium sativum* L.), observaram efeito inibitório no crescimento e germinação de conídios de *Fusarium proliferatum*, a partir das concentrações de 0,5%. Domene (2016) avaliando óleos essenciais das folhas *C. citriodora* e *E. camaldulensi* observou que óleos essenciais, quando utilizados isoladamente conseguem reduzir a incidência fúngica dos gêneros *Penicillium* e *Fusarium*. Com isso, observa-se o potencial do óleo essencial de capim-limão no possível controle dos patógenos na cultura, permitindo novos estudos com diferentes concentrações.

Na tabela 2 verificou-se que não houve diferença significativa, concluindo que para ambas as condições o óleo essencial de capim-limão (*C. citratus*) não obteve influência nos resultados avaliados. A proporção de sementes germinadas foram similar ao número de sementes que apresentaram incidência fúngica. Silva (2009), avaliando óleo essencial para o controle de *Colletotrichum truncatum* na cultura as soja, observou dados diferentes no qual, óleos essencial de capim-limão mesmo em alta concentração não influenciaram na fisiologia

das sementes, pois todas germinaram. Verificou também que óleo essencial de capim-limão inibiu totalmente o crescimento micelial dos fungos em estudo.

Tabela 2. Incidência de fungos e porcentagem de germinação em amostras de sementes de milho submetidas a diferentes tratamento. Araguatins 2017/2018.

Tratamento	Média ($\pm$ erro padrão)
Incidência Fúngica	10,33 $\pm$ 5,48 a
Germinação	8,66 $\pm$ 2,94 a
F	2,64 ns
CV	37,42

Médias ($\pm$ erro padrão) seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si.

A metodologia utilizada em um estudo deve estar de acordo com os objetivos do trabalho. A comparação entre os resultados, independente da metodologia utilizada é importante para o desenvolvimento de controles alternativo no controle de patógenos a partir de óleos essenciais de plantas medicinais (BRUM, 2012).

4.4 Controle do crescimento micelial de patógenos do milho utilizando concentração de óleo essencial de capim-limão (*C. citratus*), na ordem de 0%, 1%, 2%, 3%, 4% e 5%

De acordo com os resultados expressos (Tabela 3), em todos os tratamentos foram obtidos valores de crescimento micelial menores que na testemunha até na 5 avaliação (10 dias de incubação). De todos os tratamentos avaliados o uso do óleo essencial de capim-limão diluído a 2%, 3%, 4% e 5% apresentou maior controle no crescimento micelial do fitopatógeno avaliado. No tratamento em que o óleo essencial foi diluído em 1%, o fungo apresentou crescimento micelial a partir da segunda avaliação (72h) diferindo estatisticamente dos outros tratamentos avaliados (Figura 11) e também da testemunha. Ramos (2014) analisando a atividade antifúngica do óleo essencial do capim-citronela na cultura do abacaxi, destacou que o crescimento micelial do fungo *Fusarium* sp., responsável por afetar esta cultura foi inibido totalmente. Seixas et al. (2011), notaram a eficácia do tratamento fúngico com capim-citronela e citronelal, sobre o fungo *Fusarium* sp., no qual concentrações de 15, 20 e 25 μ L do óleo essencial inibiu em 100% o crescimento micelial.

Tabela 3. Diâmetro médio micelial (mm) de *Fusarium* sp. submetido a diferentes concentrações de óleo essencial de capim limão (*C. citratus*), *in vitro* (Testemunha; T1, T2, T3, T4 e T5 = óleo diluído a 1%, 2% 3%, 4% e 5% respectivamente) em cinco épocas de avaliação (2, 4, 6, 8, 10 dias de incubação).

Tratamentos	Épocas de avaliação (dias de incubação) ¹				
	2	4	6	8	10
Testemunhas	16,38a	34,38a	52,88a	81,75a	90,00a
T1	1,75b	3,75b	23,63b	41,13b	62,18b
T2 ²	2,00b	2,00b	2,00c	2,00c	2,00c
T3 ²	1,88b	1,88c	1,88c	1,88c	1,88c
T4 ²	1,75b	1,75c	1,75c	1,75c	1,75c
T5 ²	1,75b	1,75c	1,75c	1,75c	1,75c
F	2258,80**	3017,20**	162,46**	310,20**	171,23**
CV	5,88	6,31	23,52	17,44	22,58

¹Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ² Tratamentos que inibiram totalmente o crescimento micelial do fungo.

Considerando que o óleo essencial de capim-limão (*C. citratus*) inibiu totalmente o crescimento micelial do fitopatógeno *Fusarium* sp. nas concentrações de 2%, 3%, 4% e 5%, conclui-se que esses óleos essenciais são ferramentas em potencial para o controle alternativo do gênero fúngico estudado.

Em estudo com *Colletotrichum gloeosporioides* Cernelossi et al. (2009), observou que o óleo essencial de capim-limão inibiu totalmente o desenvolvimento do patógeno em estudo. Rozwalka et al. (2008c), observaram atividade antifúngica sobre o desenvolvimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* utilizando óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*). Souza-Filho, Sales e Martins (2009), relataram que o tratamento com óleo essencial de capim-limão inibiu totalmente a germinação de esporos fúngicos no seu estudo com fitopatógeno. Guimarães et al. (2011), observaram uma alta fungitoxidade do óleo essencial de capim-limão sobre os 37 fungos, entre eles *Fusarium* sp.

Trabalhos desenvolvidos tem demonstrado a fungitoxidade de óleos essenciais de plantas medicinais sobre fungo *Fusarium* sp., e independente das formas aplicada, os dados obtidos mostram que a utilização desses compostos são favoráveis quanto ao controle biológico de patógenos.

Óleos essenciais extraídos de plantas medicinais, são fontes potenciais de compostos antimicrobianos. No entanto, é difícil contrapor resultados obtidos em diferentes pesquisas, pois a composição e a quantidade dos óleos podem variar, dependendo da região geográfica, variedade, idade da planta, método de secagem e método de extração do óleo (Al-REZA et al., 2010).

É importante destacar que para estudos que visam o teste *in vitro*, a metodologia a ser utilizada deve propor de uma aplicabilidade mais viável a cultura em estudo.

5 CONCLUSÃO

As cultivares de milho crioulo avaliados apresentaram incidência de espécies fúngicas, sendo que as porcentagens de contaminação por *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp. foram altas indicando possíveis condições inadequadas para replantio. *Fusarium* sp. mostrou-se patogênico às plântulas de milho.

Nas sementes submetidas a diferentes concentrações de óleo essencial de capim-limão (*C. Citratus*) houve redução de espécies fúngicas à partir da concentração de 2%.

O crescimento micelial do fungo *Fusarium* sp. foi totalmente inibido nas concentrações de 2%, 3%, 4% e 5%, inferindo que óleo de capim-limão (*C. Citratus*) possui ação antifúngica.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente agricultores tem procurado tratamentos menos agressivos para com a saúde e o meio ambiente. Diversas pesquisas têm sido desenvolvidas pela necessidade de alternativas de controle, desenvolvida por fungicidas sintéticos. No entanto, óleos essenciais têm tido destaque no centros de pesquisas, sendo estudados como um método alternativo no controle de doenças, por apresentar compostos químicos responsáveis pelo efeito alelopático sobre plantas e microrganismos.

A partir dos experimentos realizados neste trabalho, observou-se que o óleo essencial de capim-limão na concentração de 2% é o mais indicado para o controle de *Fusarium* sp. em sementes, pois não afetou a qualidade fisiológica e permitiu o controle do patógeno. Óleo essencial de capim-limão (*C. citratus*) nas concentrações de 2%, 3%, 4%, e 5% testadas inibiram o crescimento micelial e germinação de esporos do patógeno.

Resultados como este confirmam os dados presentes na literatura sobre a ação antifúngica da espécie da planta medicinal estudada e reforçam a necessidade de novos estudos na busca por fungicidas naturais cujos efeitos para o meio ambiente são bem menos severos que os ocasionados por fungicidas sintéticos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. P.; CORRÊA, B.; MALLOZZI, M. A. B.; SAWAZAKI, E.; VALENTE SOARES, L. M. Mycoflora and aflatoxin/fumonisin production by fungal isolates from freshly harvested corn hybrids. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, n.4, p.321-326, 2000.
- ANDRADE, W. P.; VIEIRA, G. H. C. Efeito dos óleos essenciais sobre a antracnose in vitro e em frutos de mamoeiro. **Revista Bras. PI Med**, v. 18, n.1, p. 367-372, 2016.
- ANTONELLO, L. M. et al. Qualidade de sementes de milho armazenadas em diferentes embalagens. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 39, n. 7, p. 2191-2194, 2009.
- AL-REZA, S. M.; RAHMAN, A.; AHMED, Y.; KANG, S. C. Inhibition of plant pathogens in vitro and in vivo with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 96, p. 86-92, 2010.
- ACHE TUDO E REGIÃO. **Geografia de Tocantins**. 2016. Disponível em: http://www.achetudoeregiao.com.br/to/localizacao_tocantins.htm. Acesso em 10 mai. 2017.
- ALVIDREZ-VILLARREAL R, HERNÁNDEZ-CASTILLO F. D, GARCIA MARTÍNEZ O. X, MENDOZA-VILLARREAL R, RODRÍGUEZ-HERRERA R, CRISTÓBAL N. A Isolation and pathogenicity of fungi associated to ambrosia borer (*Euplatypus segnis*) found injuring pecan (*Carya illinoensis*) wood. **Agricultural Sci.**, 3(3): 405-416 (2012).
- BARBOSA, J. C.; MALDONADO JÚNIOR, W. AgroEstat - Sistema para Análises Estatísticas de Ensaios Agronômicos. Versão 1.1.0.711. Jaboticabal: Unesp, 2015.
- BARROS, J. F. C.; CALADO, J. G.; A cultura do milho. Texto de apoio para as Unidades Curriculares de sistemas e tecnologia agropecuários Universidade de Évora, Évora, n. 1, 2014. 52 p.
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. St Paul, Minnesota: APS Press, 2010. 218p.
- BIZZO, H. R.; HVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.
- BOMBARDI, L.M.. **Intoxicação e morte por agrotóxicos no Brasil: a nova versão do capitalismo oligopolizado**. In: Boletim Dataluta. NERA – Núcleo de Estudos, Pesquisas e Projetos de Reforma Agrária. Presidente Prudente, Setembro de 2011, p. 1 – 21.
- BORTOLETTO, A. M; ALCARDE, A. R. Dominantes nos EUA, etanol de milho é opção, no Brasil, para safra excedente. **Revista Visão Agrícola**, Piracicaba, SP, n. 13, p. 135-137, 2015.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretária de defesa Agropecuária. **Manual de análise de sementes**. Brasília, 2009. 200p.

BRUM, R. B. C. S. **Efeito de óleos essenciais no controle de fungos fitopatogênicos**. 2012. 135 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal)- Universidade Federal do Tocantins, 2012.

CARDOSO, M. G.; GAVILANES, M L.; MARQUES, M. C. S.; SHAN, A. Y. K. V.; SANTOS, B. R.; OLIVEIRA, A. C. B.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, A. L S. **Óleos essenciais**. Lavras: UFLA/PROEX, 2000. 42 p. (Boletim de Extensão, 73).

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

CARRER, H.; BARBOSA, A. L.; RAMIRO, D. A. Biotecnologia na agricultura. **Estudos Avançados**, v. 24, n. 70, p. 149-164, 2010.

CARVALHO, J. B.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; BONALDO, S. M.; CRUZ, M. E. S.; CARLOS, M. M.; STANGARLIN, J. R. Fungitoxicidade de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon martinii* a *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de pimentão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 10, n. 1, p. 88-93, 2008.

CASSEL, E.; VARGAS, R.M.F. **Experiments and modeling of the Cymbopogon winterianus essential oil extraction by steam distillation**. Journal of the Mexican Chemical Society, 50, 126–129, 2006.

CATÃO, H.C.R.M., VALADARES, S. V., MAGALHÃES, H. M., COSTA, F. M. SALES, N. L. P., BRANDÃO, JUNIOR, D. S. Qualidade sanitária de sementes de milho crioulo (*Zea mays* L.) produzidas no município de Porteirinha-MG. **Revista Brasileira de Agroecologia**, [S.l.], v. 2, n. 2, sep. 2007. ISSN 1980-9735. Disponível em: <<http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/rbagroecologia/article/view/7199>>. Acesso em: 16 fev. 2018.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. V. 1, N. 1. Brasília: Conab, 2017. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. acesso em 02 de maio de 2017.

COTA, R. V.; COSTA, L. V. **Controle químico de doenças na cultura do milho: aspectos a serem considerados na tomada de decisão sobre aplicação**. Embrapa. Sete Lagoas, MG, v.125, n. 1, p 11, 2009.

COTA, R. V.; CASELA, C. R. COTA, L. V.; Cultivo do Milho. Cultivo do milho: doenças. **Sete Lagoas**, v. 13, p. 240 – 247, 2012.

COSTA, L. V.; COSTA, R. V.; SILVA, D. D. Manejo de doenças na lavoura: A incidência dos patógenos está relacionada à evolução dos sistemas de produção no Brasil A cada safra, surgem novos problemas. **Agro DBO Tecnologia, Produção & Mercado**, São Paulo, SP, v. 9, n. 39, p.40-43,2012

CHAGAS, J. F. R.; SANTOS, G. R.; COSTA, R. V.; COSTA, L. V.; SILVA, D. D.; SIMOM, J.; MOURÃO, D. S. C.; **Principais Doenças Foliares da Cultura do Milho no Estado do Tocantins**. Embrapa. Sete Lagos, MG, v.213, n. 1, p. 13, 2015.

CRUZ, F. V.; MORAIS, M. R.; ALMEIDA, A.; **Produção e comercialização de milho no Tocantins: aspectos estruturais e econômicos**. In: Congresso Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociedade, Rural. 47., 2009, Porto Alegre. Simpósio de pesquisa dos cafés do Brasil, 1., 2000, Poços de Caldas. Apresentação oral... RS : p. 19. 2009.

CRUZ, J. C.; MONTEIRO, J. A.; SANTANA, D. P.; GARCIA, J. C.; BAHIA, F. G. F. T. C.; SANS, L. M. A.; PEREIRA-FILHO, I. A. **Recomendações técnicas para o cultivo do milho**. – 2 ed. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1996.

DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA DOS EUA (USDA). **Prospective plantings**. Disponível em: Acesso em: 30 agos. 2017

DINIZ, S.P.S.S. **Micotoxinas**. 1ª ed, Livraria e Editora Rural, Campinas, 2002. 181 p.

DOMENE, M. P., GLÓRIA, E. M., BIAGI, J. D., BENEDETTI, B.C., MARTINS, L. **Efeito do tratamento com óleos essenciais sobre a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de milho (*Zea mays*)**. Arq. Inst. Biol. v.83 - São Paulo, 2016 .

FANTIN, G. M. Mancha de *Phaeosphaeria*, doença do milho o que vem aumentando sua importância. **O Biólogo**, São Paulo, v.56, n. ½, p. 39, jan./dez. 1994.

FAGERIA, N.K. **Otimização da eficiência nutricional na produção das culturas**. R. Bras. Eng. Agríc. Amb., 2:6-16, 1998.

GOMES, E. C. Capim-limão - *Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf: subsídios para melhoria de qualidade do cultivo, industrialização e comercialização no Estado do Paraná/ Eliane Carneiro. 2003. 184 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná, 2003.

GOMES, M. S.; **Atividades biológicas dos óleos essenciais de três espécies do gênero *citrus* e de seus componentes majoritários**. 2014. 126 f. Tese (Pós-graduação em Agroquímica)- Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2014.

GOMES, M. S. **Caracterização química e atividade antifúngica dos óleos essenciais de cinco espécies do gênero *citrus***. 2011. 99 f. Dissertação (Mestrado em agroquímica e agrobioquímica) – Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2011.

GOOGLE MAPS. **Região do extremo norte do Estado do Tocantins, com destaque aos pontos de coleta**. 2017.

GOOGLE IMAGENS. **Postulado de Koch demonstrando o reisolamento do patógeno, cultivo e aplicação, utilizado para estabelecer a relação casual entre um microrganismo e uma doença**. 2017.

GUIMARÃES, L. G.L. **Estudo da estabilidade e do efeito fungitóxico do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf).** 2007. 88 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobiotecnologia), Universidade Federal de Lavras. Minas Gerais, 2007.

GUIMARÃES, L. G. L.; CARDOSO, M. G.; SOUSA, P. E.; ANDRADE, J.; VIEIRA, S. S. Atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 464-472, 2011.

GIEHL, J. et al. Avaliação da relação entre empalhamento da espiga e incidência de fungos em cultivares de milho crioulo. *Cadernos de Agroecologia*, v.6, n.2, dez 2011.

IAPAR. Instituto Agrônomo do Paraná. **Cartas climáticas do Paraná.** Disponível em: Acesso em 22 fev. 2018.

IBGE BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Contagem Populacional.** 2016. Disponível em: <<http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun>>. Acesso em: ago. 2017.

JAKIEMIU, E. A. R. **Uma contribuição ao estudo do óleo essencial e do extrato de tomilho (*Thymus vulgaris* L.).** 2008. 90 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

KIMATI, H; AMORIM, L.; BERGAMIN F., A.; CAMARGO, J. F. A. C.; REZENDE, J. A. M. - Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas. 3a Ed. v. 2, Editora Agronômica Ceres Ltda. São Paulo SP, 1997.

LAZZARI, F.A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações.** 2.ed. Curitiba: Ed. do Autor, 1997. 134 p

LAZAROTTO, M. **Identificação e Caracterização de *Fusarium* spp. e *Pestalotiopsis* spp. Associados a *Carya illinoensis* no Rio Grande Sul.** Tese de doutorado. Universidade Federal de Santa Maria., Santa Maria. 2013.

LEAL, P da C.; CANTANHEDE, K de L.; SILVA, L.M.; BEZERRA, G.F de B.; VIANA, G.M de C.; NASCIMENTO, M do D. S. B. Micotoxinas do *Fusarium* e seu Potencial Carcinogênico. **NewsLab** - edição 70 – 2005.

LERAYER, A. **Guia do milho: tecnologia do campo à mesa.** CIB, p. 1-6, julho, 2006. Disponível em: <http://www.cib.org.br>. Acesso em 02 de maio de 2017

MAIA, T. F.; DONATO A.; FRAGA, M. E.; Atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais.** Campina Grande, PB, v.17, n.1, p.105-116, 2015.

MÁRCIA, B. A., LAZZARI, F. A., Monitoramento de fungos em milho em grão, grits e fubá. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.18, n. 4, p. 363-367, 1998.

MENDONÇA, J. F; LEAL- JUNIOR, I. C. **Comparação dos custos de produção e transportes de etanol entre Brasil e Estados Unidos.** In: Simpósio de excelência em gestão e tecnologia, 7, **Anais...** Resende, RJ, p. 12, 2010.

MILANEZ, A. Y; NYKO, D; VALENTE, M. S; XAVIER, C. E. O; KULAY, L. A; DONKE, C. G; MATSUURA, M. L. S. F; RAMOS, N. P; MORANDI, M. A. B; BONOMI, A. CAPITANI, D. H. D; CHAGAS, M. F; CAVALETT, O. GOUVÊIA, V. L. R. A produção de etanol pela integração do milho-safrinha às usinas de cana-de açúcar: avaliação ambiental, econômica e sugestões de políticas. **Revista do BNDES**, São Paulo, SP, n. 41. P. 147-208, 2014.

NOAL, G. et al. **Incidência de fungos em sementes de cultivares de milho crioulo armazenadas em condições de ambiente não controlado**. In: XXVI Jornada ACADÊMICA INTEGRADA DA UFSM, 2011, Santa Maria - RS. ANAIS XXVI JORNADA ACADÊMICA INTEGRADA, 2011.

NASCIMENTO, L.C.; NERY, A.P.; RODRIGUES, L.N. Controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamoeiro, utilizando em mamoeiro, utilizando extratos vegetais, indutores de resistência e fungicida. **Acta Scientia Agronomica**. Maringá, v. 30, n. 3, p. 313-319. 2008.

PACCOLA-MEIRELLES, L. D.; FERREIRA, A. S.; MEIRELLES, W. F.; MARRIEL, I. E.; CASELA, C. R. Detction of bacterium associated with a leaf spot disease of maize in Brazil. **Journal of Phytopatology**, Berlin, v. 149, n. 5, p. 275-279, May 2001.

PARABOCZ, G. C. **Capim-limão (*Cymbopogon citratus*)**. Ponta grossa, PR, p.8, 2006.

PARISE, E. V.; ARAÚJO, G. C.; PINHEIRO, R. T. Análise espacial e determinação de áreas prioritárias para o controle da malária no estado do Tocantins, 2003-2008. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.44, n.1, p. 63-69, 2011.

PINTO, N. F. J. A. Eficiência de doses e intervalos de aplicação de fungicidas no controle da mancha foliar do milho provocada por *Phaeosphaeria maydis*. Rane, Payak & Renfro. **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 4, p.1006-1009, out. 2003.

PINTO, N. J. A.; SANTOS, M. A. dos; WRUCK, D. S. M. Principais doenças da cultura do milho. **Informe Agropecuário**, v. 27, n. 233, p. 82-94, 2006.

PUZZI, Domingos. **Abastecimento e armazenagem de grãos**. Campinas, SP: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1997.

QUERALES P. J. **Caracterização Morfológica e Genética de *Fusarium* spp. Isolados de Sementes e Associados à Podridão do Colmo do Milho (*Zea mays* L.)**. Ph.D. Thesis, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 77 pp. 2010.

REIS, E. M.; ZOLDAN, S. M.; GERMANO, B. C.; **Mecanismos de transmissão de fitopatógenos de sementes para órgãos aéreos**. Passo Fundo, RS. 2015. Disponível em: <[http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:0YYUXYBJI8J:www.orsementes.com.br/sistema/anexos/artigos/50/Transmiss%25C3%25A3o%2520de%2520fitopat%25C3%25B3genos%2520\(Silmar\).pdf+&cd=1&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br](http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:0YYUXYBJI8J:www.orsementes.com.br/sistema/anexos/artigos/50/Transmiss%25C3%25A3o%2520de%2520fitopat%25C3%25B3genos%2520(Silmar).pdf+&cd=1&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br)> . Acesso em 08 de Dezembro de 2016.

RORIZ, C. L.; BARROS, L.; CARVALHO, A. M.; SANTOS-BUELGA, C.; FERREIRA, I. C. F. R. *Pterospartum tridentatum*, *Gomphrena globosa* and *Cymbopogon citratus*: A

phytochemical study focused on antioxidant compounds. **Food Research International**, 62 (2014) 684–693.

ROZWALKA, L. C.; LIMA, M. L. R. Z. C.; MIO, L. L. M. de; NAKASHIMA, T. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n.2, p. 301-307, 2008.

SCHANEBERG, B.T., & KHAN, I.A. **Comparison of extraction methods for marker compounds in the essential oil of lemon grass By GC**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 1345– 1349, 2002.

SEIXAS, P.T.L.; CASTRO, H.C.; SANTOS, G.R. et al. Controle fitopatológico do *Fusarium subglutinans* pelo óleo essencial do capim-citronela (*Cymbopogon nardus* L.) e do composto citronelal. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 13, p. 523-526, 2011.

SEVERINO, F. J.; CARVALHO, S. J. P.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; **Interferências mútuas entre a cultura do milho, espécies Forrageiras e plantas daninhas em um sistema de consórcio. I – implicações sobre a cultura do milho (*zea ma*)**. Planta Daninha, Viçosa, MG, v. 23, n. 4, p. 589-596, 2005.

SILVA, D. M. M. H.; BASTOS, C. N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 143-145, 2007.

SILVA, A. C. Óleos essenciais pra o controle de “*Colletotrichum truncatum*” e ferrugem asiática em soja. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.
SINAI, A. C.; SAMPAIO, A. L. F.; SOUSA, M. C.; HENRIQUES, M. D. M. O.; RAMOS, M. F. S.; Óleos essenciais anti – inflamatório. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 3, nº 16, p. 39 – 43, 2000.

SIQUEIRA, C. S. **Trasmisão e desempenho de sementes de milho portadoras do complexo *Stenocarpella* sob condições controladas**. 2013. 131 f. Tese (Pós-graduação em Agronomia) – Universidade Federal de lavras, Minas Gerais, 2013.

SOARES, W. L.; **Uso dos agrotóxicos e seus impactos à saúde e ao ambiente: uma avaliação integrada entre a economia, a saúde pública, a ecologia e a agricultura**. 2010. 163 f. Tese (Doutorado em Ciências)- Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca. Rio de Janeiro, 2010.

SOARES, R. P.; **Atividade biológica dos óleos essenciais de gengibre, açafrão e louro sobre o fungo *Aspergillus carbonarius***. 2009. 79 f. Dissertação (Pós-graduação *Strictu Sensu* em Agroquímica) Universidade Federal de Lavras, 2009.

SOUZA, A.E.F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L. C. Atividade antifúngica de extrato de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n.6, p. 465-471, nov. dez. 2007.

SOUSA FILHO, I.T.; SALES, N.P.; MARTINS, E.R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Revista Biotemas**, Pelotas, p. 77-83, set. 2009.

TANAKA, M.A.S. et al. Microflora fúngica de sementes de milho em ambientes de armazenamento. **Scientia Agricola**, v.58, n.3, Piracicaba, Jul/Set. 2001.

TINOCO, M.L.P. Silenciamento trans-específico in vivo de fumo e o fungo fitopatogênico *Fusarium verticillioides*. **Tese doutorado em biologia molecular**-Universidade de Brasília, 2010.

TRANCOSO, M. D. Projeto Óleos Essenciais: extração, importância e aplicações no cotidiano. **Revista. Praxis**, v. 5, n. 9, 2013. Disponível em: <http://revistas.unifoa.edu.br/index.php/praxis/article/view/609>. Acesso em: 03 de Janeiro de 2017.