



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS – UFAL
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CECA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PROTEÇÃO DE PLANTAS



MARIA JUSSARA DOS SANTOS DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE ALTERNATIVO DE ESPÉCIES DE
FUSARIUM ASSOCIADAS AO *DAMPING-OFF* NO COENTRO

Rio Largo – AL
2023

MARIA JUSSARA DOS SANTOS DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE ALTERNATIVO DE ESPÉCIES DE
FUSARIUM ASSOCIADAS AO *DAMPING-OFF* NO COENTRO

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas do *Campus* de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Proteção de Plantas.

Orientador: Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade
Lima

Coorientadora: Profa. Dra. Jaqueline Figueredo de
Oliveira Costa

Rio Largo - AL
2023

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias
Bibliotecário Responsável: Erisson Rodrigues de Santana - CRB4 - 1512

S586c Silva, Maria Jussara dos Santos da.

Caracterização e controle alternativo de espécies de *fusarium* associadas ao *damping-off* no coentro. / Maria Jussara dos Santos da Silva. – 2023.

93f.: il.

Orientador: Gaus Silvestre de Andrade Lima.

Coorientador(a): Jaqueline Figueredo de Oliveira Costa.

Tese (Doutorado em Proteção de plantas) – Programa de Pós -Graduação em Proteção de plantas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2023.

Inclui bibliografia

1. *Coriandrum sativum*. 2. *Damping-off*. 3. Fungicida natural.
I. Título.

CDU: 582.28

MARIA JUSSARA DOS SANTOS DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE ALTERNATIVO DE ESPÉCIES DE *Fusarium*
ASSOCIADAS AO DAMPING-OFF NO COENTRO

Tese submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do título de doutora em Proteção de Plantas.

Aprovado em: 17/02/2023

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima – Universidade Federal de Alagoas
(Orientador)

Documento assinado digitalmente
 SARAH JACQUELINE CAVALCANTI DA SILVA
Data: 11/05/2023 21:12:48-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Sarah Jacqueline Cavalcanti da Silva – Universidade Federal de Alagoas

Documento assinado digitalmente
 EDNA PEIXOTO DA ROCHA AMORIM
Data: 11/05/2023 12:00:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Edna Peixoto da Rocha Amorim – Universidade Federal de Alagoas

Documento assinado digitalmente
 WELLINGTON COSTA DA SILVA
Data: 11/05/2023 20:58:37-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Wellington Costa Silva – Instituto Federal de Pernambuco

*“É justo que muito custe o
que muito vale”.*

Santa Teresa D'Ávila

RESUMO GERAL

A incidência do tombamento de plântulas de coentro limita a produção dessa hortaliça no nordeste do Brasil, devido a redução do estande. Ainda não se tem estudos concretos sobre a causa específica da doença na cultura. No entanto, conhecer o agente etiológico é primordial para o desenvolvimento de métodos de controle. Diante disso, o trabalho teve como objetivo identificar e caracterizar agentes fitopatogênicos associados ao tombamento de plântulas de coentro nos estados de Alagoas, Pernambuco e Ceará, e avaliar a sua sensibilidade a óleos essenciais de cravo, canela, citronela e melaleuca. Foram coletados solos em diferentes áreas produtoras de coentro, levados ao laboratório onde foram distribuídas em 300 vasos com capacidade de 250mL e identificadas de acordo com o município de coleta. Para obtenção dos isolados foram semeadas seis sementes de coentro da cultivar Verdão (Isla sementes LTDA), em cada vaso. A germinação das sementes ocorreu aos sete dias após o plantio e, aos 10 dias após a germinação as plântulas apresentaram sintomas de murcha seguido de tombamento realizando, assim, o isolamento indireto dos patógenos. Foi realizada análises morfo culturais e moleculares com primers específicos para os genes RNA polimerase subunidade II (RPB2) e fator de alongamento (TEF-1 α). No teste para avaliar a sensibilidade das espécies *F. fabacearum* e *F. falciforme*, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado (4 óleos essenciais x 5 concentrações), com cinco repetições, sendo a unidade experimental constituída por uma placa de Petri. Os tratamentos foram gerados pela combinação das concentrações (0; 12,2; 25; 50; 100 e 200 $\mu\text{L mL}^{-1}$) dos óleos essenciais. As placas foram inoculadas com os patógenos por sete dias a $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Para verificar a diferença entre os tratamentos foi calculado o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) e a Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC). Foi obtido um total de trinta e oito isolados de *Fusarium*. Desses, trinta isolados se agruparam no complexo *F. oxysporum* (um isolado de *F. elaeidis*; um isolado de *F. gossypinum* e vinte e oito isolados de *F. fabacearum*) e oito isolados no complexo *F. solani*, juntamente com a espécie *F. falciforme*. No teste de sensibilidade, o óleo essencial de canela foi o que apresentou o melhor resultado a partir da concentração de 50 $\mu\text{L mL}^{-1}$ com ação fungicida no crescimento micelial para a espécie *F. fabacearum* e *F. falciforme* quando comparado com os outros óleos. Com base nisso, este é o primeiro relato de *F. fabacearum*, *F. gossypinum* e *F. elaeidis* causando tombamento em plântulas de coentro no mundo.

Palavras-chave: *Coriandrum sativum*, Damping-off, Fungicida natural.

ABSTRACT

The incidence of *damping off* of coriander seedlings limits the production of this vegetable in northeastern Brazil, due to reduced stand. There are still no concrete studies on the specific cause of the disease in culture. However, knowing the etiological agent is essential for the development of control methods. Therefore, the objective of this work was to identify and characterize phytopathogenic agents associated with the damping-off of coriander seedlings in the states of Alagoas, Pernambuco and Ceará, and to evaluate their sensitivity to essential oils of clove, cinnamon, citronella and tea tree. Soils were collected in different coriander producing areas, taken to the laboratory where they were distributed in 300 vases with a capacity of 250mL and identified according to the municipality of collection. To obtain the isolates, six coriander seeds of the Verdão cultivar (Isla seeds LTDA) were sown in each pot. Seed germination occurred seven days after planting and, 10 days after germination, the seedlings showed symptoms of wilting followed by damping off, thus performing the indirect isolation of pathogens. Morphocultural and molecular analyzes were performed with specific primers for RNA polymerase subunit II (RPB2) and elongation factor (TEF-1 α) genes. In the test to assess the sensitivity of the *F. fabacearum* and *F. falciforme* species, the experimental design was completely randomized (4 essential oils x 5 concentrations), with five replications, with the experimental unit consisting of a Petri dish. Treatments were generated by combining concentrations (0; 12.2; 25; 50; 100 and 200 μ L mL⁻¹) of essential oils. The plates were inoculated with the pathogens for seven days at 25 $\pm$ 2 °C. To verify the difference between treatments, the mycelial growth velocity index (IVCM) and the mycelial growth inhibition percentage (PIC) were calculated. A total of thirty-eight *Fusarium* isolates were obtained. Of these, thirty isolates clustered in the *F. oxysporum* complex (one isolate of *F. elaeidis*; one isolate of *F. gossypinum* and twenty-eight isolates of *F. fabacearum*) and eight isolates in the *F. solani* complex, together with the species *F. falciforme*. In the sensitivity test, cinnamon essential oil was the one that showed the best result from the concentration of 50 μ L mL⁻¹ with fungicidal action on mycelial growth for the species *F. fabacearum* and *F. falciforme* when compared to the other oils. Based on this, this is the first report of *F. fabacearum*, *F. gossypinum* and *F. elaeidis* causing *damping off* in coriander seedlings in the world.

Keywords: *Coriandrum sativum*, *Damping-off*, Natural fungicide.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1:** Coleta de solo em áreas produtoras de coentro. **a, b e c.** Sintoma de reboleira no plantio de coentro. **d e e.** Amarelecimento das folhas e tombamento das plantas.....41
- Figura 2:** Teste de patogenicidade em *Coriandrum sativum*. **A, B, C:** Constrição no caulículo de plântulas de coentro. **D:** Constrição no caulículo e raízes escurecidas. **E:** Falhas na germinação. **F:** Plântulas de coentro com sintoma de tombamento. **G:** Plântulas de coentro assintomáticas.....47
- Figura 3:** Árvore filogenética multi-locus inferida a partir da análise Bayesiana utilizando os genes EF1 e RPB2 para as espécies do complexo *Fusarium oxysporum* (FOSC). Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Fusarium udum* (CBS 17731)48
- Figura 4:** Árvore filogenética multi-locus inferida a partir da Análise Bayesiana utilizando os genes EF1 e RPB2 para espécies do complexo *Fusarium solani*. Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Fusarium illudens* (NRRL 22090)50
- Figura 5:** Característica morfocultural da espécie *F. fabacearum*. **a e b.** Verso e reverso da colônia de *F. fabacearum*. **c.** Macroconídios e Microconídios. **d.** Clamidósporos.....51
- Figura 6:** Característica morfocultural da espécie *F. gossypinum*. **a e b.** Verso e reverso da colônia de *F. gossypinum*. **c.** Macroconídio e microconídio.....52
- Figura 7:** Característica morfocultural da espécie *F. elaeidis*. **a e b.** Verso e reverso da colônia de *F. elaeidis*. **c.** Microconídios.53
- Figura 8 -** Características morfoculturais da espécie *F. falciforme*. **a e b.** Verso e reverso da colônia de *F. falciforme*. **c.** Macroconídio e microconídio. **d.** Clamidósporos.....54
- Figura 9:** Árvore filogenética inferida a partir da análise Bayesiana utilizando o gene EF1 para as espécies do complexo *Fusarium oxysporum* (FOSC). Os isolados utilizados neste

estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Fusarium udum* (CBS 17731)ANEXO

Figura 10: Árvore filogenética inferida a partir da análise Bayesiana utilizando o gene RPB2 para as espécies do complexo *Fusarium oxysporum* (FOOSC). Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Fusarium udum* (CBS 17731)ANEXO

Figura 11: Árvore filogenética inferida a partir da Análise Bayesiana utilizando o gene EF1 para espécies do complexo *Fusarium solani*. Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Fusarium illudens* (NRRL 22090).....ANEXO

Figura 12: Árvore filogenética inferida a partir da Análise Bayesiana utilizando o gene RPB2 para espécies do complexo *Fusarium solani*. Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Fusarium illudens* (NRRL 22090)ANEXO

CAPÍTULO II

Figura 1: Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) de *Fusarium fabacearum* nas diferentes concentrações dos óleos estudados.....77

Figura 2: Porcentagem de inibição de crescimento micelial (PIC) de *Fusarium fabacearum* nas diferentes concentrações dos óleos estudados.....79

Figura 3: Efeito das concentrações dos óleos essenciais no crescimento micelial de *Fusarium fabacearum*.....82

Figura 4: Efeito das concentrações dos óleos essenciais na ação fungistática e fungicida no crescimento micelial de *F. fabacearum*. **a.** Ação fungistática. **b.** Ação fungicida.....83

Figura 5: Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) de *Fusarium falciforme* nas diferentes concentrações dos óleos estudados.....84

Figura 6: Porcentagem de inibição de crescimento micelial (PIC) de *Fusarium fabacearum* nas diferentes concentrações dos óleos estudados.....86

Figura 7: Efeito das concentrações dos óleos essenciais no crescimento micelial de *Fusarium falciforme*.....89

Figura 8: Efeito das concentrações dos óleos essenciais na ação fungistática e fungicida no crescimento micelial de *F. fabacearum*. **a.** Ação fungistática. **b.** Ação fungicida.....90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Localidades e códigos dos isolados obtidos no estudo.....45

Tabela 2: Acessos do GenBank de isolados do gênero *Fusarium* utilizados nas análises filogenéticas das espécies pertencentes ao complexo *F. oxysporum*.....ANEXO

Tabela 3: Acessos do GenBank de isolados do gênero *Fusarium* utilizados nas análises filogenéticas das espécies pertencentes ao complexo *F. solani*.....ANEXO

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2.REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Cultura do coentro.....	13
2.1.1 Aspectos botânicos do coentro.....	14
2.1.2 Importância econômica do coentro.....	14
2.1.3 Aspectos fitossanitários do coentro.....	15
2.2 <i>Damping-off</i>	16
2.2.1 Gênero <i>Fusarium</i>	17
2.3 Controle de doenças de plantas.....	19
2.3.1 Controle alternativo e uso de óleos essenciais.....	20
2.3.2 Óleo essencial de cravo folha.....	22
2.3.3 Óleo essencial de canela da china.....	23
2.3.4 Óleo essencial de citronela.....	24
2.3.5 Óleo essencial de melaleuca.....	24
REFERÊNCIAS.....	26
CAPÍTULO 1: Caracterização do agente causal do <i>damping-off</i> no coentro no Nordeste do Brasil.....	37
RESUMO.....	38
ABSTRACT.....	39
1. INTRODUÇÃO.....	40
2. METODOLOGIA.....	41
3. RESULTADOS	45
4. DISCUSSÃO.....	55
ANEXO.....	58
REFERÊNCIAS.....	67
CAPÍTULO 2: Avaliação da sensibilidade <i>in vitro</i> de <i>Fusarium</i> spp. a óleos essenciais.....	71
RESUMO.....	72
ABSTRACT.....	73
1.INTRODUÇÃO.....	74
2. METODOLOGIA.....	75
3. RESULTADOS.....	76
4. DISCUSSÃO.....	91
REFERÊNCIAS.....	93

1.INTRODUÇÃO GERAL

O coentro (*Coriandrum sativum* L.) é originário da região leste do Mediterrâneo e Sul da Europa (NADEEM et al. 2013). É uma planta herbácea da família Apiaceae e se adapta bem aos climas quentes. Em geral, é cultivada durante todo o ano por muitos produtores, exercendo um papel social importante, principalmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil (WANDERLEY, 2008). Seu cultivo visa, principalmente, a obtenção de massa verde e da extração do óleo essencial, que são utilizados na culinária como ingredientes para dar sabor a diversos pratos (OLIVEIRA et al. 2007).

No Brasil, a maior parte da produção vem da agricultura familiar, e a cultura se destaca devido à grande importância econômica e social, gerando renda para diversas famílias (JOLY, 2002). Segundo o último Censo Agropecuário em que a cultura estava inserida, a região Nordeste é responsável por mais da metade da produção nacional (IBGE, 2006).

Nos estados do Nordeste, onde o coentro é cultivado, tem sido verificada uma elevada incidência da doença *damping-off* ou tombamento de plântulas e o problema é agravado em épocas chuvosas, inviabilizando o cultivo em muitas áreas de plantio (INFANTE et al. 2018). O *damping-off* é causado por um grupo de patógenos que estão presentes no solo e que incidem sobre tecidos vegetais jovens e sementes recém-plantadas (AMORIM, 2018). Os principais sintomas observados na região do colo da plântula são escurecimento dos tecidos e perda da rigidez, nas sementes observa-se uma decomposição, tornando-as inviáveis para germinação (INFANTE, 2016; MARTINS et al. 2022). Estudos têm demonstrado que o *damping-off* no coentro está associado aos gêneros *Pythium*, *Rhizoctonia* e *Fusarium* sendo as espécies do gênero *Fusarium* com maior prevalência nas áreas de plantio (INFANTE, 2016).

O gênero *Fusarium* é composto por aproximadamente 1500 nomes de táxons dentre as categorias de espécies, subespécies e *formae speciales*, sendo este um dos mais importantes fitopatógenos por causar doenças em diversas culturas de interesse agrônomo (LESLIE; SUMMERELL, 2006), incluindo a cultura do coentro (LESSY et al. 2022). Para caracterização e identificação das espécies desse gênero é empregado técnicas microscópicas, baseadas na observação da morfologia de estruturas reprodutivas, e características fisiológicas (NELSON et al. 1983; LESLIE; SUMMERELL, 2006), juntamente com a utilização de técnicas moleculares que ajudaram no correto posicionamento taxonômico das espécies, utilizando principalmente regiões genômicas como: RNA polimerase subunidade II (RPB2) e fator de alongamento (TEF-1 α)

(LESLIE; SUMMERELL, 2006; O'DONNELL et al. 2010).

Várias estratégias já foram utilizadas na produção agrícola para controlar patógenos veiculados pelo solo (BELLÉ et al. 2018). Dentre esses métodos, o controle químico continua sendo a principal estratégia de controle preferido na produção de culturas comerciais devido a sua eficácia (FREIJE et al. 2015; SHI et al. 2019). No entanto, devido ao uso excessivo e/ou indevido de fungicidas alguns problemas vêm sendo observados como, a resistência dos patógenos, contaminação do meio ambiente e o efeito na saúde humana e animal (MARTINEZ, 2012; WISNIEWSKI et al. 2016).

Diante disso, a busca por métodos de controle que sejam menos caros, mais seguros, ambientalmente corretos e auxiliem no aumento da produção está a cada ano atraindo a atenção dos produtores (CAMPOS et al. 2018). As plantas medicinais apresentam potencial para serem usadas como método de controle alternativo contra os fitopatógenos, pois apresentam propriedades antimicrobianas devido aos seus metabólitos secundários como fenóis, polifenóis, flavonoides, glicosídeos, taninos, alcaloides e outros compostos (RISHI et al. 2003; SULTANA et al. 2013).

Trabalhos realizados com o uso de óleos essenciais, como de Steffen et al. (2019) e Marino (2019) obtidos de plantas medicinais mostraram o potencial das plantas no controle de fitopatógenos, por apresentarem ação fungicida direta e inibir o crescimento micelial e a germinação de esporos.

No entanto, estudos mais aprofundados sobre a diversidade de fitopatógenos que causam tombamento em plântulas de coentro no Brasil ainda são escassos, e é de grande importância a identificação do agente etiológico para os estudos que buscam medidas de controle eficazes que diminuam os danos causados pela doença na cultura.

Com base no exposto, o trabalho teve como objetivo identificar as espécies fúngicas associadas ao tombamento de mudas de coentro e avaliar a sensibilidade a óleos essenciais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultura do coentro

O coentro é nativo da região Leste do Mediterrâneo e sul da Europa, mais especificamente dos continentes Africano e Europeu (SANTOS, 2016). A introdução das hortaliças no Brasil, e dentre elas o coentro, se deu por volta de 1549 com a chegada dos Padres da Companhia de Jesus, tornando-se incalculável a contribuição dos jesuítas com relação a difusão do cultivo e do consumo de hortaliças no país (MADEIRA; REIFSCHNEIDER; GIORDANO, 2008).

No Brasil, segundo dados do Registro Nacional de Cultivares (RNC) no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) existem aproximadamente 58 cultivares de coentro registradas, podendo ser classificadas em precoces e tardias (MAPA, 2022). As variedades precoces são mais adaptadas ao clima tropical e apresentam fase vegetativa variando entre 30 e 45 dias, como a cultivar “Verdão”, “Palmeira” e “Tabocas” (DINIZ, 2012). No entanto, as variedades tardias adaptam-se melhor ao clima subtropical ou temperado e possui fase vegetativa em torno de 50 a 60 dias, e entre as representantes deste grupo destacam-se a “Português”, “Asteca”, “Americano Gigante” e “Tapacurá” (MARI, 2009).

Na região Nordeste do Brasil a cultivar mais plantada e comercializada, segundo os produtores é a “Verdão” (SANTOS, 2009; DINIZ, 2012), desenvolvida por volta da década de 1980, através do cruzamento de várias linhagens da cultivar “Palmeira” e de seleções realizadas durante vários ciclos. As principais características dessa cultivar são folhagens robustas, de coloração verde escura brilhante, possui altura média de 30 a 40 cm, tolerância média ao pendoamento precoce, se adapta bem as condições edafoclimáticas da região.

A cultivar “Verdão” ainda apresenta boa resistência a doenças da parte aérea como: a queima das folhas causada por *Alternaria dauci* e a doença cercosporiose, causada por espécies do gênero *Cercospora* e com maior tempo de prateleira na pós-colheita (ISLA SEMENTES, 2003; OLIVEIRA et al. 2015). Por ser uma variedade precoce, apresenta ponto de colheita em torno de 30 a 40 dias após o plantio, sendo considerada uma cultura de ciclo rápido e podendo ser comercializada durante todo o ano (HORTIVALE, 2011). Desenvolve-se bem em regiões de clima quente, solos com boa fertilidade e drenagem, profundos e com exposição à luz (VAZ et al. 2007).

2.1.1 Aspectos botânicos do coentro

O coentro é uma planta herbácea de ciclo anual, possui raízes do tipo pivotante com formato fusiforme; o caule é ereto de coloração verde (pode vir a se tornar violeta na época da floração), cilíndrico e ramificados na sua parte superior podendo alcançar uma altura de 30 a 60 cm (LOPES, 2014). Suas folhas são alternadas compostas, as flores são pequenas, actinomorfas e hermafroditas com coloração branca ou rósea (PRACHAYASITTIKUL et al. 2018). Suas inflorescências são do tipo umbela composta e possuem de 7 a 8 flores por inflorescência (LOPES, 2014). A floração dá início com as flores periféricas de cada umbela, sendo as centrais muitas vezes estéreis (LOPES, 2014). As flores são pequenas e hermafroditas, com coloração podendo variar de brancas a levemente rosadas (DIEDERICHSEN, 1996).

As sementes/frutos são do tipo diaquério (duas sementes) de formato elipsoidal ou globosas, pequenas e secas, apresentando coloração amarelo castanho quando maduro com dimensão variando de 1,5 a 5 mm de diâmetro (EPPINGER; HOFMANN, 2008). A principal forma de propagação do coentro é através das sementes (SANTOS, 2016). A germinação ocorre entre 5 e 10 dias, dependendo da variedade e, após 40 dias a maioria das cultivares atingem o máximo do seu desenvolvimento vegetativo. Logo em seguida inicia o período reprodutivo, as plantas se tornam mais fibrosas e as folhas mais finas, dando início a floração (GUSMÃO; GUSMÃO, 2007; LOPES, 2014).

2.1.2 Importância econômica do coentro

O coentro é uma olerícola que é usada tradicionalmente em todo mundo (SAHIB et al. 2013). Todas as partes da planta podem ser comestíveis, porém, as folhas frescas e sementes secas são utilizadas com maior frequência pelos consumidores (SAHIB et al. 2013; MANDAL; MANDAL, 2015). A cultivar *C. sativum* é bastante utilizada na culinária e na medicina popular de muitas civilizações para tratamentos de várias patologias, tais como na China, Índia, Paquistão, Estados Unidos, América Central e América do Sul (BEGNAMI, 2018).

Inúmeras são as propriedades medicinais, sendo indicado para atonia gastrointestinal, ansiedade, como estimulante das atividades gástrica e hepática, anti-inflamatório, antifúngico e ansiolítico, para alívio de dores reumáticas e articulares, além de ser rico em vitaminas (A, B1, B2 e C), e fonte de cálcio e ferro (DUARTE et al. 2007). Para garantir uma boa absorção dos nutrientes, é indicado o consumo na forma de chá ou tintura (LORENZI; MATOS, 2008). Além disso, a extração do óleo essencial das plantas

apresenta grande importância nutricional devido as suas características químicas e físicas. Destacam-se também na indústria de cosméticos e perfumaria, movimentando a economia nacional e internacional (DUARTE et al. 2007).

O coentro apresenta grande importância social e comercial, com um volume considerável na importação e produção nacional de sementes. As folhas e sementes são utilizadas na composição e decoração de diversos pratos regionais. As sementes podem ser utilizadas na indústria alimentícia, como condimento para carne defumada e na fabricação de pães (PEREIRA; NASCIMENTO, 2005).

O México tem-se destacado como o maior produtor e exportador de coentro do mundo, com uma produção anual de cerca de 5.000 hectares cultivados para consumo interno e exportando principalmente para os EUA, Canadá e alguns países europeus (REIS et al. 2016), no mercado de importação destaca-se o Oriente Médio e Sudoeste da Ásia (RAVI, 2006). Além disso, a cultura também é extensivamente cultivada na Rússia, Europa Central, Ásia e Marrocos (FARAHANI et al. 2008).

No Brasil, o coentro possui um alto valor de mercado, principalmente, para região Nordeste, sendo considerado uma das hortaliças mais consumidas, ficando atrás apenas da alface a nível de consumo, importação e produção (BERTINI, 2010; JOLY, 2002).

2.1.3 Aspectos fitossanitários do coentro

O cultivo das hortaliças ainda é considerado uma atividade agrícola de grande risco, por ser um grupo de plantas que apresentam maior sensibilidade às condições climáticas, e devido a isso, vem sendo prejudicado com o aparecimento de doenças ocasionadas por microrganismos fitopatogênicos (FILGUEIRA, 2003). Dentre estes, destacam-se as bactérias; *Pseudomonas syringae* pv. *coriandricola* causando mancha foliar (GUPTA et al. 2012) e *Xanthomonas campestris* pv. *coriandri* ocasionando mela das folhas e caule (LEE, 2004), os vírus; *Apium-virus* Y (AVY) – família *Potyviridae* (*Potivirus*), com sintoma de mosaico e nanismo (TIAN, 2008) e *Groundnut ring spot virus* (GRSV) – família *Bunyaviridae* (*Tospovirus*), provocando manchas de anel clorótico, necrose e mal formação das folhas apicais (LIMA et al. 1999), os nematoides; *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis* responsáveis pelo nanismo do coentro (MOURA, 2005), Oomicetos; *Pythium ultimum* e *P. irregulare* responsáveis por causar podridões nas raízes e colo (GILARDI, 2019; INFANTE et al. 2018), e os fungos, principalmente as espécies do gênero *Fusarium* que acarretam grandes prejuízos devido aos sintomas de murcha vascular e *damping-off* (LI XI et al. 2021; YANG et al. 2022),

além da espécie *Sclerotinia sclerotiorum* causando o mofo branco (REIS; NASCIMENTO, 2011).

Dentre os principais problemas fitossanitários para a cultura do coentro e de hortaliças de forma geral, o *damping-off* ou tombamento de plântulas, é considerado a doença de maior importância, causando perdas expressivas na produção.

2.2 *Damping-off*

Damping-off ou tombamento de plântulas pertence ao Grupo II de doenças de plantas que foi proposto por George L. McNew em 1960 (AMORIM, 2018). Nesse grupo estão presentes fitopatógenos habitantes do solo, com preferência por habitar e colonizar os tecidos vegetais jovens e sementes recém-plantadas. Os sintomas no campo, geralmente ocorre em reboleiras, e com maior frequência em solos encharcados e nas épocas mais quentes do ano. A doença é de grande importância, pois está relacionada ao fato que em decorrência da ação do patógeno na cultura ocorre a redução do stand inicial das plantas no viveiro ou no campo (REIS; LOPES, 2016).

Vários sintomas podem estar associados ao *damping-off* de plântulas, e são classificados em pré emergência, quando o ataque do patógeno ocorre antes da emergência da plântula, e pós emergência quando o ataque do patógeno ocorre após a emergência das plântulas (AMORIM, 2018).

Durante a pré emergência, os patógenos podem atacar diretamente a semente causando o escurecimento dos tecidos, perda da rigidez, murcha e apodrecimento, diminuindo o seu poder germinativo. Quando a doença evolui para os primeiros tecidos que germinam da semente, inicia-se o aparecimento de manchas encharcadas, que escurecem rapidamente, o fungo toma toda a plântula, ocorrendo então a destruição dos tecidos, acarretando morte da plântula e semente (REIS; LOPES, 2016).

Na pós emergência ocorre o tombamento das plântulas, que é o sintoma mais conhecido e visível. Os sintomas são observados na região do colo das plântulas (caulículo), rente ao solo, levando ao aparecimento de manchas encharcadas que com o decorrer do tempo vão evoluindo para lesões profundas, provocando uma constrição no caule, que por estar enfraquecido, leva ao tombamento da plântula (AMORIM, 2018).

Estudos relatam que diferentes patógenos como fungos e oomicetos são os agentes causais mais comuns de doenças deste grupo (AMORIM, 2018), com destaque para os oomicetos dos gêneros *Pythium*, *Rhizoctonia* e *Phytophthora* que apresentam um papel relevante nas culturas com sintomas do tipo *damping-off* (DINGRA et al. 2004; TYLER,

2007; INFANTE et al. 2018). Algumas espécies de fungo, como por exemplo, *Fusarium semitectum*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme* e *Fusarium equiseti* já foram identificadas causando sintomas de *damping-off* no coentro (LESSY et al. 2022).

Observa-se que diferentes espécies do gênero *Fusarium* podem causar sintomas de *damping-off* no coentro, e isso, pode dificultar as medidas de controle que buscam diminuir as perdas provocadas por esse patógeno na cultura (RIBEIRO et al. 2020). Além disso, essas espécies apresentam grande capacidade saprofítica, o que dificulta o estabelecimento da cultura no campo, interferindo diretamente na densidade populacional desejável pelos produtores (INFANTE, 2016; RIBEIRO et al. 2020).

2.2.1 Gênero *Fusarium*

O gênero *Fusarium* foi descrito inicialmente por Link em 1809 (LINK, 1809) e atualmente pertence à família Nectriaceae, ordem Hypocreales e classe Sordariomycetes (INDEX FUNGORUM, 2023). Os primeiros estudos sobre as espécies de *Fusarium* foi realizada por Wollenweber; Reinking (1935) e intitulada como “Die Fusarien”. Neste trabalho descreveram 65 espécies, 55 variedades e 22 *formae speciales*, sendo agrupadas em 16 seções, e a partir de então, mais de 1000 espécies já foram descritas (CABRAL, 2012).

Este gênero é considerado um dos grupos mais importantes de fungos ascomicetos (KAVAS et al. 2009). Está distribuído em todo mundo, sendo considerado um fungo cosmopolita, devido a sua alta capacidade de adaptação em diferentes ambientes (BURGESS et al. 1996). Além disso, infecta uma ampla gama de hospedeiro, colonizando tanto a parte vegetativa como a parte reprodutiva das plantas, causando vários sintomas, fato que dificulta o manejo da doença (CHANDRA et al. 2011).

Além de causar doenças em culturas de importância econômica, também existe relato desse grupo fúngico ser patogênico a humanos e animais, podendo ser transmitidos através das micotoxinas (tricotocenos, fumosinas, zearalenona, moniliformina e ácido fusárico) que são produzidas por algumas espécies de *Fusarium*, e ao infectar sementes, cereais e outros produtos vegetais no período de pré e pós colheita, quando ingeridas causam doenças severas, agudas e até mesmo crônicas em seres humanos e animais (MULÉ et al. 2004; CHANG, 2018).

Os tricotocenos (12,13-epoxytrichothecenos) são descritas como substâncias com potencial irritantes da pele e agentes inflamatórios com rápida destruição das células

em divisão, afetando principalmente diferentes tipos de aves (MIROCHA; PATHRE, 1973). As fumosinas geralmente são produzidas pelas espécies *F. proliferatum*, *F. nygamai*, *F. anthophilue*, *F. verticillioides*, *F. dlamini* e *F. napiformi* sendo na maioria das vezes encontradas na cultura do milho (NELSON et al. 1983). Seis diferentes formas de fumosinas (A₁, A₂, B₁, B₂, B₃ e B₄) já foram identificadas, a fumosina B₁ é a mais agressiva causando inúmeras doenças em animais como leucoencefalomalácia em eqüinos, edema pulmonar em suínos e carcinomas hepáticos e renais em ratos e camundongos (MINAMI et al. 2004). Em seres humanos o consumo de milho contaminado com fumosinas está associado ao câncer esofágico (MINAMI et al. 2004).

A zearalenona produzidas por algumas espécies de *Fusarium* é um ácido com propriedades estrogênicas e após o seu consumo, causa problemas de saúde nos animais, principalmente, em suínos provocando a indução de estro e vulvovaginites (MINAMI et al. 2004). O ácido fusárico é uma das micotoxinas mais frequentemente encontrada na natureza, sendo produzida pela maioria das espécies de *Fusarium* (MINAMI et al. 2004). Nos animais, prejudica o consumo alimentar de aves, atuando na utilização do triptofano pelo cérebro, além de agir sinergicamente, aumentando a toxicidade de outras micotoxinas (BACON et al. 1996).

De acordo com as características morfológicas, algumas espécies podem produzir três tipos de esporos: os macroconídios, microconídios e clamidósporos. Os macroconídios são hialinos, podendo ser produzidos em conidióforos ou em esporodóquios, variando de acordo com o tipo de espécie, podendo apresentar cerca de 3 a 5 septos transversais com uma célula apical e basal nas suas extremidades, chegando a ser uma característica de grande importância na sua taxonomia. Os microconídios podem ser produzidos em fiálides sobre as hifas apresentando diferentes formatos e conter até um septo. E os clamidósporos, que são estruturas de resistência capazes de permanecer inativas no solo durante muito tempo, até que as condições de infecção sejam favoráveis para o desenvolvimento do patógeno (MILANESI, 2009).

A caracterização e identificação das espécies de *Fusarium* foi durante muito tempo resolvida apenas por caracteres fenotípicos (WOLLENWEBER; REINKING, 1935; BOOTH, 1971; NELSON et al. 1983). E a partir dos anos 90, com o uso de técnicas moleculares, baseados em sequencias de DNA, ficou claro que as classificações feitas com o uso de apenas dados morfológicos subestimavam a verdadeira diversidade de espécies desse gênero (KAVAS et al. 2009).

Este gênero apresenta uma alta taxa de variabilidade genética, e devido a isto é necessário para a identificação de espécies o uso de mais de uma região genômica (AOKI et al. 2014). E segundo os estudos, relatam que as regiões ITS-rDNA, IGS, LSU e os genes EF1- α , RPB1, RPB2, CAM e β -tubulina são os marcadores moleculares utilizados para auxiliar na identificação das espécies (O'DONNELL et al. 2009; JACOBS et al. 2018). No entanto, os genes mais utilizados são EF1- α por ser um gene de cópia única, altamente informativo entre as espécies, apresentando baixa taxa de mutação, tendo assim, uma efetiva função de DNA barcoding para esse gênero (O'DONNELL et al. 1998; GEISER et al. 2004; HYDE et al. 2014), juntamente com o RNA polymerase II (RPB2), que é um gene bastante informativo e confiável, apresentando uma boa resolução topológica nas árvores filogenéticas geradas (O'DONNELL et al. 2008).

Com o advento das técnicas moleculares ocorreu uma nova reclassificação na taxonomia de *Fusarium*, as espécies que antes eram classificadas em 17 seções, foram então divididas em complexos de espécies (O'DONNELL, 2000). E segundo Torres-Cruz et al. (2022), existem 23 complexos de espécies de *Fusarium* já descritos: Complexo *aywete* (FASC), *buharicum* (FBSC), *burgessii* (FburSC), *camptoceras* (FCAMSC), *clamydosporem* (FCSC), *citricola* (FCCSC), *concolor* (FCOSC ou FconSC), *falsibabinda* (FFBSC), *fujikuroi* (FFSC), *heterosporum* (FHSC), *incarnatum-equiseti* (FIESC), *lateritium* (FLSC), *newsense* (FnewSC), *nisikadoi* (FNSC), *oxysporum* (FOSC), *redolens* (FRSC), *sambucinum* (FSAMSC), *graminearum* (FGSC), *torreyae* (FtorSC), *tricinctum* (FTSC), *dimerum* (FDSC) e *solani* (FSSC).

Na cultura do coentro algumas espécies de *Fusarium* foram relatadas na literatura causando tombamento, podridão da raiz, podridão do caule e/ou murcha como *F. oxysporum*, *F. moniliforme* e *F. solani*, no Egito (NADA et al. 2014), além de *F. semitectum* e *F. equiseti* foram identificadas causando tombamento em coentro na província de El-Minia Governorate, no Egito (LESSY et al. 2022). No Brasil, houve relatos de *F. lacertarum*, *F. inflexum* e *F. falciforme* causando tombamento em plântulas de coentro (INFANTE, 2016).

2.3 Controle de doenças de plantas

O controle de doenças de plantas é considerado o objetivo prático mais importante da fitopatologia (AMORIM, 2018). Sem a adoção de medidas de controle, as doenças que infectam plantas podem trazer grandes prejuízos para os produtores, com perdas de até 100% da produção, além das consequências sociais, que podem acarretar na fome, morte

e emigração como já relatado nas epidemias famosas, visto na que ocorreu na Irlanda entre 1845 e 1846, uma doença hoje conhecida por requeima, causada por *Phytophthora infestans* na cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.), a catástrofe de Bengala nos anos de 1942 em que o fungo *Cochliobolus miyabeanus* dizimou plantações de arroz (*Oryza sativa*) com danos chegando a 75 e 90% na produção, no Sri Lanka em 1869 a ferrugem do cafeeiro (*Coffea*) que tem como agente causal *Hemileia vastatrix*, em cerca de 20 anos, a produção caiu de 50 mil toneladas para zero (AMORIM, 2018).

A busca pelo aumento da produtividade é a meta dos produtores a cada ano, e isso vem causando muitos dos atuais problemas fitopatológicos. Muitas das técnicas culturais adotadas como, densidade de plantio, monocultura, irrigação, mecanização e entre outras, que são necessárias para garantir uma boa produtividade, podem favorecer o aparecimento da doença. E devido a isso, é de fundamental importância o controle de doenças de plantas está inserido na agricultura moderna (AMORIM, 2018).

Um dos métodos de controle mais utilizado é o método químico, no entanto, o uso dos produtos químicos vem ocasionando alguns problemas como a contaminação ambiental e resistência por parte dos fitopatógenos devido ao uso exacerbado, levando a perda de eficiência dos fungicidas. Diante disso, vem despertando a necessidade da busca por métodos de controle alternativo, tanto pelos pesquisadores quanto pelos produtores para as mais variadas culturas (VENZON, 2006).

2.3.1 Controle alternativo e uso de óleos essenciais

O uso do controle alternativo de doenças de plantas visa diminuir a dependência dos agrotóxicos e contribui para a prática de uma agricultura mais sustentável, que não gere impactos para o meio ambiente, saúde humana e animal, e que consequentemente auxilie no aumento da produção (BETTIOL, 2021). Os produtos naturais como os óleos essenciais, vem sendo utilizados na agricultura como alternativa para controle de fitopatógenos e, isso, vem proporcionando um aumento na produção de alimentos de alta qualidade nutricional, além de dar uma maior confiabilidade no consumo desses produtos por não conter resíduos de fungicidas (CAMPOS et al. 2018).

Os óleos essenciais são resultantes dos metabólitos secundários das plantas, que são produzidos e armazenados em estruturas secretoras complexas, como glândulas, cavidades secretoras e condutos de resina, sendo encontrados como gotas de líquido nas folhas, caules, flores e frutos, cascas e raízes das plantas (STRINGARO et al. 2018). Segundo Morais (2009), são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, com

baixo peso molecular, geralmente odoríferas e líquidas, constituídos, na maioria das vezes, por moléculas de natureza terpênica como os fenóis, polifenóis, flavonóides, glicosídeos, taninos, alcalóides e outros compostos (RIBEIRO et al. 2010). Geralmente, são extraídos por meio de hidrodestilação, destilação a vapor, destilação seca ou prensagem mecânica a frio (DERYNG, 1951; ARORA et al. 2016). Apresentam odor agradável e marcante, e em temperatura ambiente exibem aspecto oleoso, tendo como principal característica a volatilidade (MORAIS, 2009).

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de suco de laranja e isso o torna, o maior produtor e exportador do óleo essencial de laranja (*Citrus sinensis* L.), e de outras espécies). De acordo com dados do IBGE, 2018 foram produzidas 154,6 mil toneladas de óleo essencial de laranja, equivalentes a R\$ 1,5 bilhões ou US\$ 418 milhões (BIZZO, 2022). Portanto, isto nos fornece oportunidade para os estudos com óleos essenciais e em seguida, serem utilizados como métodos de controle alternativo de doenças de plantas.

Os óleos, por apresentarem uma constituição hidrofóbica, atravessam a parede celular e a membrana plasmática, alterando a estrutura de polissacarídeos, ácidos graxos e fosfolipídios, podendo causar lise celular (MARQUES, 2014). Alguns mecanismos de ação causados pelos óleos essenciais em fungos é o rompimento da integridade da parede celular pela inibição da síntese de quitina e β -glucanas, ruptura da membrana celular, seja por ligação ou inibição da biossíntese de ergosterol, e a inibição de ácido ribonucleico, ácido desoxirribonucleico ou síntese de proteínas (SEEPE; NXUMALO; AMOO, 2021).

Estudos vem comprovando a importância dos óleos essenciais no controle de doenças de plantas. O trabalho de Moura et al. (2017) mostrou os efeitos de óleos essenciais de *Citrus* spp. no controle pós-colheita da antracnose em banana e pimentão. Neste estudo, foi usado o óleo essencial de laranja doce (*Citrus vulgaris* L.) e limão siciliano (*Citrus limon* L.) e ambos apresentaram atividade inibitória direta sobre *Colletotrichum musae* e *Colletotrichum gloeosporioides*. No teste *in vivo*, não houve diferença entre os tratamentos quando aplicados preventivamente, mas o óleo essencial de *C. vulgaris* a 0,05 e 0,1%, bem como óleo de *C. limon* a 0,1% reduziram o tamanho das lesões da doença quando aplicados de forma curativa.

No trabalho de Lorini et al. (2016), concluíram que os óleos essenciais de canela, cravo e eucalipto apresentaram compostos voláteis que inibiram o desenvolvimento de fungos em amêndoas de castanhas-do-Brasil, sendo que o óleo de canela apresentou maior eficácia. Diniz et al. (2008), demonstraram a viabilidade do óleo essencial de *Mentha arvensis* L., no controle *in vitro* de *Aspergillus* sp., *Penicillium rubrum*, *Sclerotinia* sp.,

Fusarium moniliforme e *Corynespora cassiicola*. Os pesquisadores Freddo et al. (2016), avaliaram o potencial do uso do óleo essencial de *Aloysia citriodora* (Ortega ex Pers.) (erva-cidreira) no controle *in vitro* de *Fusarium* sp., isolado de plântulas de beterraba. Os resultados obtidos permitiram concluir que este óleo essencial possui efeito fungistático e fungicida sobre o crescimento micelial e na germinação de conídios de *Fusarium* sp. Além disso, observaram que o efeito é maior em função do aumento da concentração do óleo essencial.

O efeito dos óleos essenciais das espécies medicinais *Baccharis dracunculifolia* (DC.) (alecrim-do-campo), *Schinus terebinthifolius* (Raddi.) (aroeirinha) e *Porophyllum ruderale* (Jacq.) (arnica-brasileira) sobre o crescimento dos fungos fitopatogênicos *Fusarium oxysporum* f. sp. *Phaseoli*, *F. solani* f. sp. *Phaseoli*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. minor*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* e *Macrophomina phaseolina* foi avaliada por Fonseca et al. (2015), onde concluíram que os óleos de alecrim-do-campo, aroeirinha e arnica-brasileira possuem potencial para o controle dos fungos fitopatogênicos, sendo o óleo alecrim-do-campo o mais eficiente na redução do crescimento micelial de todos os fungos, com inibição completa quando se utilizou a concentração de 3000 mg L⁻¹.

2.3.2 Óleo essencial de Cravo folhas

O cravo-da-índia [*Eugenia caryophyllus* (Spreng) Bullock e S. G. Harrison; sin. *Synzygium aromaticum* (L.) Merr.] é uma planta tropical perene e pertence à família Myrtadeae (JIROVERTZ et al. 2006), cultivada, principalmente, para obtenção do óleo essencial, cujo constituinte básico é o eugenol (C₁₀H₁₄O₂) que está presente em torno de 70% a 90% da sua composição (CORTES-ROJAS et al. 2014).

A planta é rica em compostos fenólicos como flavonóides, ácidos hidroxibenzóicos, ácidos hidroxicinâmicos e hidroxifenil propano (CORTES-ROJAS et al. 2014), que tem propriedades antifúngico, anti-inflamatório, analgésico, antioxidante, antitrombótico, antipirético, anticonvulsivante, inseticida, antimutagênico, antiulcerogênico, antiviral, antisséptico e antibacteriano (SHAN et al. 2005).

O seu óleo essencial é um potencial na medicina, sendo usado no tratamento de diversas patologias em todo o mundo, e vem se destacando com resultados promissores no controle de fungos fitopatogênicos devido ao efeito fungicida do seu composto isolado eugenol (FIGUEIREDO et al. 2021).

No trabalho desenvolvido por Santos et al. (2007), verificaram o potencial fungitóxico do óleo essencial de cravo da índia sobre os fungos *Fusarium oxysporum* e

Rhizoctonia solani em diferentes concentrações, e constataram que o óleo reduziu o crescimento micelial de *F. oxysporum* e *R. solani* em todas as concentrações.

O estudo de Figueiredo et al. (2021) teve como objetivo avaliar *in vitro* a fungitoxidade do óleo essencial de cravo, em diferentes concentrações, no crescimento micelial de *Cladosporium herbarum*, agente etiológico da doença conhecida como “verrugose” que afeta todos os órgãos aéreos do maracujazeiro. E concluiu que o óleo essencial de *E. caryophyllus* inibiu o crescimento micelial de *C. herbarum*. Com isso, o óleo essencial de *E. caryophyllus* apresentou-se promissor para aplicações futuras como agente biofungicida contra *C. herbarum*.

2.3.3 Óleo essencial de Canela da china

Cinnamomum cassia (L.) também conhecida como canela da china, é uma árvore que pertence à família Lauraceae. O seu óleo essencial é extraído a partir das cascas, folhas e flores por possuírem atividade antimicrobiana, antioxidante, inseticida e fungicida (KIM et al. 2006). Sendo a casca a parte da planta mais utilizada, por ser rica em óleo volátil, composto, principalmente, por cinamaldeído, eugenol, felandreno, aldeído, ortometilcumárico, acetato de cinamila, álcool fenilpropílico, álcool cinâmico e traços de cumarina (KIM et al. 2010). O cinamaldeído é o principal componente ativo do óleo de canela estando presente em torno de 60-70% na sua composição, no qual apresenta ação e degradação rápida, baixa a moderada toxicidade para mamíferos, maior seletividade biológica e baixa fitotoxicidade, tornando um produto de baixo impacto ambiental (PONCIANO et al. 2020).

Além disso, o óleo essencial de canela possui um alto valor econômico, sendo muito utilizado na indústria farmacêutica, de alimentos, de cosméticos e de bebidas (PONCIANO et al. 2020). Estudos vêm sendo desenvolvidos usando o óleo essencial para controle de fitopatógenos devido a sua ação fungicida e, segundo Lorini et al. (2016) foi possível observar que o óleo essencial de canela apresentou maior eficácia na inibição do desenvolvimento de fungos em amêndoas de castanha-do-Brasil.

Ascarí (2022), avaliou o potencial dos óleos essenciais de canela-da-china, lavandin e palmarosa, na inibição do crescimento micelial dos fungos *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Fusarium* spp. E de acordo com os resultados, os óleos de canela e palmarosa inibiram 100% os três fungos na concentração de 500 e 1000ppm. Concluindo que há potencial do uso destes óleos para promover inibição de fungos fitopatogênicos.

2.3.4 Óleo essencial de Citronela

A citronela (*Cymbopogon winterianus* (J.) é originária da Índia e pertence à família Poaceae e ao gênero *Cymbopogon* (LORENZI; MATOS, 2008). As duas espécies mais cultivadas são *Cymbopogon winterianus* e *Cymbopogon nardus* (L.), pois se destacam pela grande quantidade de constituintes químicos (LORENZI; MATOS, 2008).

O óleo essencial extraído das folhas de *C. winterianus* é rico em citronelal, geraniol e citronelol, sendo amplamente empregado na indústria farmacêutica, de cosméticos, de produtos agrícolas e alimentícias devido as suas ações bactericidas, fungicida, antiparasitária, antiviral e inseticida (PEREIRA, 2011). Nos últimos anos, as propriedades antifúngicas têm sido amplamente estudadas e aplicadas para controle de doenças de plantas (PEIXINHO et al. 2020).

Os pesquisadores Cruz et al. (2015) identificaram os principais componentes e avaliaram o efeito fungitóxico do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* (citronela) sobre três isolados de *Fusarium solani* (UENF/CF163, UENF/CF241 e UENF/CF295) isolados da goiabeira. De acordo com seus resultados, os principais componentes encontrados foi o geraniol (28,62%), citronelol (23,62%) e neral (17,10%). A menor concentração do óleo essencial de citronela inibiu em mais de 90% a germinação de esporos dos isolados UENF/CF241 e UENF/CF295 e reduziu a produção de esporos em mais de 95% nos três isolados, indicando que esse óleo possui uma boa atividade fungicida para esses isolados.

A atividade antifúngica dos óleos essenciais de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e citronela (*Cymbopogon winterianus*) sobre a fisiologia de *Colletotrichum gloeosporioides* em condições *in vitro* foi avaliada por Santos (2017), onde aponta que não houve diferença estatística entre as concentrações dos óleos testados para o crescimento micelial. Houve influência das concentrações dos óleos essenciais sobre a esporulação do fungo, sendo o óleo essencial de citronela o mais efetivo em todas as concentrações analisadas, inibindo a esporulação acima de 80%. Os óleos essenciais de alecrim e citronela apresentaram ação fungicida sobre o fungo *C. gloeosporioides* em condições *in vitro*.

2.3.5 Óleo essencial de Melaleuca

A Melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Cheel.) pertence à família Myrtaceae, é uma planta arbórea e contém aproximadamente 230 espécies, quase todas nativas da Austrália (BARRADAS, 2020). Popularmente conhecida como “árvore de chá” (do inglês Tea

Tree), a melaleuca tem sido bastante explorada e seu principal produto é o óleo essencial devido as suas propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas e antifúngicas (HARMMER et al. 2003).

O óleo essencial de *M. alternifolia* pode ser extraído das folhas, ramos e caule e tem sua composição regulamentada pela ISO 4730 (ISO 4730, 1996). Sua constituição química é bem conhecida, sendo rico em α -terpineno, γ -terpineno, 1,8-cineol e terpinen-4-ol. Onde o terpinen-4-ol é o principal responsável pelas propriedades medicinais do óleo (GARCIA et al. 2009). Geralmente, aqui no Brasil é utilizado as flores no processo de extração do óleo essencial através do método por destilação, como é feito pela empresa Via Aroma que é bastante conhecida pelo mercado consumidor (VIA AROMA, 2023).

Na indústria de cosméticos, é encontrado produtos com o óleo de melaleuca na composição de hidratantes para as mãos, sabonete facial, sérum fácil, shampoo, condicionador, gel dental, hidratante corporal e álcool a 70%, devido as suas propriedades antibacterianas e antifúngicas (AHOALOE, 2023).

Atualmente, o uso do óleo essencial de melaleuca vem sendo bastante estudado no controle de fitopatógenos como uma alternativa ao uso dos agrotóxicos (STEFFEN et al. 2019). Portella et al. (2021), em seus trabalhos, buscaram avaliar o efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento de *Sclerotinia sclerotiorum* que causa o mofo-branco na cultura da soja, e concluíram que o óleo essencial de alho apresentou inibição parcial do crescimento micelial do fungo. Os óleos de alecrim, própolis, cravo-botão e melaleuca foram eficientes para o controle *in vitro* de *S. sclerotiorum*.

Martins et al. (2011) avaliaram o efeito do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* na inibição do crescimento micelial *in vitro* dos fungos fitopatogênicos: *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Alternaria alternata* constatando que o óleo essencial de melaleuca inibiu o desenvolvimento dos fungos fitopatogênicos testados, podendo representar uma alternativa econômica e ecologicamente viável de controle de doenças de plantas.

REFERÊNCIAS

- ADANDONON, A.; AVELING, T. A. S.; TAMO, M. Occurrence and distribution of cowpea damping-off and stem rot and associated fungi in Benin. **The Journal of Agricultural Science**, v. 142, n. 5, p. 561-566, 2004.
- AGUIAR, A. M.; CARVALHO, R. F.; FERREIRA, C. A. S.; FERREIRA, C. P. Produção de coentro (*Coriandrum sativum* L.) cultivado com composto orgânico em Irituia-Pará. **Cadernos de Agroecologia**, v.10, n.3, 2016.
- AHOALOE COSMÉTICOS, 2023. Disponível em: <https://ahoaloe.com.br/sobre-nos/>
- AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 4.ed. Piracicaba: Agronômica Ceres Ltda, 2011.
- AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 5.ed. Piracicaba: Agronômica Ceres Ltda, 2018.
- AOKI, T.; O'DONNELL, K.; GEISER, D. M. Systematics of key phytopathogenic *Fusarium* species: current status and future challenges. **Journal of General Plant Pathology**, v. 80, n. 3, p. 189-201, 2014.
- ARORA, R.; SINGH, B.; VIG, A.P.; ARORA, S. Conventional and modified hydrodistillation method for the extraction of glucosinolate hydrolytic products: A comparative account. **SpringerPlus**, v. 5, p. 479, 2016.
- ASCARI, D. **Controle alternativo de fungos fitopatogênicos com uso de óleos essenciais de plantas medicinais**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal de Santa Catarina.
- ASHWATHI, S.; USHAMALINI, C.; PARTHASARATHY, S.; NAKKEERAN, S. Morphological, pathogenic and molecular characterisation of *Pythium aphanidermatum*: A causal pathogen of coriander *damping-off* in Índia. **The Pharma Innovation**, v. 6, n. 11, p. 44, 2017.
- BACON, C.W.; PORTER, J. K.; NORRED, W. P.; LESLIE, J. F. Production of fusaric acid by *Fusarium* species. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n.11, p. 4039-4043, 1996.
- BARRADAS, M. I.M.B.S. **Melaleuca alternifolia: Evidência Científica**. 2020. Tese de Doutorado. Universidade de Coimbra.
- BEGNAMI, A. F. **Propriedades antinociceptiva, antiedematogênica e antiulcerogênica da fração acetato de etila das folhas de *Coriandrum sativum* L.** 2018. Tese (Doutorado em Odontologia) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Piracicaba, São Paulo.

BELLÉ, R.; FONTANA, D.C.. Patógenos de solo: principais doenças vasculares e radiculares e formas de controle. **Enciclopédia biosfera**, v. 15, n. 28, 2018.

BERTINI, C. H. D. M.; PINHEIRO, E. A. R.; NÓBREGA, G. N.; DUARTE, J. M. D. L. Desempenho agrônomo e divergência genética de genótipos de coentro. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 3, p. 409-416, 2010.

BETTIOL, W. Controle alternativo. Embrapa Meio Ambiente. 2021. Disponível: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/agricultura-e-meio-ambiente/manejo/controle-alternativo>. Acesso: 05/01/2023.

BIZZO, H.; REZENDE, C.M. O mercado de óleos essenciais no Brasil e no mundo na última década. **Química Nova**, v. 45, n. 8, p. 949-958, 2022.

BOOTH, C. **The genus fusarium**, 1971.

BRITTON, K. O.; REDLIN, S.C. *Damping-off* of flowering dogwood seedlings caused by *Colletotrichum acutatum* and *Fusarium oxysporum*. **Plant Disease**, v. 79, n. 11, 1995.

BURGESS, L.W.B.; SUMMERELL, A.; BACKHOUSE, D.; BENYON, F.; LEVIC, J. Biodiversity and population studies in *Fusarium*. **Sydowia-Horn**, v. 48, p. 1-11, 1996.

CAMPOS, E.V.; PROENÇA, P.L.; OLIVEIRA, J.L.; BAKSHI, M.; ABHILASH, P.; FRACETO, L.F. Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: future perspectives. **Ecological Indicators**, v.105, p. 483-495, 2018.

CHANG, X.; DAI, H.; WANG, D.; ZHOU, H.; HE, W.; FU, Y.; IBRAHIM, F.; ZHOU, Y.; GONG, G.; SHANG, J.; YANG, J.; WU, X.; YONG, T.; CHUN, C.; YANG, W. Identification of *Fusarium* species associated with soybean root rot in Sichuan Province, China. **European Journal of Plant Pathology**, v. 151, n. 3, p. 563-577, 2018.

CORTES-ROJAS, D. F.; SOUZA, C. R. F.; OLIVEIRA, W. P. Clove (*Syzygium CRUZ*, T.P.; ALVES, F.R.; MENDONÇA, R.F.; COSTA, A.V.; WALDIR CITRA DE JESUS JÚNIOR, W.C.; PINHEIRO, P.F.; MARINS, A.K. Atividade fungicida do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* jowit (Citronela) contra *Fusarium solani*. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 1, p. 1-8, 2015.

DERYNG, J. Nowy aparat do oznaczanie olejków w materiale roślinnym. **Acta Pol Pharm**, v.8, p.121-136, 1951.

DHINGRA, O.D.; COSTA, M.L.N.; SILVA Jr, G.J.; MIZUBUTI, E.S.G. Essential oil of mustard to control *Rhizoctonia solani* causing seedling *damping off* and seedling blight in nursery. **Fitopatologia brasileira**, v. 29, p. 683-686, 2004.

DIEDERICHSEN, A. **Coriander, Coriandrum sativum L., Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops.3**. Roma: International Plant Genetic Resources Institute, 1996.

DINIZ, G. M. M. Resistência do coentro (*Coriandrum sativum* L.) à *Meloidogyne incognita* (raças 1 e 3) e *Meloidogyne javanica*. 2012. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Melhoramento Genético de plantas) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

DINIZ, S.P.S.S.; COELHO, J.S.; ROSA, G.S.; SPECIAN, V.; OLIVEIRA, R.C.; OLIVEIRA, R.R. Bioatividade do óleo essencial de *Mentha arvensis* L. no controle de fungos fitopatógenos. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 10, n. 4, p. 9-11, 2008.

DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; DELARMELINA, C.; SARTORATTO, A. Investigação da atividade do óleo essencial de duas variedades de *Coriandrum sativum* contra microrganismos envolvidos com patologias dérmicas. **Horticultura Brasileira**, v.25, p. 36, 2007.

EPPINGER, M.; HOFMANN, H. Plantas medicinais. **Guia claro e simples para a sua identificação**. Portugal: Everest Editora, 2008.

FARAHANI, A.; LEBASCHI, H.; HUSSEIN, M.; HUSSEIN, S. A.; REZA, V. A.; JAHANFAR, D. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi, diferente levels of phosphorus and drought stress on water use efficiency, relative water content and proline accumulation rate of Coriander (*Coriandrum sativum* L.). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 2, n. 6, p. 125-131, 2008.

FIGUEIREDO, A.R.; SILVA, L.R.; MORAIS, L.A.S. Bioatividade do óleo essencial de *Eugenia caryophyllus* sobre *Cladosporium herbarum*, agente etiológico da verrugose em maracujá. **Scientia Plena**, v. 17, n. 2, 2021.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo Manual de Olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2.ed. Viçosa: UFV, 2003.

FONSECA, M.C.M.; LEHNER, M.S.; GONÇALVES, M.G.; PAULA JÚNIOR, T.J.; SILVA, A.F.; BONFIM, F.P.G.; PRADO, A.L. Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatógenos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n.1, p. 45-50, 2015.

FREDDO, Á. R.; MAZARO, S.M.; BORIN, M.S.R.; BUSO, C.; CECHIN, F.E.; ZORZZI, I.C.; DALACOSTA, N.L.; LEWANDOWSKI, A. Potencial do óleo essencial de erva-lúisa (*Aloysia citriodora* Palau) no controle de *Fusarium* sp. *in vitro*. **Revista Brasileira de Plantas. Medicinais**, v.18, n. 2, p. 558-562, 2016.

FREIJE, A.N.; WISE, K.A. Impact of *Fusarium graminearum* inoculum availability and fungicide application timing on *Fusarium* head blight in wheat. **Crop. Prot.**, v.77, p. 139–147, 2015.

GEISER, D. M.; DEL MAR JIMÉNEZ-GASCO, M.; KANG, S.; MAKALOWSKA, I.; VEERARAGHAVAN, N.; WARD, T. J.; NINGZHANG, G.A.K.; O'donnell, K. A

DNA sequence database for identifying *Fusarium*. **European Journal of Plant Pathology**. v. 110, p. 473–479, 2004.

GILARDI, G.; FRANCO-ORTEGA, S.; GULLINO, M. L.; GARIBALDI, A. First report of *fusarium* wilt of coriander (*Coriandrum sativum*) caused by *Fusarium oxysporum* in Italy. **Plant Disease**, v.103, n.5, p.1020, 2019.

GUPTA, G.K.; SHARMA, S.K.; RAMTEKE, R. Biology, epidemiology and management of the pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with special reference to charcoal rot of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). **Journal of Phytopathology**, v. 160, n. 4, p. 167-180, 2012

GUSMÃO, S. A. L.; GUSMÃO, M. T. A. **Produção de hortaliças com princípios orgânicos**. Belém: UFRA, 2007.

HAMMER, K.A.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. **Journal of applied microbiology**, v. 95, n. 4, p. 853-860, 2003.

HORTIVALE. 2011. Coentro Verdão. Disponível em: <http://www.hotivale.com.br>. Acesso em: 7 de jul. 2018.

IBGE. IBGE Cidades: Produção Agrícola Municipal 2006. Disponível em: <<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/home.php>>. Acesso em: abril de 2016, 2006.

INDEX FUNGORUM. Disponível em: >
<http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>>. Acesso em:12/01/2023.

INFANTE, N. B. **Etiologia do damping-off na cultura do coentro no município de Arapiraca-AL e efeito da interação dos patógenos na incidência da doença**. 2016. Dissertação de Mestrado (Mestrado em proteção de plantas), Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo.

INFANTE, N. B.; Feijó, F.M.; Mendes, A.L.S.F.; Ramos-Sobrinho, R.; Reis, L.S.; Assunção, I.P.; Lima, G.S.A. First report of coriander (*Coriandrum sativum*) seedling damping-off caused by *Pythium irregulare* in Brazil. **Plant Disease**, v. 102, n. 2, p. 456-456, 2018.

ISLA SEMENTES, 2003. Coentro Verdão Substitui o Coentro Palmeira. Disponível em: <www.isla.com.br/artigo.cgi/coentro-verdao-substitui-o-coentro-palmeira>. Acesso em: 24 jul. 2009.

JACOBS, A.; MOJELA, L.; SUMMERELL, B.; VENTER, E. Characterisation of members of the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex from undisturbed soils in South Africa. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 111, n. 11, p. 1999-2008, 2018.

JOLY, A.B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: **Editora Nacional**. 2002.

KAVAS, M.; MARASAS, W. F. O.; WINGFIELD, B. D.; WINGFIELD, M. J.; STEENKAMP, E. T. Diversity and evolution of *Fusarium* species in the *Gibberella fujikuroi* complex. **Fungal divers**, v. 34, p. 1-21, 2009.

KIM, S.H.; HYUN, S.H.; CHOUNG, S.Y. Antioxidative effects of *Cinnamomi cassiae* and *Rhodiola rosea* extracts in liver of diabetic mice. **Biofactors**, v.26, p.209–19, 2006.

KIM, S.Y.; KOO, Y.K.; KOO, J.Y.; NGOC, T.M.; KANG, S.S.; BAE, K.; KIM, Y.S.; YUN-CHOI, H.S. Platelet antiaggregation activities of compounds from *Cinnamomum cassia*. **J Med Food**, v.13, p.1069–74, 2010.

KNIGHT, N.L.; Koenick, L.B.; Sharma, S.; Sarah J. Pethybridge, S.J. Detection of *Cercospora beticola* and *Phoma betae* on table beet seed using quantitative PCR. **Phytopathology**, v. 110, n. 4, p. 943-951, 2020.

LEE, Y. A.; LIU, Y. H. First Report of Bacterial Leaf Blight of Coriander Caused by *Xanthomonas campestris* pv. **Coriandrum** in Taiwan. **Plant Disease**, v. 88, p. 910, 2004.

LESSY, A.M.N.; ABDEL RHIM, A.S.; ABDEL-AZIZ, N.A.; SALEH, O.I.; ABDEL-LATI, M.R. Survey on incidence of *damping-off* and root rot/wilt diseases of coriander (*coriandrum sativum* L.) in minia governorate. **Minia J. of Agric. Res. & Develop**, v.42, n.2, p.127-151, 2022.

Li, X.; Kang, H. J.; Zhao, Q.; Shi, Y. X.; Chai, A. L.; Li, B. J. (2021). First Report of *Fusarium oxysporum* Causing Wilt on Coriander in China. **Plant Disease**, v.105, n.12, p.4164, 2021.

LIMA, M.F. AVILA, A. C.; WANDERLEY JUNIOR, L. J. G.; NAGATA, T.; GAMA, L. J. W.. Coriander: a New Natural host of *Groundnut ring spot virus* in Brazil. **Plant Disease**, v.83, p.878, 1999.

Link. 1809. World Register of Marine Species a. disponível em:
<https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=100226>. Acesso em:
27/06/2022

LOPES, E. M. C. T. **Colheita, caracterização e avaliação de germoplasma de coentro (*Coriandrum sativum* L.) do Alentejo**. 2014. Dissertação (Mestrado em Agricultura Sustentável) - Instituto Politécnico de Portalegre, Escola Superior Agrária de Elvas.

- LORENZI, H.; MATOS, F. J. *Coriandrum sativum* L. In: Lorenzi, H.; Matos, F. J. **Plantas medicinais no Brasil – Nativas e Exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2008.
- LORENZI, H.; MATOS, J. F. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto. Plantarum, 2008.
- LORINI, A.; MENDES, B.L.; BONALDO, S.M. Efeito volátil de óleos essenciais no desenvolvimento de patógenos em amêndoas de Castanhas-do-Brasil. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.15, n.2, p. 121-126, 2016.
- MADEIRA, N. R; REIFSCHNEIDER, F. J. B.; GIORDANO, L. B. Contribuição portuguesa à produção e ao consumo de hortaliças no Brasil: uma revisão histórica. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n.4, p. 428-432, 2008.
- MANDAL, S.; MANDAL, M. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: Chemistry and biological activity. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.5, n.6, p. 421-428, 2015.
- MARI, A. 2009. Coentro. Aphortesp - Associação dos Produtores de Horti-Fruti do Estado de São Paulo. Disponível em:< <http://www.aphortesp.com.br/coentro.html>>. Acesso em: abril, 2016.
- MARINO, A.K. **Volatilização de óleos essenciais para controle de *Botrytis cinerea* em morangos**. 2019. Dissertação (Mestre em Agronomia – Produção Vegetal), Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.
- MARQUES, J.S. **Compostos ativos de folhas de *Eugenia uniflora* e seus efeitos contra mofo branco causado por *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de feijoeiro**. 2014. Dissertação (Mestre em Biologia) - Programa de Pós-Graduação em Biologia do Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiás, Goiânia.
- MARTÍNEZ, J.A. Natural fungicides obtained from plants, fungicides for plant and animal diseases. In: Fungicides for Plant and Animal Diseases; Dhanasekaran, D., Ed.; Shanghai, China: InTech Open, 2012.
- MARTINS, J.A.S.; SAGATA, E.; SANTOS, V.A.; JULIATTI, F.C. Avaliação do efeito do óleo de melaleuca sobre o crescimento micelial *in vitro* de fungos fitopatogênicos. **Biosci. j. (Online)**, v.27, n.1, p. 49-51, 2011.
- MILANESI, P.M. **Caracterização, toxicidade e patogenicidade de *Fusarium* spp. em genótipos de soja em sistema plantio direto**. Santa Maria (UFSM). 2009. Dissertação (Mestrado em Agronomia).
- MINAMI, L.; MEIRELLES, G.P.; HIROOKA, E.Y.; ONO, E.Y.S. Fumonisinas: Efeitos toxicológicos, mecanismo de ação e biomarcadores para avaliação da exposição. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, v. 25, p. 207-224, 2004.

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Disponível em: https://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php . Acesso em: 25/06/2022.

MIROCHA, C.J.; PATHRE, S. Identification of the toxic principle in a sample of poaeufusarin. **Appl Microbiol**, v.26, p.719-724, 1973.

MORAIS, L.A.S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v.27, n.2, p. 4050-4063, 2009.

MOURA, G.S.; Scheffer, D.C.; FRANZENER, G.; JASKI, J.M. Efeito de óleos essenciais de *Citrus* spp. no controle pós-colheita da antracnose em banana e pimentão. **Revista Cultivando o Saber**, v. 10, n. 3, p. 73-87, 2017.

MOURA, R. M. Nematoides de interesse agrícola assinalados pela UFRPE no nordeste do Brasil (1967-2005). **Nematologia Brasileira**, v. 29, p. 289-292, 2005.

MOURA, R. M. Nematoides de interesse agrícola assinalados pela UFRPE no nordeste do Brasil (1967-2005). **Nematologia Brasileira**, v. 29, p. 289-292, 2005.

NADA, M.; IMARAH, D.; HALAW, A. Efficiency of some silicon sources for controlling *damping-off* of coriander (*Coriandrum sativum* L.) in Egypt. **Egyptian Journal of Phytopathology**, v. 42, n. 2, p. 73-90, 2014.

NADEEM, M.; ANJUM, F.M.; KHAN, M.I.; TEHSEEN, S.; EL-GHORAB, A.; SULTAN, J.I. Nutritional and medicinal aspects of coriander (*Coriandrum sativum* L.). **A review. Brit. Food J**, v. 115, p. 743-755, 2013.

O'DONNELL, K.; Sutton, D.A.; Fothergill, A.; McCarthy, D.; Michael, G.; Brandt, M.E.; Zhang, N.; , Geiser, D.M. Molecular phylogenetic diversity, multilocus haplotype nomenclature, and in vitro antifungal resistance within the *Fusarium solani* species complex. **Journal Clinical Microbiology**, v. 46, n. 8, p. 2477- 2490, 2008.

O'DONNELL, K.; GUEIDAN, C.; SINK, S.; JOHNSTON, P. R.; CROUS, P. W.; GLENN, A.; Riley, R.; Zitomer, N.C.; Colyer, P.; Waalwijk, C.; Der Lee, T.V; Moretti, A.; Kang, S.; Kim, H.S.; Geiser, D.M.; Juba, J.H.; Baayen, R.P.; Crome, M.G.; Bithell, S.; Sutton, D.A.; Skovgaard, K.; Ploetz, R.; Kistler, H.C.; Elliott, M.; Davis, M.; Sarver, B.A.J. A two-locus DNA sequence database for typing plant and human pathogens within the *Fusarium oxysporum* species complex. **Fungal Genetics and Biology**, v. 46, n. 12, p. 936-948, 2009.

O'DONNELL, K.; SUTTON, D. A.; FOTHERGILL, A.; MCCARTHY, D.; RINALDI, M. G.; BRANDT, M. E.; ZHANG, N.; GEISER, D. M. Molecular phylogenetic diversity, multilocus haplotype nomenclature, and in vitro antifungal resistance within the *Fusarium solani* species complex. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 46, n. 8, p. 2477-2490, 2008.

O'DONNELL, K.; CIGELNIK, E.; NIRENBERG, H. I. Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. **Mycologia**, v. 90, n.3, p. 465-493, 1998.

OLIVEIRA, A. C. C.; SOUZA, P.E.; POZZA, E.; FIGUEIRA, A.R.; AVELAR, G.D.; GOMES, E.A.; MONTEIRO, F.P. Morphological, genetic characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* isolates from cotton in Brazil. **Bioscience Journal**, v. 30, n.2, p. 512-524, 2014.

OLIVEIRA, N. S.; CARVALHO FILHO, J. L. S.; SILVA, D. O.; PASTORIZA, R. J. G.; MELO, R. A.; SILVA, J. W.; MENEZES, D. Seleção e parâmetros genéticos de progênies de coentro tolerantes ao calor. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 3, p. 319-323, 2015.

OMONIYI, A.M.; SHERIFFDEEN, T.; YUSUF, H.; EGUBADI, J.M. Efficacy of Three Selected Botanicals in the control of Botrytis cinerea Associated with *Damping Off* in *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai. **Journal of Basic and Applied Sciences**, v.4, n.1, p. 16 – 26, 2019.

PEIXINHO, G. D. S.; RIBEIRO, V. G., AMORIM, E. P. D. R.; MORAIS, A. C. D. M. (2020). Ação do óleo essencial de Citronela (*Cymbopogon nardus* L) sobre o patógeno *Lasiodiplodia theobromae* em cachos de videira cv. Itália. **Summa Phytopathologica**, v.45, p.428-431, 2020.

PEREIRA, R. B.; LUCAS, G. C.; PERINA, F. J.; RESENDE, M. L. V.; ALVES, E. Potential of essential oils for the control of brown eye spot in coffee plants. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 115-123, 2011.

PEREIRA, R.S.; MUNIZ, M.F.B.; NASCIMENTO, W.M. Aspectos relacionados à qualidade de sementes de coentro. **Horticultura Brasileira**, v. 23, p. 703-706, 2005.

POLIZZI, G.; AIELLO, D.; GUARNACCIA, V.; VITALE, G.; STEA, G. First report of *damping-off* on strawberry tree caused by *Colletotrichum acutatum* and *C. simmondsii* in Italy. **Plant Disease**, v. 95, n. 12, p. 1588-1588, 2011.

PONCIANO, R. C. S.; MARTINS, G. R.; IULIANELLI, G. C. V.; TAVARES, M. I. B. Estudo do extrato da canela por NMR em solução. **Brazilian Journal of development**, v.6, n.7, p.43763-43772, 2020.

PORTELLA, J.; ORLANDI, R.C.; ALMEIDA, J.; KOEFENDER, J.; SCHOFFEL, A.; CAMERA, J.N. Óleos essenciais no controle *in vitro* de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Revista Thema**, v. 19, n. 3, p. 615-622, 2021.

PRACHAYASITTIKUL, V.; PRACHAYASITTIKUL, S.; RUCHIRAWAT, S. Coriander (*Coriandrum sativum*): A promising functional food toward the well-being. **Food Research International**, v.105, p. 305-323, 2018.

RAVI, R.; PRAKASH, M.; BHAT, K.K. Aroma characterization of coriander (*Coriandrum sativum* L.) oil samples. **European Food Research and Technology**, v. 225, p. 367-374, 2007.

REIS, A.; LOPES, C.A. **Doenças do coentro no Brasil**. 2016.

REIS, A.; NASCIMENTO, W. M. Novas hospedeiras de *Sclerotinia sclerotiorum* na família Apiaceae na região do Cerrado do Brasil. **Horticultura Brasileira**, v. 29, p. 122-124, 2011.

RIBEIRO, A.; ROMEIRAS, M.M.; TAVARES, J.; FARIA, M.T. Ethnobotanical survey in Canhane village, district of Massingir, Mozambique: Medicinal plants and traditional knowledge. **J. Ethnobiol. Ethnomed**, v.6, p.33, 2010.

RIBEIRO, N.J.K.; MIRELLY MIGUEL PORCINO, M.M.; SILVA, H.F.; BARBOSA, E.S.; SALES, L.A.; SOUZA, M.S.; PODESTÁ, G.S. Ocorrência de tombamento em plantas de *Coriandrum sativum* L. na Paraíba. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 78256-78263, 2020.

RISHI, K.; SINGH, R. Chemical components and insecticidal properties of Bakain (*Melia azedarach* L.) —A review. **Agric. Revolut.**, v.24, p. 101–115, 2003.

SAHIB, N. G.; ANWAR, F.; GILANI, A. H.; HAMID, A. A.; SAARI, N.; ALKHARFY, K. M. Coriander (*Coriandrum sativum* L.): A potential source of high-value components for functional foods and nutraceuticals- A review. **Phytotherapy Research**, v.27, n.10, p. 1439-56, 2013.

SANTOS, F.D. **Potencial de inibição de óleos essenciais alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e citronela (*Cymbopogon winterianus*) para o controle *in vitro* do fungo *Colletotrichum gloeosporioides***. 2017. Trabalho de Conclusão de curso, Faculdade Maria Milza. Bahia, Governador Mangabeira.

SANTOS, K. P. **Desempenho agrônômico do coentro submetido a diferentes adubações, Altamira-Pará**. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal do Pará, campus de Altamira, Altamira, Pará.

SANTOS, P. C. **Análise fitoquímica e avaliação das antioxidante, antimutagênica e citotóxica do estrato hidroalcoólico de *Coriandrum sativum* L.** 2016. Dissertação de Mestrado (Biologia Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.

SEEPE, H.A.; NXUMALO, W.; AMOO, S.O. Natural Products from Medicinal Plants against Phytopathogenic *Fusarium* Species: Current Research Endeavours, Challenges and Prospects. **Molecules**, v.26, n.21, p.6539, 2021.

SHAN, B.; CAI, Y.; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant capacity of 26 extracts and characterization of their constituents. **J. Afr. Food Chem**, v.53, p.7749-7759, 2005.

SHI, X.; QIAO, K.; LI, B.; ZHANG, S. Integrated management of *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* in cucumber by combined application of abamectin and fludioxonil. **Crop. Prot.**, v.126, 2019.

SILVA, T.S.P. **Caracterização do óleo essencial de frutos de coentro submetidos à restrição hídrica**. 2017. Dissertação (Produção vegetal), Rio de Janeiro, Campos dos Goytacazes.

STEFFEN, G.; MALDANER, J.; STEFFEN, R.B.; MISSIO, E.L.; MEZZOMO, R. Controle de *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium* sp. com óleo essencial de melaleuca. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 30, 2019.

STRINGARO, A.; COLONE, M.; ANGIOLELLA, L. Antioxidant, antifungal, antibiofilm, and cytotoxic activities of *Mentha* spp. essential oils. **Medicines**, v.5, p.112, 2018.

SULTANA, S.; AKHTAR, N.; ASIF, H.M. Phytochemical screening and antipyretic effects of hydro-methanol extract of *Melia azedarach* leaves in rabbits. **Bangladesh J. Pharmacol.**, v.8, p. 214–217, 2013.

TIAN, T.; LIU, H. Y.; KOIKE, S.T. First Report *Apium virus* Y in Cilantro, Celery and Parsley in California. **Plant Disease**, v. 92, p. 1254, 2008.

TIAN, T.; LIU, H. Y.; KOIKE, S.T. First Report *Apium virus* Y in Cilantro, Celery and Parsley in California. **Plant Disease**, v. 92, p. 1254, 2008.

TORRES-CRUZ, T.J.; WHITAKER, B.K.; PROCTOR, R.H.; BRODERS, K.; LARABA, I.; KIM, H.S.; Brown, D.W.; O'Donnell, K.; Tania L. Estrada-Rodríguez, T.L.; Lee, Y.H.; Cheong, K.; Wallace, E.C.; McGee, C.T.; Kang, S.; Geiser, D.M. FUSARIUM-ID v. 3.0: an updated, downloadable resource for *Fusarium* species identification. **Plant Disease**, v.106, n.6, p. 1610-1616, 2022.

TYLER, B.M. *Phytophthora sojae*: root rot pathogen of soybean and model oomycete. **Molecular plant pathology**, v. 8, n. 1, p. 1-8, 2007.

VENZON, M. et al. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG, UFV, 2006.

WISNIEWSKI, M.; DROBY, S.; NORELLI, J.; LIU, J.; SCHENA, L. Alternative management technologies for postharvest disease control: The journey from simplicity to complexity. **Postharvest Biol. Technol.**, v.122, p. 3-10, 2016.

WOLLENWEBER, H. W.; REINKING, O. A. **Die fusarien: ihre beschreibung, schadwirkung und bekämpfung**. Paul Parey, 1935.

YANG, L.; GAO, W.; ZHANG, C.; XU, L.; WANG, Y. First report of *Fusarium oxysporum* causing coriander wilt disease in North China. Plant Disease, v.106, n.5, p. 1525, 2022.

Capítulo I

CARACTERIZAÇÃO DO AGENTE CAUSAL DO *DAMPING-OFF* NA CULTURA
DO COENTRO NO NORDESTE DO BRASIL

RESUMO

O cultivo do coentro é uma atividade consolidada entre os produtores rurais da região nordeste do Brasil. No entanto, um dos fatores limitantes para a produção é a incidência de doenças ocasionadas principalmente por patógenos veiculados pelo solo, causando sérios problemas de redução de estande, em decorrência do tombamento de plântulas. Até o momento não tem um estudo concreto sobre a causa específica da doença na cultura. Logo, conhecer o agente etiológico é essencial para o desenvolvimento de técnicas adequadas de controle. Diante disso, o trabalho teve como objetivo identificar e caracterizar agentes fitopatogênicos associados ao tombamento de plântulas de coentro nos estados de Alagoas, Pernambuco e Ceará. Foram coletados solos em diferentes áreas produtoras de coentro, levados ao laboratório onde foram distribuídas em 300 vasos com capacidade de 250mL e identificadas de acordo com o município de coleta. Para obtenção dos isolados foram semeadas seis sementes de coentro da cultivar Verdão (Isla sementes LTDA), em cada vaso. A germinação das sementes ocorreu aos sete dias após o plantio e, aos 10 dias após a germinação as plântulas apresentaram sintomas de murcha seguido de tombamento realizando, assim, o isolamento indireto dos patógenos. Utilizando análises morfo Culturais e moleculares com primers específicos para os genes RPB2 e TEF foi obtido um total de trinta e oito isolados de *Fusarium*. Desses, trinta isolados se agruparam no complexo *F. oxysporum* (um isolado de *F. elaeidis*; um isolado de *F. gossypinum* e vinte e oito isolados de *F. fabacearum*) e oito isolados no complexo *F. solani*, juntamente com a espécie *F. falciforme*. Sendo este, o primeiro relato de *F. fabacearum*, *F. gossypinum* e *F. elaeidis* causando tombamento em plântulas de coentro no mundo.

Palavras-chave: *Coriandrum sativum*, Damping-off, Análise polifásica.

ABSTRACT

The cultivation of coriander is a consolidated activity among rural producers in the northeast region of Brazil. However, one of the limiting factors for production is the incidence of diseases caused mainly by pathogens transmitted by the soil, causing serious problems in the reduction of the stand, due to the damping off of seedlings. So far, there is no concrete study on the specific cause of the disease in the crop. Therefore, knowing the etiological agent is essential for the development of appropriate control techniques. Therefore, the objective of this work was to identify and characterize phytopathogenic agents associated with damping off of coriander seedlings in the states of Alagoas, Pernambuco and Ceará. Soils were collected in different coriander producing areas, taken to the laboratory where they were distributed in 300 vases with a capacity of 250mL and identified according to the municipality of collection. To obtain the isolates, six coriander seeds of the Verdão cultivar (Isla seeds LTDA) were sown in each pot. Seed germination occurred seven days after planting and, 10 days after germination, the seedlings showed symptoms of wilting followed by damping off, thus performing the indirect isolation of pathogens. Using morphocultural and molecular analyzes with specific primers for the RPB2 and TEF genes, a total of thirty-eight *Fusarium* isolates were obtained. Of these, thirty isolates clustered in the *F. oxysporum* complex (one isolate of *F. elaeidis*; one isolate of *F. gossypinum* and twenty-eight isolates of *F. fabacearum*) and eight isolates in the *F. solani* complex, together with the species *F. falciforme* cell. This being the first report of *F. fabacearum*, *F. gossypinum* and *F. elaeidis* causing *damping off* in coriander seedlings in the world.

Keywords: *Coriandrum sativum*, *Damping-off*, Polyphase analysis.

1.INTRODUÇÃO

O coentro pertence à família Apiaceae, e é originário da região leste do Mediterrâneo e Sul da Europa (NADEEM et al. 2013). No Brasil, a região nordeste é responsável pela maior parte da produção do país, no qual é produzido pela agricultura familiar (JOLY, 2002).

No entanto, alguns problemas fitossanitários vem acarretando perdas na produção, e dentre eles, o *damping-off* ou tombamento de mudas tem se destacando por causar grandes prejuízos na cultura (KNIGHT et al. 2020). O problema é agravado em épocas chuvosas e tem inviabilizado o cultivo em muitas áreas de plantio. A sintomatologia é observada na região do colo da plântula, onde ocorre o escurecimento dos tecidos e perda da rigidez. Nas sementes observa-se uma decomposição, tornando-as inviáveis para germinação (INFANTE, 2016; MARTINS et al. 2022;). Estudos têm demonstrado que o tombamento de plântulas de coentro está associado aos gêneros *Pythium*, *Rhizoctonia* e *Fusarium* sendo as espécies do gênero *Fusarium* com maior prevalência nas áreas de plantio (INFANTE, 2016).

O gênero *Fusarium* está inserido no Reino Fungi, Filo Ascomycota, Classe Sordariomycetes, Ordem Hypocreales, Família Nectriaceae (Index Fungorum, 2023). Esse gênero é composto por aproximadamente 1500 nomes de táxons dentre as categorias de espécies, subespécies e *formae speciales*, sendo este um dos mais importantes fitopatógenos por causar doenças em diversas culturas de interesse agrônomo (LESLIE; SUMMERELL, 2006).

Na caracterização e identificação das espécies de *Fusarium* é empregado técnicas microscópicas, baseadas na observação da morfologia de estruturas reprodutivas, e características fisiológicas (NELSON et al. 1983; LESLIE; SUMMERELL, 2006). Porém, somente as características morfológicas não são suficientes para identificação de espécies, por isso, se faz necessário à utilização de técnicas moleculares para o correto posicionamento taxonômico das espécies, utilizando principalmente regiões genômicas como: RNA polimerase subunidade II (RPB2) e fator de alongamento (TEF-1 α) (LESLIE; SUMMERELL, 2006; O'DONNELL et al. 2010).

Diante do exposto, o trabalho teve como objetivo identificar as espécies fúngicas associadas ao tombamento de mudas de coentro nos estados de Alagoas, Pernambuco e Ceará.

2.2 METODOLOGIA

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia Molecular do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas no Município de Rio Largo.

2.2.1 Coleta do solo e Obtenção dos isolados

Nos anos de 2018 a 2022, amarelecimento das folhas, escurecimento de raízes e caule com constrição no colo das plantas, bem como falhas na germinação das sementes, murcha e tombamento foram observados em plantios comerciais de coentro, nos estados de Alagoas, Pernambuco e Ceará, Brasil (Figura 1). As áreas possuíam entre 1 e 2 hectares da cultura, sendo 80% com incidência da doença. Em cada área produtora de coentro foram coletadas 2 amostras de solo compostas, profundidade de 0-20 cm, totalizando assim, 10 áreas nos três estados.

Figura 1: Coleta de solo em áreas produtoras de coentro. **a, b e c.** Sintoma de reboleira no plantio de coentro. **d e e.** Amarelecimento das folhas e tombamento das plantas.



Fonte: Autor, 2023

As amostras de solo compostas foram encaminhadas ao laboratório, posteriormente, distribuídas em 300 vasos com capacidade de 250mL e identificadas de acordo com o município de coleta. Para cada área de coleta o delineamento foi

inteiramente casualizado (DIC), com trinta repetições por área, sendo quatro áreas em Alagoas e Pernambuco, e duas áreas no Ceará.

Para obtenção dos isolados foram semeadas seis sementes de coentro da cultivar Verdão (Isla sementes LTDA), em cada vaso. A germinação das sementes ocorreu aos sete dias após o plantio e, aos 10 dias após a germinação as plântulas apresentaram sintomas de murcha seguido de tombamento realizando, assim, o isolamento indireto dos patógenos.

Para isolamento indireto, fragmentos da região de transição da doença localizado no tecido radicular e no colo da plântula foram desinfestados em álcool 70% por 30 s, hipoclorito de sódio (1%) por 1 min, lavados três vezes em água destilada esterilizada (ADE), secos em papel filtro e transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA-KASVI). As placas foram mantidas sob temperatura de 25 °C, no escuro, até o crescimento de hifas fúngicas, onde discos das bordas das colônias foram transferidos para novas placas de Petri contendo meio BDA. Aos sete dias, foi observado em microscópio ótico as estruturas reprodutivas de cada isolado e identificados como pertencentes ao gênero *Fusarium* de acordo com Leslie; Summerell (2006).

2.2.2 Obtenção da cultura monospórica e preservação dos isolados

Para obtenção da cultura monospórica, as colônias foram cultivadas por cinco dias em meio de cultura Ágar-água (AA) e incubadas a 25° C, com fotoperíodo de 12h. Em seguida, foi transferido 1 a 2 mm de pontas de hifas para novas placas de Petri contendo meio BDA, com auxílio de um microscópio estereoscópico (lupa) binocular, e incubados a 25° C com fotoperíodo de 12h, durante 7 dias. Os isolados foram preservados usando três métodos: tubos de ensaio contendo meio de cultura BDA, Castellani (Castellani, 1967) e em papel filtro autoclavado (ALFENAS; MAFIA, 2007) e, posteriormente, depositados na Coleção de Fitopatógenos da Universidade Federal de Alagoas (COUFAL).

2.2.3 Teste de Patogenicidade

Para realização do teste de patogenicidade foram utilizados erlenmeyers com capacidade para 500ml, onde foi adicionado o substrato constituído da mistura de areia lavada peneirada, farinha de milho e água destilada (AMA) (NEME; HAWARE, 1980), submetidos a esterilização em autoclave (120°C, 1atm, 60 min, por dois dias consecutivos) e resfriados em temperatura ambiente. Posteriormente, foram adicionados

dez discos de meio de cultura BDA, contendo as estruturas fúngicas do patógeno. O substrato infestado foi incubado por vinte e um dias, a temperatura de 25° C e fotoperíodo de 12h, onde eram agitados a cada dois dias. Após esse período, o substrato foi misturado ao solo autoclavado (120°, 1atm, 2 h, por dois dias consecutivos) (ALFENAS & MAFIA, 2016), na proporção de 10g de substrato colonizado por kg de solo. O solo infestado ficou em repouso por doze dias, em vasos com capacidade para 3kg, e, após esse período realizou o plantio utilizando as sementes de coentro da cultivar Verdão (Isla sementes LTDA).

Cada vaso comportou três fileiras com 5g de sementes, sendo 2 vasos por isolado. Para as testemunhas utilizou apenas solo autoclavado. As plantas que apresentaram sintomas de tombamento foram utilizadas para o reisolamento dos patógenos e posterior identificação, completando os Postulados de Koch.

2.2.4 Caracterização molecular

A obtenção da massa micelial foi realizada a partir do cultivo de cada isolado em meio líquido de Sacarose-Extrato de Levedura-Asparagina, sem agitação, por sete dias, com fotoperíodo de 12h. O protocolo usado para extração do DNA foi o método CTAB adaptado de Doyle; Doyle (1987). As reações em cadeia de polimerase (PCR) para todos os genes foram preparadas em um volume final de 30µl: tampão 10X (3 µL), MgCl₂ 50 mM (0,9 µL), 10 mM DNTP's (2,4 µL), 10 µM de cada oligonucleotídeo (2 µL), 1 U Taq DNA polimerase (0,2 µL) e DNA (1 µL, 25 ng / µL). Os primers utilizados foram TEF-1α (ef1/ef2) e RPB2 (5f/7cR) (O'DONNELL et al. 1998; REEB et al. 2004). As condições de termociclagem para o gene TEF-1α consistiram em 35-40 ciclos a 94 °C por 35 s, 52 °C a 55 s e 72 °C a 2 min, com uma extensão final de 10 min a 72 °C. Para o gene RPB2 utilizou uma desnaturação inicial de 94 °C a 30 s, 55 °C a 30 s, 68 °C a 2 min e extensão final de 68 °C a 5 min de 40 ciclos. Os produtos de PCR foram enviados para purificação e sequenciamento na empresa MacroGen Inc. (Seoul, Coréia do Sul).

As sequências nucleotídicas foram montadas com o software Codon Code Aligner v. 6.0.2 e analisado visualmente para obter uma sequência consenso da região amplificada para todos os isolados. O arranjo dos nucleotídeos em posições ambíguas, foram corrigidos por comparação das sequências senso e anti-senso. As análises iniciais foram realizadas com o Algoritmo BLASTn (ALTSCHUL et al. 1990), disponível no banco de dados não redundante GenBank. Sequências de referência para várias espécies do gênero

Fusarium foram recuperadas do GenBank (Anexo) e usadas para reconstrução da árvore filogenética concatenada de Inferência Bayesiana.

Múltiplos alinhamentos para sequências de nucleotídeos foram obtidos usando o algoritmo MUSCLE (EDGAR, 2004) no programa MEGA v.6 (TAMURA et al. 2013). A filogenia de Inferência Bayesiana (BI) para as sequências de dados de TEF-1 α e RPB2 foram construídas individualmente no portal CIPRES (MILLER et al. 2010) usando MrBayes v.3.2.3 (RONQUIST et al. 2012). Ao melhor modelo evolutivo para as análises de posicionamento foi realizado nas sequências concatenadas por Partition Finder 2.1.1 de acordo com as Informações do Akaike Critério (AIC) (LANFEAR et al. 2012). As análises foram funcionando por 10 milhões de gerações usando quatro correntes e amostrados a cada 1000 gerações, para um total de 10.000 árvores. As primeiras 2.500 árvores foram descartadas da análise como uma fase de burn-in. Probabilidades posteriores (RANNALA, 1996) foram determinadas a partir de uma árvore de consenso de regra da maioria gerado com as 7500 árvores restantes. As árvores foram visualizadas usando o programa FigTree v.1.4 (tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree) e editadas no Inkscape (<https://inkscape.org/pt/>).

2.2.5 Caracterização morfológica e cultural

Na caracterização cultural foram utilizados discos de meio de cultura contendo o crescimento fúngico retirados das bordas das colônias (cultivados por 7 dias) e transferidos para novas placas contendo meio BDA sintético. No meio BDA sintético foram avaliados o diâmetro das colônias (mm), diariamente tomado no reverso das placas através da mensuração, em dois sentidos, com o auxílio de uma régua milimetrada. Utilizou a tabela de cores proposta por Rayner (1970) para observações da coloração e aspecto das colônias. Os tratamentos foram mantidos em incubadora Biochemistry Oxygen Demand (BOD) a 25 ± 1 °C e fotoperíodo de 12 horas. O experimento foi casualizado, com cinco repetições por isolado, sendo cada repetição uma placa de Petri.

Para produção dos microconídios foi utilizado o meio de cultura BDA (CROUS et al. 2009) e para os macroconídios utilizou o meio ágar folhas de cravo (CLA; FISHER et al. 1982). Os clamidósporos foram visualizados em meio ágar sintético pobre em nutrientes (SNA; NIRENBERG, 1976) como descrito por Leslie; Summerell (2006). Tamanho e forma dos macros e microconídios (n = 50) foram capturadas por uma câmera digital (Olympus IX2-SLP), anexado ao microscópio óptico com 400 X ampliação,

usando o software Cellsens Standard (SAMSUNG SDC-415®) para determinar o comprimento e a largura dos conídios.

3. RESULTADOS

3.1 Obtenção dos Isolados

Foram obtidos um total de trinta e oito isolados de *Fusarium* provenientes de áreas produtoras de coentro que apresentavam sintomas de amarelecimento das folhas, escurecimento de raízes e caule com constrição no colo das plantas, bem como falhas na germinação das sementes, murcha e tombamento nos estados de Alagoas, Pernambuco e Ceará (Tabela 1). Quatorze isolados foram obtidos de Alagoas, dezessete isolados foram obtidos de Pernambuco e sete isolados do Ceará.

Tabela 1- Localidades e códigos dos isolados obtidos no estudo.

Localidades	Códigos dos Isolados
Alagoas/AL	COUFAL0318, COUFAL0319, COUFAL0320, COUFAL0321, COUFAL0322, COUFAL0323, COUFAL0324, COUFAL0325, COUFAL0326, COUFAL0327, COUFAL0328, COUFAL0329, COUFAL0330, COUFAL0331
Pernambuco/PE	COUFAL0459, COUFAL0464, COUFAL0465, COUFAL0466, COUFAL0467, COUFAL0468, COUFAL0469, COUFAL0470, COUFAL0471, COUFAL0472, COUFAL0473, COUFAL0474, COUFAL0475, COUFAL0476, COUFAL0477, COUFAL0478, COUFAL0479
Ceará/CE	COUFAL0460, COUFAL0461, COUFAL0462, COUFAL0463, COUFAL0480, COUFAL0481, COUFAL0482

3.2 Teste de Patogenicidade

Todas as plântulas de coentro apresentaram tombamento a partir do décimo dia, após a germinação, quando expostas ao solo infestado com os isolados de *Fusarium* sp., exceto a testemunha. Nas raízes observou-se coloração escurecida em processo de apodrecimento, no colo da plântula foi observado manchas inicialmente encharcadas, tornando-se escuras com a progressão da doença. As lesões tornaram-se deprimidas, também de coloração escura e, em seguida, provocou uma constrição no caule levando ao tombamento e murcha das plântulas, sintomas semelhantes ao observados no campo (Figura 2).

Para a espécie *F. elaeidis* foi notado falhas na germinação, podendo ter ocorrido um maior percentual de tombamento de pré-emergência (Figura 2 E). Já para as espécies *F. fabacearum*, *F. gossypinum* e *F. falciforme* foi observado um maior índice de tombamento de pós-emergência iniciando os sintomas a partir do décimo dia após a germinação (Figura 2 F).

Figura 2: Teste de patogenicidade em *Coriandrum sativum*. **A, B, C:** Constrição no caulículo de plântulas de coentro. **D:** Constrição no caulículo e raízes escurecidas. **E:** Falhas na germinação. **F:** Plântulas de coentro com sintoma de tombamento. **G:** Plântulas de coentro assintomáticas.



Fonte: Autor, 2023

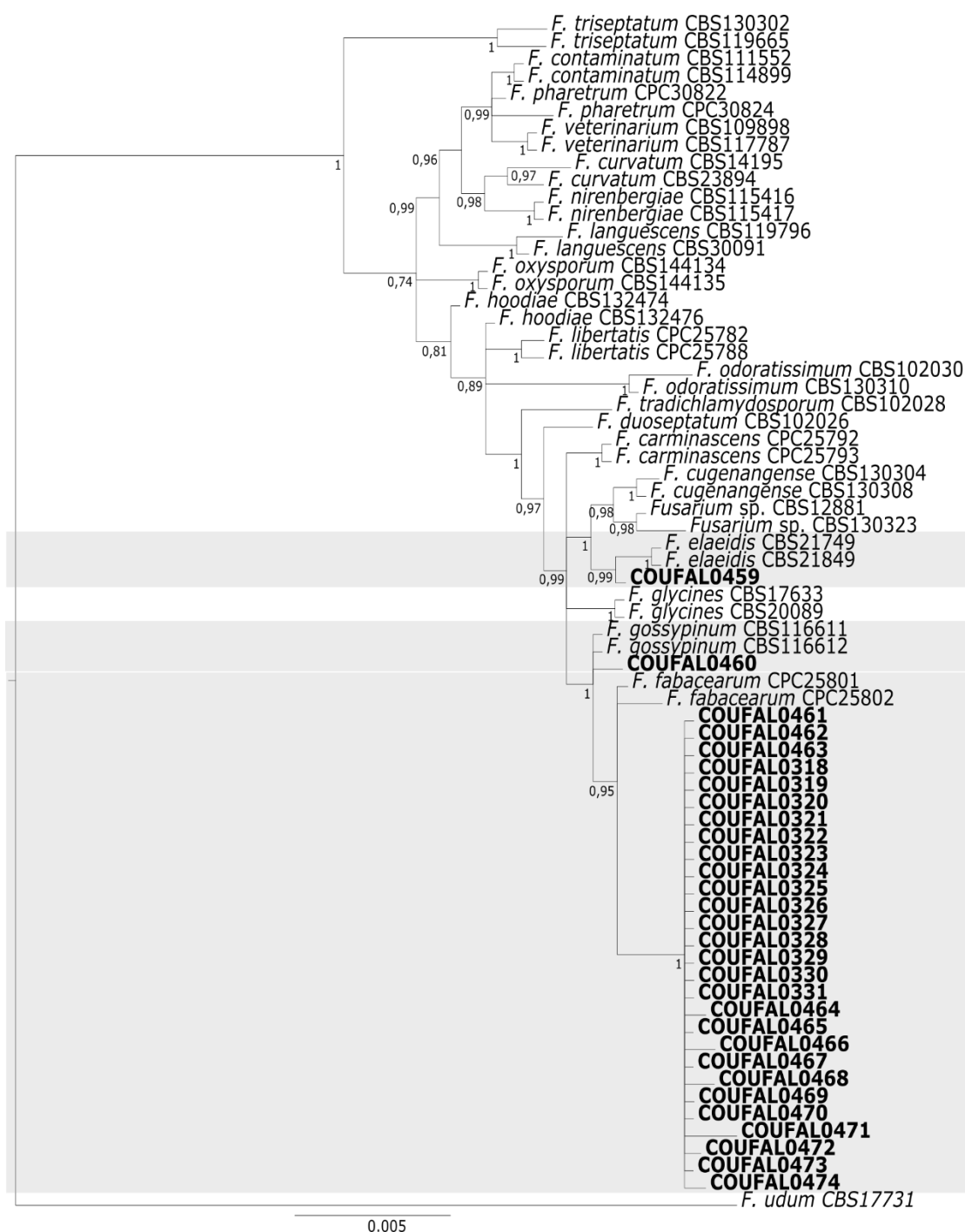
3.3 Caracterização Molecular

Baseados nos resultados da pesquisa BLAST do bando de dados do GenBank realizada com as sequencias parciais dos genes EF-1 α e RPB2, quatorze isolados de *Fusarium*, provenientes do estado de Alagoas, onze isolados de Pernambuco e três isolados do estado do Ceará apresentaram similaridade de 99% com a espécie *F. fabacearum*, seguido de um isolado do estado do Ceará que apresentou similaridade de 99,9% com a espécie *F. gossypinum*, e um isolado do estado de Pernambuco apresentou 99% de similaridade com a espécie *F. elaeidis*. Essas três espécies identificadas no estudo pertencem ao complexo *F. oxysporum* (FOSC). Além disso, três isolados do Ceará apresentaram 99% de similaridade com a espécie *F. falciforme*, que está inserida no complexo *F. solani* (FSSC).

Na árvore de Inferência Bayesiana com base nos dados concatenados (EF-1 α e RPB2) observa-se que os isolados COUFAL0318, COUFAL0319, COUFAL0320, COUFAL0321, COUFAL0322, COUFAL0323, COUFAL0324, COUFAL0325, COUFAL0326, COUFAL0327, COUFAL0328, COUFAL0329, COUFAL0330, COUFAL0331, COUFAL0461, COUFAL0462, COUFAL0463, COUFAL0464, COUFAL0465, COUFAL0466, COUFAL0467, COUFAL0468, COUFAL0469, COUFAL0470, COUFAL0471, COUFAL0472, COUFAL0473, COUFAL0474 agruparam-se com a espécie *F. fabacearum*, em um clado bem suportado. No entanto, o isolado COUFAL0460 agrupou-se com a espécie *F. gossypinum*, e o isolado COUFAL0459 com a espécie *F. elaeidis* confirmando assim, a posição taxonômica dos isolados do estudo dentro do complexo *F. oxysporum* (FOSC) (Figura 3).

O alinhamento concatenado com as espécies que pertencem ao FOSC apresentou 1697 caracteres, nos quais 69 são sítios parcimoniosamente informativos e 1628 sítios conservados. Os limites do locus nos alinhamentos foram: EF1: 1-746 e RPB2: 747-1697.

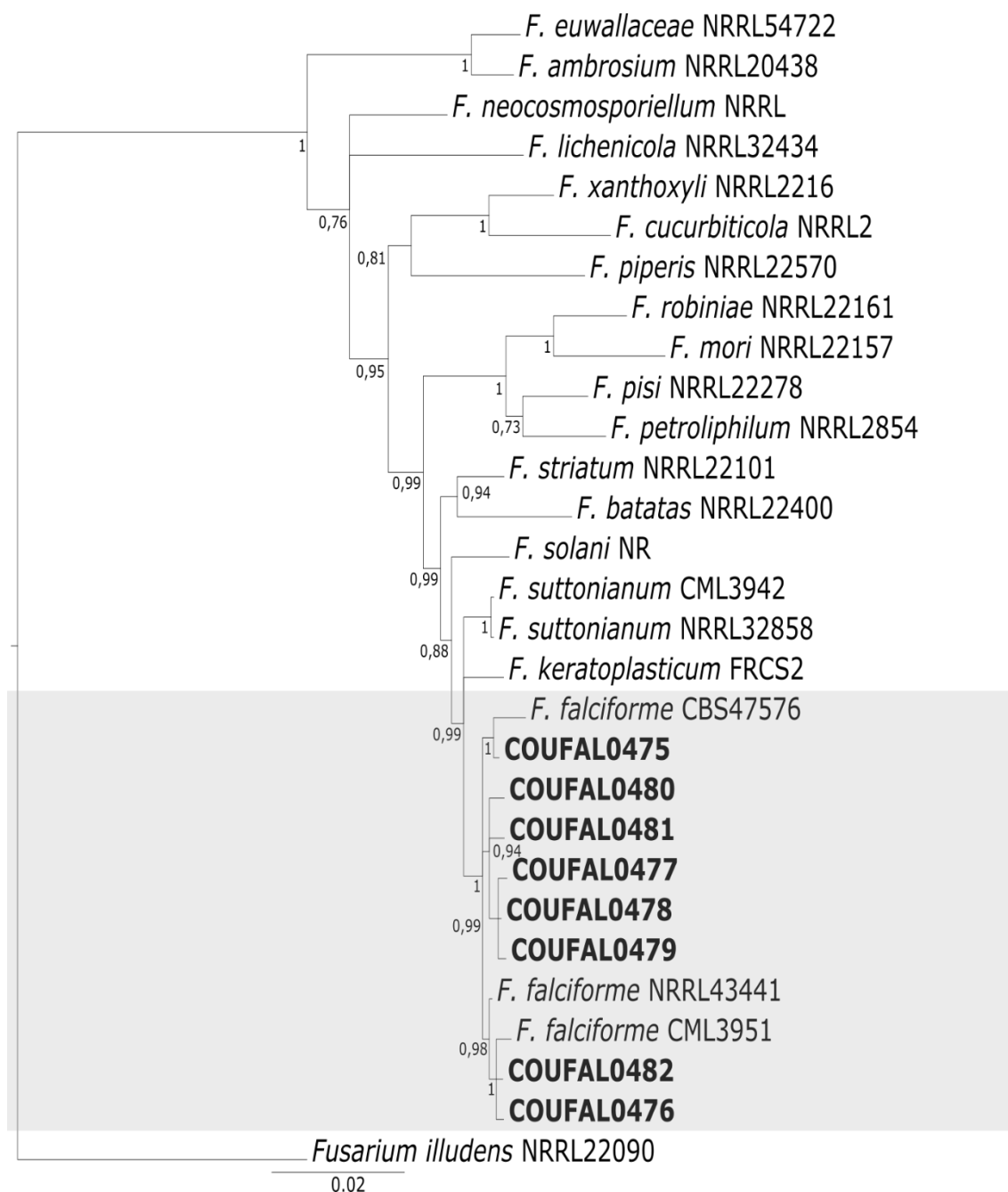
Figura 3: Árvore filogenética multi-locus inferida a partir da análise Bayesiana utilizando os genes EF-1 α e RPB2 para as espécies do complexo *Fusarium oxysporum* (FOSC). Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Fusarium udum* (CBS 17731).



De acordo com os resultados obtidos na árvore de Inferência Bayesiana com base nos dados concatenados (EF-1 α e RPB2) para os isolados COUFAL0475, COUFAL0476, COUFAL0477, COUFAL0478, COUFAL0479, COUFAL0480, COUFAL0481 e COUFAL0482 é possível observar que se agruparam com a espécie *F. falciforme* em um clado bem suportando dentro do complexo *F. solani* (FSSC) (Figura 4). O alinhamento concatenado com as espécies que pertencem ao FSSC apresentou 1559 caracteres, nos

quais 29 são sítios parcimoniosamente informativos e 1530 sítios conservados. Os limites do locus nos alinhamentos foram: TEF: 1-695 e RPB: 696-1559.

Figura 4: Árvore filogenética multi-locus inferida a partir da Análise Bayesiana utilizando os genes EF-1 α e RPB2 para espécies do complexo *Fusarium solani*. Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Fusarium illudens* (NRRL 22090).

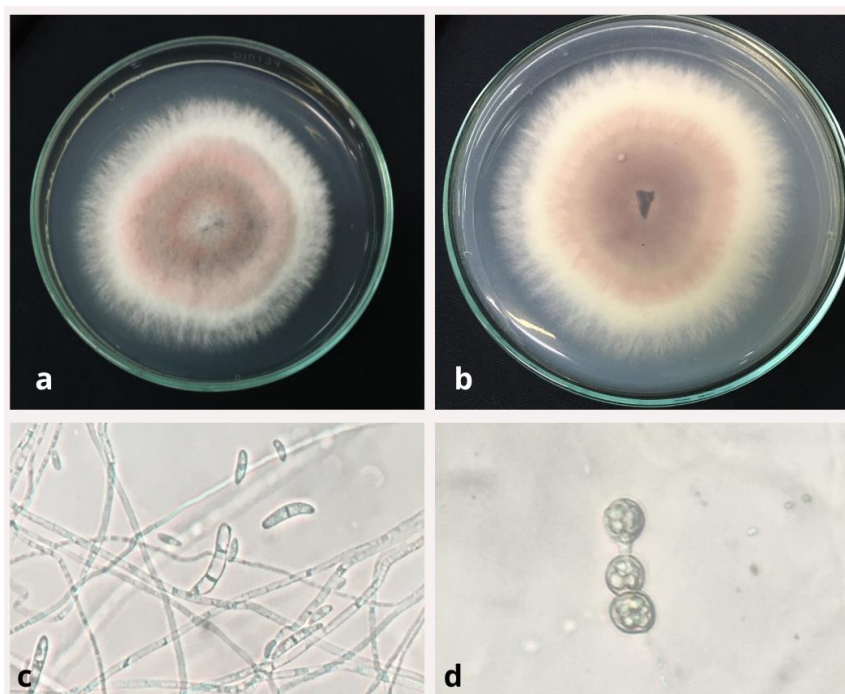


3.4 Caracterização Morfocultural

De acordo com os resultados obtidos na caracterização cultural referente a espécie *F. fabacearum*, as colônias em meio BDA sintético apresentaram coloração cinza vinácea no centro e borda branca, tanto no verso quanto no reverso, as margens das colônias eram irregulares e micélio aéreo abundante. A taxa de crescimento micelial em meio de cultura BDA sintético foi de 2,9 – 4,3 mm/dia (Figura 5 a e b).

Na caracterização morfológica os macroconídios, em meio ágar folhas de cravo, apresentaram formato ligeiramente curvado no ápice com três septos, medindo 13,68 – 25,88 μm ($\bar{X}$ = 18,54 μm ; n = 50) de comprimento e 1,84 – 3,18 μm ($\bar{X}$ = 2,46 μm ; n = 50) de largura. Os microconídios, em meio BDA, apresentaram-se hialinos, formato reniforme, com até 1 septo, variando de 3,54 – 8,16 μm ($\bar{X}$ = 5,64 μm ; n = 50) de comprimento e 1,41 – 2,83 μm ($\bar{X}$ = 2,05 μm ; n=50) de largura (Figura 5 c). Os clamidósporos eram abundantes, de parede espessa, verrugosos e formados em cadeia (Figura 5 d).

Figura 5 – Características morfoculturais da espécie *F. fabacearum*. **a e b.** Verso e reverso da colônia de *F. fabacearum*. **c.** Macroconídios e Microconídios. **d.** Clamidósporos.



Fonte: Autor, 2023

Os isolados de *F. gossypinum* apresentaram uma taxa média de crescimento micelial de 1,4 – 2,5 mm/dia, em meio BDA sintético. Suas colônias eram esbranquiçadas

e no reverso apresentavam-se branco rosado. A margem da colônia era irregular, serrilhada ou filiforme, com micélio aéreo abundante (Figura 6 a e b).

Com base nos resultados obtidos na caracterização morfológica os macroconídios, em meio ágar folha de cravo, apresentaram formato falcado e ligeiramente curvado no ápice com três a quatro septos, variando de 22 – 31 μm ($\bar{X}$ = 25,3 μm ; n=50) de comprimento e 2,7 – 4,0 μm ($\bar{X}$ = 3,2 μm ; n=50) de largura. Os microconídios em meio BDA, apresentaram-se hialinos, formato reniforme, sem septo, variando de 5,72 – 7,85 μm ($\bar{X}$ =6,59 μm ; n=50) de comprimento e 2,64 – 2,0 μm ($\bar{X}$ =2,33 μm ; n=50) de largura (Figura 6 c). Não foi observado a presença de clamidósporos.

Figura 6 – Características morfoculturais da espécie *F. gossypinum*. **a** e **b**. Verso e reverso da colônia de *F. gossypinum*. **c**. Macroconídio e microconídio.

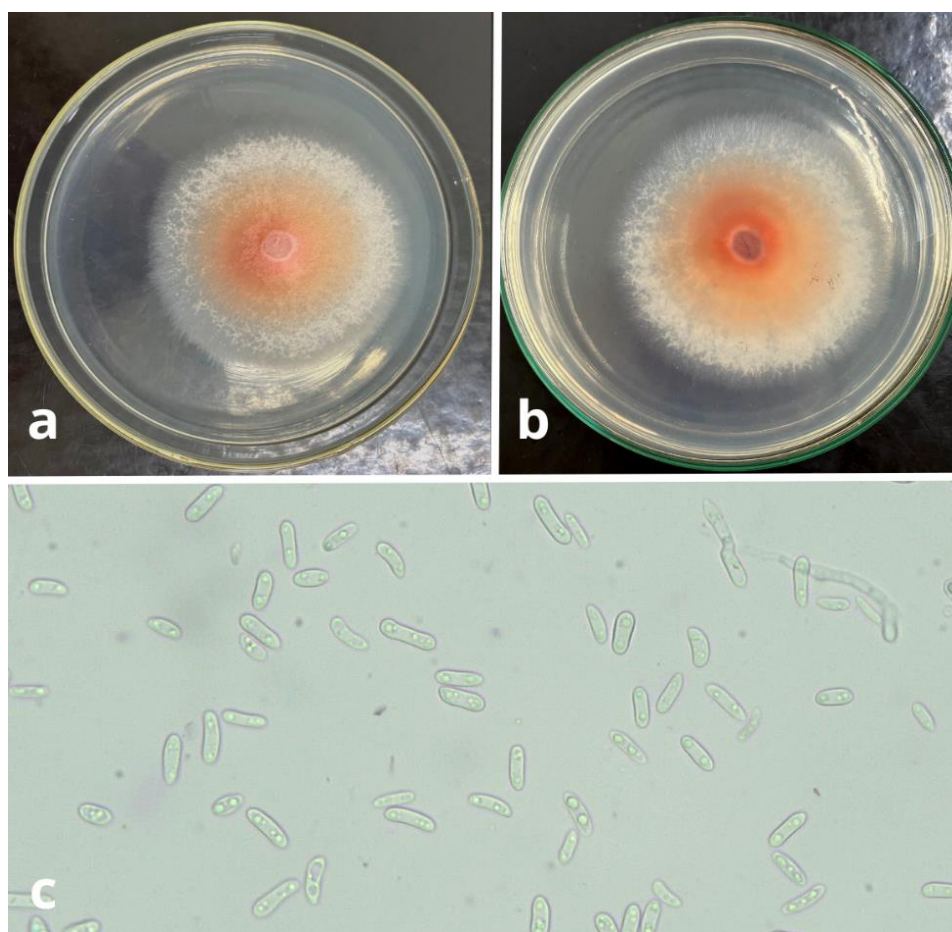


Fonte: Autor, 2023

A caracterização cultural da espécie *F. elaeidis* em meio BDA sintético, apresentou taxa média de crescimento micelial de 2,4-3,0 mm/dia. A coloração da colônia tanto verso quanto no reverso da placa foi salmão no centro e branco nas bordas. A margem da colônia era irregular, serrilhada ou filiforme, com micélio aéreo abundante (Figura 7 a e b).

Nos resultados da caracterização morfológica os microconídios em meio BDA apresentaram-se hialinos, de formato elipsoidal a reniforme, sem septo variando de 5 – 9,8 μm ($\bar{X}$ =7,4 μm ; n=50) de comprimento e 2 – 3,2 μm ($\bar{X}$ =2,8 μm ; n=50) de largura (Figura 7 c). Não foi observado a presença de macroconídios e de clamidósporos.

Figura 7 – Características morfoculturais da espécie *F. elaeidis*. **a e b.** Verso e reverso da colônia de *F. elaeidis*. **c.** Microconídios.

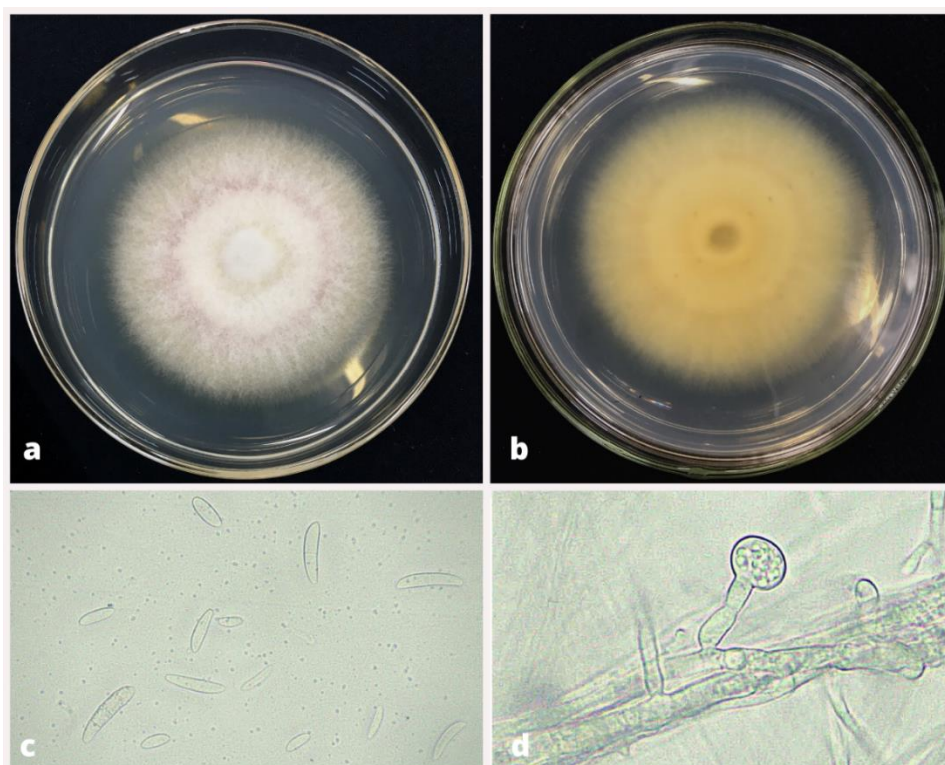


Fonte: Autor, 2023

A espécie *F. falciforme*, em meio BDA sintético, apresentou coloração na superfície da colônia esbranquiçado com um halo rosado no centro e amarelado no reverso da placa, com taxa de crescimento micelial de 3,6 – 4,5 mm/dia. A margem da colônia era serrilhada ou filiforme com abundante micélio aéreo (Figura 8 a e b).

Os macroconídios, em meio ágar folha de cravo, eram hialinos, com formato ligeiramente curvado, e possuíam até três septos, variando de 20,32 – 31,02 μm ($\bar{X}$ = 24,62 μm ; n=50) de comprimento e 2,4 – 3,8 μm ($\bar{X}$ = 3,6 μm ; n=50) de largura. Os microconídios, em meio BDA, eram hialinos com formatos cilíndricos a elipsoidal, sem septos variando de 4,2 – 7,1 μm ($\bar{X}$ = 5,62 μm ; n=50) de comprimento e 1,8 – 2,6 μm ($\bar{X}$ = 2,3 μm ; n=50) de largura (Figura 8 c). Os clamidósporos eram hialinos, redondos, simples ou em cadeia (Figura 8 d).

Figura 8 - Características morfo culturais da espécie *F. falciforme*. **a** e **b**. Verso e reverso da colônia de *F. falciforme*. **c**. Macroconídio e microconídio. **d**. Clamidósporos.



Fonte: Autor, 2023

4. DISCUSSÃO

De acordo com as análises filogenéticas utilizando os genes TEF-1 α e RPB2 foi possível identificar quatro espécies do gênero *Fusarium*: *F. fabacearum*, *F. gossypinum*, *F. elaeidis* e *F. falciforme* como sendo os patógenos responsáveis por causar amarelecimento das folhas, escurecimento de raízes e caule com constrição no colo das plantas, bem como falhas na germinação das sementes, murcha e tombamento nos estados de Alagoas, Pernambuco e Ceará.

Um estudo sobre a epitificação do complexo de espécies *F. oxysporum* (FOSC) foi realizado por Lombard et al. (2019) onde identificaram 21 espécies filogenéticas dos quais 15 foram fornecidas no trabalho, com base nesta pesquisa *F. fabacearum*, *F. gossypinum* e *F. elaeidis* estão inseridas neste complexo. A espécie *F. falciforme* pertence ao complexo *F. solani* (FSSC) (O'DONNELL et al., 2008; SCHROERS et al. 2016).

A etiologia do nome da espécie *F. fabacearum* refere-se a família Fabaceae, que inclui a planta hospedeira *Glycine max* (L.), a partir do qual este fungo foi isolado pela primeira vez na África do Sul em 2010 (LOMBARD et al. 2019). No Brasil, essa espécie foi relatada recentemente causando sintomas de escurecimento dos feixes vasculares, podridão radicular, murcha e desfolha, seguida de morte em plantas de *Syzygium malaccensis* [L.] Merryl and Perry (FARIAS et al. 2021).

A espécie *F. gossypinum* foi descrita pela primeira vez na Costa do Marfim em 1995 no algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) (LOMBARD et al. 2019) e, posteriormente, foi relatada no centro sul da China causando murcha em inhame chinês (*Dioscorea polystachya* Thunb.) (DONGZHEN et al. 2020).

O nome da espécie *F. elaeidis* refere-se a planta hospedeira *Elaeis* que pertence à família Arecaceae, no qual o fungo foi isolado pela primeira vez em 1949 (LOMBARD et al. 2019). Recentemente, essa espécie foi identificada em plantas ornamentais de *Grevillea gracilis* (Bartl.) causando sintomas de podridão da coroa, podridão do caule e raiz, e descoloração vascular (AIELLO et al. 2022).

Fusarium falciforme apesar de ser considerado um saprófita de solo, possui uma ampla gama de hospedeiros, incluindo humanos e plantas (NALIM et al. 2011). Estudos relatam que *F. falciforme* tem relação próxima com a espécie *F. paranaense* formando uma linha biológica e filogenética dentro do clado 3 do FSSC, que está associada à podridão radicular da soja em diferentes regiões do Brasil (COSTA et al. 2016).

Para uma correta identificação das espécies do gênero *Fusarium* torna-se necessário o uso de caracteres morfológicos associados com técnicas moleculares, devido à alta taxa de variabilidade genética presente neste grupo fúngico (AOKI et al. 2014). E com isso, o gene TEF-1 α apresenta uma efetiva função de DNA barcoding, por ser um gene de cópia única, ser altamente informativo entre as espécies, além de apresentar uma baixa taxa de mutação (O'DONNELL et al. 1998; GEISER et al. 2004; HYDE et al. 2014). Como também, o uso do gene RPB2, que é bastante informativo e confiável, dando uma boa resolução topológica nas árvores filogenéticas geradas (O'DONNELL et al. 2008).

De acordo com as análises filogenéticas individuais (ANEXO), observou-se neste estudo que o gene TEF- α foi capaz de distinguir a espécie *F. fabacearum*, *F. gossypinum* e *F. elaeidis* dentro do FOSSC e *F. falciforme* dentro do FSSC, fornecendo uma melhor resolução para discriminar as espécies dentro dos complexos. A região do gene RPB2 não conseguiu separar as espécies dentro de cada complexo, diferindo dos resultados de Lombard et al. 2019, que relata que o gene RPB2 forneceu uma boa resolução topológica, mas com menor suporte estatístico. No entanto, a combinação dos dois genes conseguiu distinguir as espécies e aumentou o suporte estatístico de cada clado formado e, assim, comprovando a identificação correta das espécies no estudo.

No coentro, algumas espécies de *Fusarium* já foram relatadas na literatura causando tombamento, podridão da raiz, podridão do caule e murcha como *F. oxysporum*, *F. moniliforme* e *F. solani* no Egito (NADA et al. 2014) e, recentemente, *F. semitectum* e *F. equiseti* foram identificadas causando tombamento em coentro na província de El-Minia Governorate, no Egito (LESSY et al 2022). A espécie *F. oxysporum* foi descrita causando sintomas de murcha na Itália e na China (Gilardi et al 2019; Xi Li et al. 2021). Yang et al. 2020 relataram *F. equiseti* causando podridão do caule e raiz na China. Contudo, este é o primeiro relato de *F. fabacearum*, *F. gossypinum*, *F. elaeidis* e *F. falciforme* causando tombamento em coentro no Brasil.

Todas as espécies de *Fusarium* identificadas neste estudo causaram sintomas de tombamento na cultura do coentro. Resultados semelhantes foram observados no trabalho de Xi Li et al. 2021, no qual apresentaram os mesmos sintomas observados na planta e período de incubação. Porém, o método de inoculação foi por meio de suspensão de conídios em que as raízes das plantas de coentro foram mergulhadas na suspensão com concentração de 1×10^7 conídio/mL, por 10 min. Com isso, é notado que o método de inoculação não influenciou nos sintomas causado por *Fusarium* spp. no coentro em

ambos os trabalhos. Testes de patogenicidade são extremamente importantes para os estudos epidemiológicos, pois são responsáveis pela identificação se um determinado fitopatógeno é específica em determinado hospedeiro ou possui mais de um hospedeiro (CAI et al., 2009).

No trabalho desenvolvido por Lessy et al. (2022) utilizaram o método de infestação do solo, onde o inóculo foi cultivado em 150g de grãos de cevada, contendo 200mL de água, durante duas semanas e, posteriormente, infestado ao solo autoclavado. As avaliações foram feitas durante 2 e 4 semanas após a semeadura e pode-se observar que as espécies *F. oxysporum*, *F. semitictum*, *F. solani* e *F. equiseti* causaram tombamento de pré-emergência. No presente estudo, foi observado falhas na germinação para a espécie *F. elaeidis*, podendo ter ocorrido um maior percentual de tombamento de pré-emergência. Já para as espécies *F. fabacearum*, *F. gossypinum* e *F. falciforme* foi observado um maior índice de tombamento de pós-emergência. Deste modo, a incidência de tombamento de pré e pós emergência pode variar de acordo com as condições do ambiente, suscetibilidade da planta hospedeira e a agressividade do agente patogênico (AMORIM, 2018).

As características morfológicas e cultural observada para a espécie *F. fabacearum* e *F. gossypinum* neste estudo, foram convergentes com os resultados descritos por Lombard, Crous & Lampr (LOMBARD et al. 2019). Já para a espécie *F. elaeidis* não foi observado a presença de macroconídios, divergindo dos resultados de Lombard et al. (2019). Para a espécie *F. falciforme* os resultados foram semelhantes aos de José et al. 2021. Contudo, segundo O' Donnell et al. 2022 a identificação ao nível de espécie com base na morfologia do gênero *Fusarium* não é possível devido a carência de caracteres visíveis que distinguem espécies intimamente relacionadas, sendo necessário o uso de análises filogenéticas para uma identificação mais acurada das espécies.

Com isso, os resultados deste trabalho mostram a identificação de quatro espécie pertencente ao gênero *Fusarium* associado ao tombamento em mudas de coentro no estado de Alagoas, Pernambuco e Ceará. Servindo de suporte para os pesquisadores que visam o método de controle para esta doença na cultura, além de auxiliar nos programas de melhoramento genético.

ANEXO

Tabela 2- Acessos do GenBank de isolados do gênero *Fusarium* utilizados nas análises filogenéticas das espécies pertencentes ao complexo *F. oxysporum*.

Espécies	Número de acesso à cultura	Número de acesso no GenBank	
		TEF1-alpha	RPB2
<i>Fusarium callistephi</i>	CBS 18753 ^T	MH484966	MH48487
<i>F. callistephi</i>	CBS 115423	MH484996	MH484905
<i>F. caminascens</i>	CPC 25792	MH485025	MH484934
<i>F. caminascens</i>	CPC 25793	MH485026	MH484935
<i>F. contaminatum</i>	CBS 111552	MH484991	MH484900
<i>F. contaminatum</i>	CBS 114899 ^T	MH484992	MH484901
<i>F. cugenangense</i>	CBS 130304	MH485012	MH484921
<i>F. cugenangense</i>	CBS 130308	MH485011	MH484920
<i>F. curvatum</i>	CBS 14195	MH484985	MH484894
<i>F. curvatum</i>	CBS 23894	MH484984	MH484893
<i>F. duoseptatum</i>	CBS 102026	MH484987	MH484896
<i>F. elaeidis</i>	CBS 21749	MH484961	MH484870
<i>F. elaeidis</i>	CBS 21849	MH484962	MH484871
<i>F. elaeidis</i>	COUFAL0459	-	-
<i>F. fabacearum</i>	CPC 25801	MH485029	MH484938
<i>F. fabacearum</i>	CPC 25802 ^T	MH485030	MH484939
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0318	OM678443	OM776944
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0319	OM678444	OM776945
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL020	OM678445	OM776946
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0321	OM678446	OM776947
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0322	OM678447	OM776948
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0323	OM678448	OM776949
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0324	OM678449	OM776950
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0325	OM678450	OM776951

<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0326	OM678451	OM776952
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0327	OM678452	OM776953
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0328	OM678453	OM776954
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0329	OM678454	OM776955
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0330	OM678455	OM776956
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0331	OM678456	OM776957
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0461	-	-
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0462	-	-
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0463	-	-
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0464	-	-
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0465	-	-
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0466	-	-
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0467	-	-
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0468	-	-
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0469	-	-
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0470	-	-
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0471	-	-
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0472	-	-
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0473	-	-
<i>F. fabacearum</i>	COUFAL0474	-	-
<i>F. glycines</i>	CBS 17633	MH484959	MH484868
<i>F. glycines</i>	CBS 20089	MH484979	MH484888
<i>F. gossypinum</i>	CBS 116611	MH484998	MH484907
<i>F. gossypinum</i>	CBS 116612	MH484999	MH484908
<i>F. gossypinum</i>	COUFAL0460	-	-
<i>F. hoodiae</i>	CBS 132474 ^T	MH485020	MH484929
<i>F. hoodiae</i>	CBS 132476	MH485021	MH484930
<i>F. languescens</i>	CBS 119796	MH485008	MH484917
<i>F. languescens</i>	CBS 30091	MH484983	MH484892

<i>F. libertatis</i>	CPC 25782	MH485023	MH484932
<i>F. libertatis</i>	CPC 25788	MH485024	MH484933
<i>F. nirenbergiae</i>	CBS 115416	MH484993	MH484902
<i>F. odoratissimum</i>	CBS 102030	MH484989	MH484898
<i>F. odoratissimum</i>	CBS 102010	MH485013	MH484922
<i>F. oxysporum</i>	CBS144134	MH485044	MH484953
<i>F. oxysporum</i>	CBS144135	MH485045	MH484954
<i>F. pharetrum</i>	CPC 30822	MH485042	MH484951
<i>F. pharetrum</i>	CPC 30824 ^T	MH485043	MH484952
<i>F. tardichlamydosporum</i>	CBS 102028	MH484988	MH484897
<i>F. udum</i> ^a	CBS 17731	MH484957	MH484866
<i>F. veterinarianum</i>	CBS 109898	MH484990	MH484899
<i>F. veterinarianum</i>	CBS 117787	MH485003	MH484912
<i>Fusarium</i> sp.	CBS 12881	MH484975	MH484884
<i>Fusarium</i> sp.	CBS 130323	MH485018	MH484927
<i>F. triseptatum</i>	CBS 25850	MH484964	MH484873
<i>F. triseptatum</i>	CBS 130302	MH485001	MH484910
<i>F. triseptatum</i>	CBS 119665	MH485007	MH484916
<i>F. triseptatum</i>	CBS 116619	MH485015	MH484924

^a outgroup

^T Ex-type culture

^{CBS} Culture collection of the Westerdijk Fungal Biodiversity Institute

^{CPC} Personal collection of P.W. Crous, held at Westerdijk Fungal Biodiversity Institute

-As espécies identificadas neste estudo estão destacadas em negrito

Tabela 3: Acessos do GenBank de isolados do gênero *Fusarium* utilizados nas análises filogenéticas das espécies pertencentes ao complexo *F. solani*.

Espécies	Número de acesso à cultura	Número de acesso no GenBank	
		TEF1-alpha	RPB2
<i>Fusarium ambrosium</i>	NRRL 20438	AF178332	JX171584
<i>F. euwallaceae</i>	NRRL 54722	JQ038007	JQ038028
<i>F. falciforme</i>	CML 3951	MK158927	MH709241
<i>F. falciforme</i>	NRRL 43441	DQ790478	DQ790566

<i>F. falciforme</i>	CBS 47576	LT906669	LT960558
<i>F. falciforme</i>	COUFAL0475	-	-
<i>F. falciforme</i>	COUFAL0476	-	-
<i>F. falciforme</i>	COUFAL0477	-	-
<i>F. falciforme</i>	COUFAL0478	-	-
<i>F. falciforme</i>	COUFAL0479	-	-
<i>F. falciforme</i>	COUFAL0480	-	-
<i>F. falciforme</i>	COUFAL0481	-	-
<i>F. falciforme</i>	COUFAL0482	-	-
<i>F. illudens</i> ^a	NRRL 22090	AF178326	JX171601
<i>F. keratoplasticum</i>	FRC S-2477	JN235712	JN235897
<i>F. lichenicola</i>	NRRL 32434	DQ246977	EF470161
<i>F. neocosmosporiellum</i>	NRRL 43467	EF452940	EF469979
<i>F. petrophilum</i>	NRRL 28546	DX6EVS3X01R	EU329544
<i>F. piperis</i>	NRRL 22570	DX6AE2ZY013	EU329513
<i>F. solani</i> f.sp. <i>batatas</i>	NRRL 22400	AF178343	EU329509
<i>F. solani</i> f.sp. <i>cucurbitae</i>	NRRL 22153	AF178346	EU329492
<i>F. solani</i> f. sp. <i>mori</i>	NRRL 22157	AF178359	EU329493
<i>F. solani</i> f.sp. <i>pisi</i>	NRRL 22278	AF178337	EU329501
<i>F. solani</i> f.sp. <i>robiniae</i>	NRRL 22161	AF178330	EU329494
<i>F. solani sensu stricto</i>	NRRL 66304	KT313611	KT313623
<i>F. striatum</i>	NRRL 20101	AF178333	EU329490
<i>F. suttoniana</i>	NRRL 32858	DQ247163	EU329630
<i>F. suttoniana</i>	CML 3942	MK158921	MH709236
<i>F. solani</i> f.sp. <i>xanthoxyli</i>	NRRL 22163	AF178328	EU329492

^a outgroup

-As espécies identificadas neste estudo estão destacadas em negrito

NRRL Agricultural Research Service Culture Collection, National Center for Agricultural Utilization Research, US Department of Agriculture, Peoria, IL, USA

CML Coleção Micológica de Lavras, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brazil

FRC Fusarium Research Center, Penn State University, USA

Figura 9 - Árvore filogenética inferida a partir da análise Bayesiana utilizando o gene TEF-1 α para as espécies do complexo *Fusarium oxysporum* (FOSC). Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Fusarium udum* (CBS 17731).



Figura 10 - Árvore filogenética inferida a partir da análise Bayesiana utilizando o gene RPB2 para as espécies do complexo *Fusarium oxysporum* (FOSC). Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Fusarium udum* (CBS 17731).

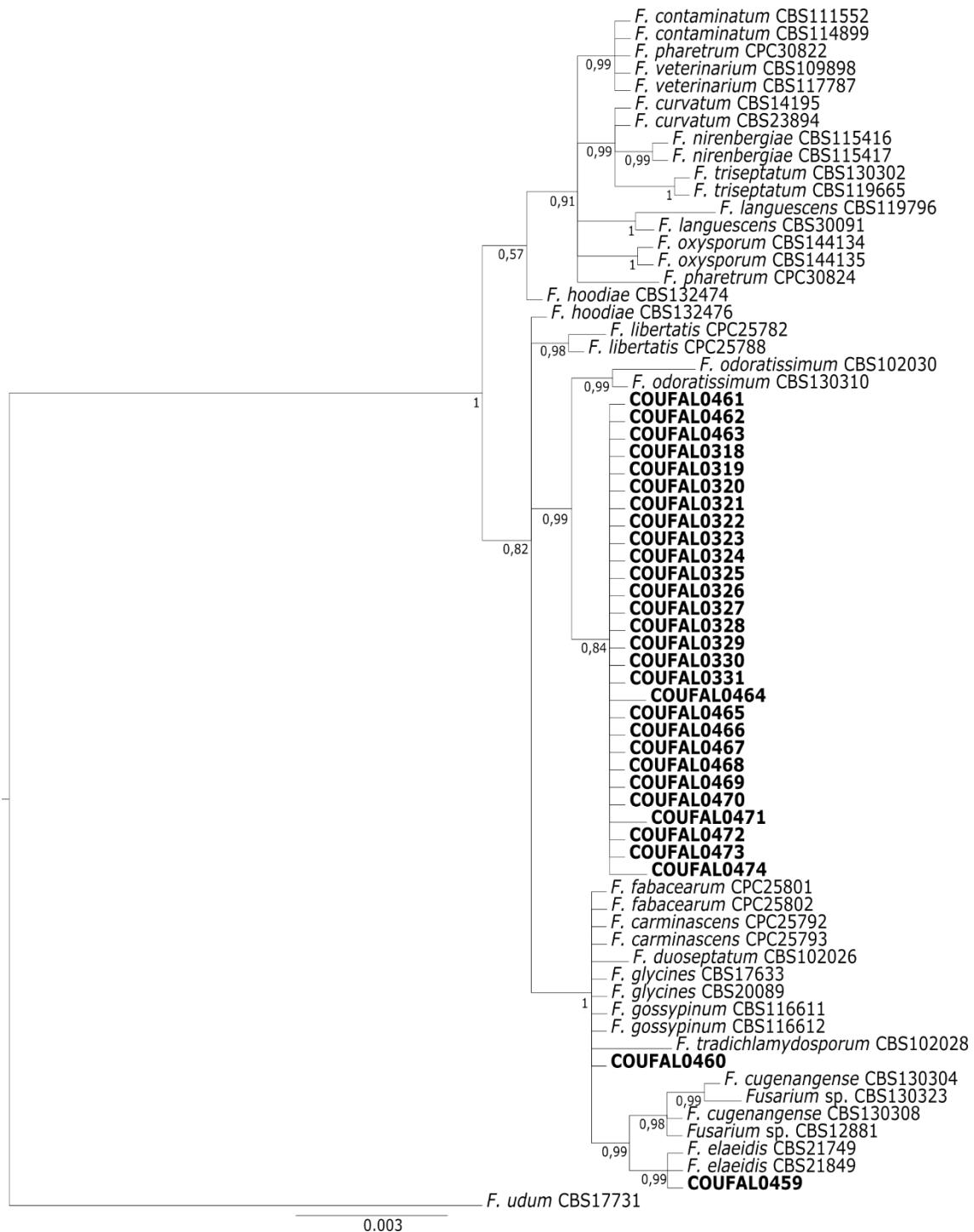


Figura 11 - Árvore filogenética inferida a partir da Análise Bayesiana utilizando o gene TEF-1 α para espécies do complexo *Fusarium solani*. Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Fusarium illudens* (NRRL 22090).

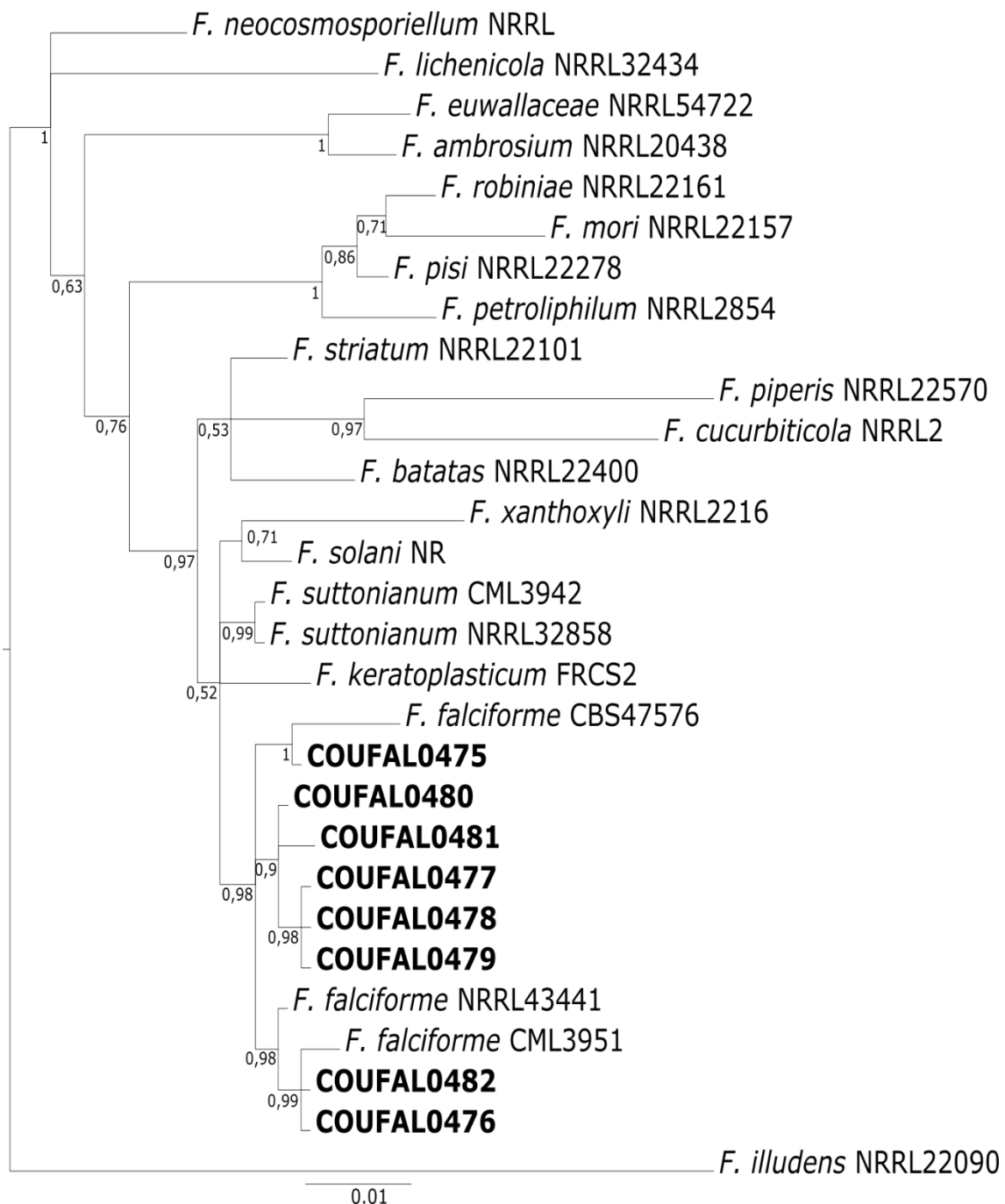
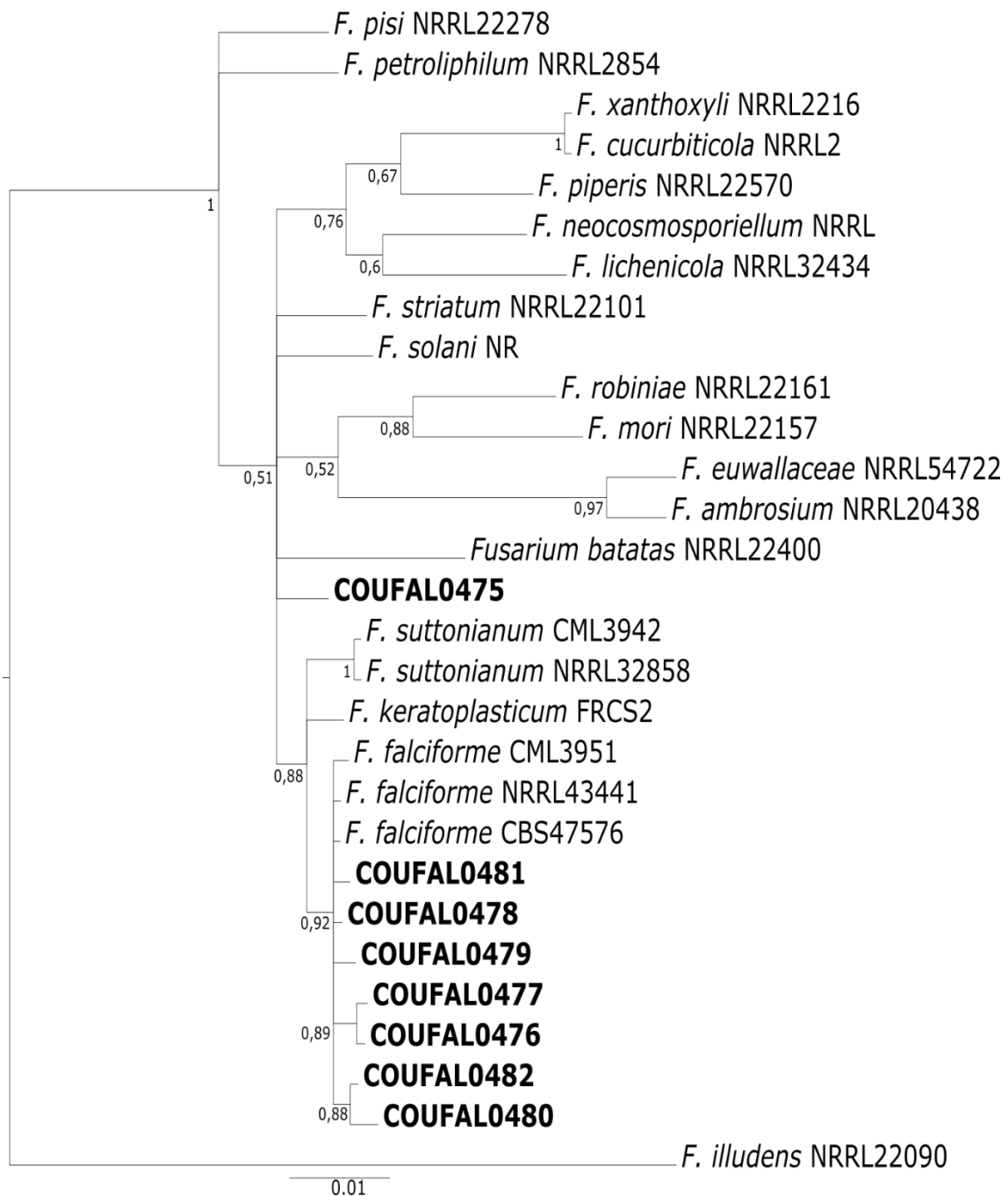


Figura 12 - Árvore filogenética inferida a partir da Análise Bayesiana utilizando o gene RPB2 para espécies do complexo *Fusarium solani*. Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Fusarium illudens* (NRRL 22090).



REFERÊNCIAS

- AIELLO, D.; GUSELLA, G.; VITALE, A.; POLIZZI, G. Characterization of *Fusarium nirenbergiae* and *F. elaeidis* causing diseases on Dipladenia and Grevillea plants. **European Journal of Plant Pathology**, v. 162, n. 4, p. 885-896, 2022.
- ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em Fitopatologia**. Viçosa: Editora UFV, 2007.
- ALTSCHUL, S.F.; LIPMAN, D.J. Protein database searches for multiple alignments. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 87, n. 14, p. 5509-5513, 1990.
- AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 5. Ed. Piracicaba: Agronômica Ceres Ltda, 2018.
- AOKI, T.; O'DONNELL, K.; GEISER, D. M. Systematics of key phytopathogenic *Fusarium* species: current status and future challenges. **Journal of General Plant Pathology**, v. 80, n. 3, p. 189-201, 2014.
- CASTELLANI, A. Maintenance and cultivation of the common pathogenic fungi of man sterile distilled water. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.70, p. 181-184, 1967.
- COSTA S. S.; MATOS, K. S.; TESSMANN, D. J.; SEIXAS, C. D. S.; PFENNING, L. H. *Fusarium paranaense* sp. Nov., a member of the *Fusarium solani* species complex causes root rot on soybean in Brazil. **Fungal Biology**, v.120, p.51-60, 2016.
- CROUS, P.W.; VERKLEY, G.J.M.; GROENEWALD, J.Z. **Fungal Biodiversity. CBS Laboratory manual series**. Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, The Netherlands, 2009.
- DÍAZ-NÁJERA., JOSÉ F. AYVAR-SERNA, S., MENA-BAHENA, A., BARANDA-CRUZ, E., VARGAS-HERNÁNDEZ, M., ALVARADO-GÓMEZ, O. G., FUENTES-ARAGÓN, D. First report of *Fusarium falciforme* (FSSC 3+ 4) causing wilt disease of *Phaseolus vulgaris* in Mexico. **Plant Disease**, v. 105, n. 3, p. 710-710, 2021.
- DONGZHEN, F.L.; XIAORONG, C.; WENWU, Y.; YUNLU, H.; YI, C.; JIA, C.; ZHIMIN, L.; LATAO, G.; TUHONG, W.; XU, J.; CHUNSHENG, G. *Fusarium* species and *Fusarium oxysporum* species complex genotypes associated with yam wilt in South-Central China. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p. 1964, 2020.
- DOYLE J.J.; DOYLE J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochem Bull**, v. 19, p.11-15, 1987.

EDGAR, R.C. MUSCLE: A multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. **BMC Bioinformatics**, v.5, p.1-19, 2004

FARIAS, O. R.; CRUZ, J. M. F. L.; VELOSO, J. S.; SILVA, H. A. O.; OLIVEIRA, M. D. M.; FÉLIX, M. R. F.; NASCIMENTO, L. C. First Report of Wilt of *Syzygium malaccensis* Caused by a Member of the *Fusarium oxysporum* Species Complex in Brazil. **Plant Disease**, v.105, n.4, p.1207-1207, 2021.

FISHER, N.L.; BURGESS, L.; TOUSSON, T.; NELSON, P.E. Carnation leaves as a substrate and for preserving cultures of *Fusarium* species. **Phytopathology**, v.72, p.151–153, 1982.

GILARDI, G.; FRANCO-ORTEGA, S.; GULLINO, M. L. First report of *fusarium* wilt of coriander (*Coriandrum sativum*) caused by *Fusarium oxysporum* in Italy. **Plant disease**, v. 103, n.5, 2019.

HAWARE, M.P.; Nene, Y.L. Influence of wilt at different stages on the yield loss in chickpea. **Tropical Grain Legume Bulletin**, v.19, p.38-40, 1980.

HYDE, K. D.; NILSSON, R. H.; ALIAS, S. A.; ARIYAWANSA, H. A. BLAIR, J. E.; CAI, L.; COCK, A.W.A.M.; DISSANAYAKE, A.J.; GLOCKLINH, S.L.; GOONASEKARA, I.D.; GORCZAK, M.; HAHN, M.; JAYAWARDENA, R.S.; KAN, J.A.L.V.; LAURENCE, M.H.; LEVESQUE, C.A.; LI, X.; LIU, J.K.; MAHARACHCHIKUMBURA, S.S.N.; MANAMGODA, D.S.; MARTIN, F.N., MCKENZIE, E.H.C.; MCTAGGART, A.R.; MORTIMER, P.E.; NAIR, P.V.R.; PAWLOWSKA, J.; RINTOUL, T.L.; SHIVAS, R.G.; SPIE, C.F.J.; SUMMERELL, B.A.; TAYLOR, P.W.J.; TERHEM, R.B.; UDAYANGA, D.; VAGHEFI, N.; WALTHER, G.; WILK, M.; WRZOSEK, M.; XU, J.C.; YAN, J.; ZHOU, N. One stop shop: backbones trees for important phytopathogenic genera. **Fungal Diversity**, v. 67, n. 1, p. 21-125, 2014.

INDEX FUNGORUM. Disponível em:

<http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>. Acesso em:24/01/2023.

INFANTE, N. B. **Etiologia do damping-off na cultura do coentro no município de Arapiraca-AL e efeito da interação dos patógenos na incidência da doença**. 2016. Dissertação de Mestrado (Mestrado em proteção de plantas) - Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2016.

LANFEAR, R.; CALCOTT, B.; HO, S. Y.; GUINDON, S. PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. **Molecular biology and evolution**, v. 29, n. 6, p. 1695–1701, 2012.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The *Fusarium* laboratory manual**. Blackwell: Ames, 2006.

LESSY, A.M.N.; ABDEL RHIM, A.S.; ABDEL-AZIZ, N.A.; SALEH, O.I.; ABDEL-LATIF, M.R. Survey on incidence of damping-off and root rot/wilt diseases of coriander (*coriandrum sativum* L.) in minia governorate. **Minia J. of Agric. Res. & Develop.**, v.42, n.2, p. 127-151, 2022.

LOMBARD, L.; SANDOVAL-DENIS, M.; LAMPRECHT, S.C.; CROUS, P.W. Epitypification of *Fusarium oxysporum* - clearing the taxonomic chaos. **Persoonia**, v.43, p.1-47, 2019.

LOMBARD, L.; SANDOVAL-DENIS, M.; LAMPRECHT, S.C.; CROUS, P.W. Epitypification of *Fusarium oxysporum* - clearing the taxonomic chaos. **Persoonia**, v. 43, p.1-47, 2009.

MARTINS, P.P.; BESERRA JR, J.E.A.; MATOS, K.S.; MOREIRA, S.I.; REIS, A.; INFANTE, N.B.; LIMA, G.S.A.; MELO, M.P. *Rhizoctonia* spp. causing damping-off, root rot and web blight on coriander in Brazil. **Journal of Plant Pathology**, v. 104, n. 4, p. 1517-1527, 2022.

MILLER, M. A. et al. The CIPRES Portal. Website. Disponível em: <https://www.phylo.org/>. Acesso em: 01 de junho. 2022.

NADA, M.; IMARAH, D.; HALAW, A. Efficiency of some silicon sources for controlling *damping-off* of coriander (*Coriandrum sativum* L.) in Egypt. **Egyptian Journal of Phytopathology**, v. 42, n. 2, p. 73-90, 2014.

NALIM, F. A.; SAMUELS, G. J.; WIJESUNDERA, R. L.; GEISER, D. M.; NALIM, F. A.; SAMUELS, G. J.; WIJESUNDERA, R. L.; GEISER, D. M.; SAMUELS, G. J. New species from the *Fusarium solani* species complex derived from perithecia and soil in the Old World tropics. **Mycologia**, v. 103, n. 6, p. 30, 2011.

NELSON, P. E.; TOUSSON, T. A.; MARASAS, W. F. O. *Fusarium* Species: an Illustrated Manual for Identification. **Philadelphia: Pennsylvania State University Press**, v.193, p. 1983.

NELSON, P. E.; TOUSSON, T. A.; MARASAS, W. F. O. *Fusarium* Species: an Illustrated Manual for Identification. Philadelphia: **Pennsylvania State University Press**, 1983.

NIRENBERG, H.I. Untersuchungen über die morphologische und biologische Differenzierung in der *Fusarium*-Sektion Liseola. Mitteilungen der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft **Berlin-Dahlem**. v.169, p. 1–117, 1976.

O'DONNELL, K.; SUTTON, D.A.; FOTHERGILL, A.; MCCARTHY, D.; RINALDI, M.; BRANDT, M.E.; ZHANG, N.; GEISER, D.M. Molecular phylogenetic diversity, multilocus haplotype nomenclature, and in vitro antifungal resistance within the *Fusarium solani* species complex. **Journal Clinical Microbiology**, v. 46, n. 8, p. 2477-2490, 2008.

O'DONNELL, K.; CIGELNIK, E.; NIRENBERG, H. I. Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. **Mycologia**, v.90, n.3, p. 465-493, 1998.

O'DONNELL, K.; SUTTON, D.A.; RINALDI, M. G.; SARVER, B. A.; BALAJEE, S. A.; SCHROERS, H. J.; Summerbell, R.C.; Robert, V.A.; Crous, P.W.; Zhang, N.; Aok, T.; Kyongyong, J.; Jongsun, P.; Lee, Y.H.; Kang, S.; Bongsoo, P.; Geiser, D.M. Internet accessible DNA sequence database for identifying fusaria from human and animal infections. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, p. 3708–3718, 2010.

OLIVEIRA, A. P.; MELO, P.C.T.; WANDERLEY JÚNIOS, L.J.G.; ALVES, A.U.; MOURA, M.F.; OLIVEIRA, A.N.P. Desempenho de genótipos de coentro em Areia. **Horticultura Brasileira**, v. 25, p. 252-255, 2007.

RANNALA, B.; YANG, Z. Probability distribution of molecular evolutionary trees: a new method of phylogenetic inference. **Journal of molecular evolution**, v. 43, n. 3, p. 304-311, 1996.

REEB, V.; LUTZONI, F.; ROUX, C. Contribution of RPB2 to multilocus phylogenetic studies of the euascomycetes (Pezizomycotina, Fungi) with special emphasis on the lichenforming Acarosporaceae and evolution of polyspory. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 32, p. 1036–1060, 2004.

RONQUIST, F.; TESLENKO, M.; VAN DER MARK, P.; AYRES, D. L.; DARLING, A.; HÖHNA, S.; LARGET, B.; LIU, L.; SUCHARD, M.A.; HUELSENBECK, J.P. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. **Systematic biology**, v. 61, n. 3, p. 539-542, 2012.

SCHROERS, H.; SAMUELS, G.J.; ZHANG, N.; CURTO, D.P.G.; JUBA, J.; GEISER, D.M. Epitypification of *Fusisporium (Fusarium) solani* and its assignment to a common phylogenetic species in the *Fusarium solani* species complex. **Mycologia**, v.108, n.4, p. 806–809, 2016.

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular biology and evolution**, v. 30, n. 12, p. 2725-2729, 2013.

WANDERLEY JÚNIOR, L.J.G.; MELO, P.C.T. Tapacurá: nova cultivar de coentro adaptada às condições subtropicais do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 43. Resumo. Recife: SOB (CD-Rom), 2008.

YANG, L.; GAO, W.; WANG, W.; ZHANG, C.; WANG, Y. First Report of Stem and Root Rot of Coriander Caused by *Fusarium equiseti* in China. **Plant Disease**, v. 105, n. 1, p. 220, 2021.

Capítulo II

AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE *IN VITRO* DE *Fusarium* spp. A ÓLEOS ESSENCIAIS

RESUMO

Espécies de *Fusarium* que são fitopatogênicas causam perdas na produção agrícola e deterioração nos produtos na pós-colheita. E isso, geralmente resulta em contaminação de alimentos, aumento da insegurança alimentar e aumento nos preços na comercialização. Devido ao mal uso de fungicidas sintéticos como estratégia de controle para o manejo das doenças. Com isso, por causa dos efeitos negativos associados a aplicação de agrotóxico, tornou-se necessário a busca de estratégias de controle alternativo que sejam mais acessíveis e ambientalmente seguras. E os produtos naturais como os óleos essenciais vem sendo estudados com mais frequência como um método de controle contra esses patógenos. Os óleos essenciais são resultantes dos metabólitos secundários das plantas, que apresentam na maioria das vezes moléculas de natureza terpênicas, como os fenóis, polifenóis, flavonoides, glicosídeos, taninos, alcaloides e outros compostos voláteis que inibem o crescimento e desenvolvimento de fungos. Diante disso, o objetivo do trabalho foi avaliar a sensibilidade *in vitro* dos óleos essenciais de cravo (*Eugenia caryophyllus*), canela (*Cinnamomum cassia*), citronela (*Cymbopogon winterianus*) e melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) em duas espécies de *Fusarium* (*F. fabacearum* e *F. falciforme*) que causam tombamento em coentro. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x5 (4 óleos essenciais x 5 concentrações), com cinco repetições, sendo a unidade experimental constituída por uma placa de Petri. Os tratamentos foram gerados pela combinação das concentrações (0; 12,2; 25; 50; 100 e 200 $\mu\text{L mL}^{-1}$) dos óleos essenciais (cravo, canela, citronela e melaleuca). As placas foram inoculadas com os patógenos *F. fabacearum* e *F. falciforme* por sete dias a 25 ± 2 °C. Para verificar a diferença entre os tratamentos foi calculado o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) e a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC). De acordo com os resultados obtidos, o óleo essencial de canela foi o que apresentou o melhor resultado a partir da concentração de 50 $\mu\text{L mL}^{-1}$ com ação fungicida no crescimento micelial para a espécie *F. fabacearum* e *F. falciforme* quando comparado com os outros óleos. E isso apresenta como promissor para o controle alternativo do tombamento na cultura do coentro.

Palavras-chave: Fungicida natural, *Coriandrum sativum*, Damping-of

ABSTRACT

Fusarium species that are phytopathogenic cause losses in agricultural production and post-harvest deterioration of products. And this often results in food contamination, increased food insecurity and increased market prices. Due to the misuse of synthetic fungicides as a control strategy for disease management. With that, because of the negative effects associated with the application of pesticides, it became necessary to search for alternative control strategies that are more accessible and environmentally safe. And natural products such as essential oils have been studied more frequently as a control method against these pathogens. Essential oils are the result of secondary metabolites of plants, which most often have molecules of a terpenic nature, such as phenols, polyphenols, flavonoids, glycosides, tannins, alkaloids and other volatile compounds that inhibit the growth and development of fungi. Therefore, the objective of this work was to evaluate the in vitro sensitivity of essential oils of clove (*Eugenia caryophyllus*), cinnamon (*Cinnamomum cassia*), citronella (*Cymbopogon winterianus*) and tea tree (*Melaleuca alternifolia*) in two species of *Fusarium* (*F. fabacearum* and *F. falciforme*) that cause damping off in coriander. The experimental design was completely randomized, in a 4x6 factorial arrangement (4 essential oils x 5 concentrations), with five replications, with the experimental unit consisting of a Petri dish. Treatments were generated by combining concentrations (0; 12.2; 25; 50; 100 and 200 $\mu\text{L mL}^{-1}$) of essential oils (clove, cinnamon, citronella and tea tree). The plates were inoculated with the pathogens *F. fabacearum* and *F. falciforme* for seven days at 25 ± 2 °C. To verify the difference between treatments, the mycelial growth velocity index (IVCM) percentage of inhibition of mycelial growth (PIC) was calculated. According to the results obtained, the essential oil of cinnamon was the one that presented the best result from the concentration of 50 $\mu\text{L mL}^{-1}$ with fungitoxic action on the mycelial growth for the species *F. fabacearum* and *F. falciforme* when compared with the other oils. And this presents as promising for the alternative control of *damping off* in coriander culture.

Keywords: Natural fungicide, *Coriandrum sativum*, *Damping-off*

1.INTRODUÇÃO

As doenças de plantas vêm aumentando na agricultura com o passar dos anos e concomitante a isso, o aumento da resistência dos patógenos a agroquímicos (AMORIM et al. 2016). Porém, o uso de fungicidas ainda é um dos principais métodos de controle utilizados para doenças em plantas e quando mal manejados, causam problemas ambientais, na saúde dos humanos e dos animais (PORTO; SOARES, 2012).

Alguns métodos de controle como o físico, biológico e o cultural podem ser adotados para reduzir o uso excessivo do controle químico (VENTURIA et al. 2017). No entanto, o controle alternativo surge com o intuito de gerar menos impacto ao ambiente e seres vivos. Para isso, novos estudos estão sendo feitos a partir do uso de extratos e óleos essenciais obtidos de plantas medicinais que são uma forma potencial de controle alternativo de doenças em plantas cultivadas (SEEPE et al. 2021).

Os óleos essenciais são obtidos de diversas partes das plantas, como cascas, folhas, flores e frutos e são misturas complexas de substâncias voláteis com propriedades antimicrobianas devido ao espectro de seus metabólitos secundários, como fenóis, polifenóis, flavonoides, glicosídeos, taninos e outros compostos (RISHI et al. 2003; SULTANA et al. 2013). O primeiro registro de um país a usar os óleos essenciais foi o Egito Antigo, 3.000 a. C. para fins curativos, cosméticos e como produtos aromáticos (SANTOS, 2011).

Trabalhos realizados com o uso de óleos essenciais, como de Steffen et al. (2019) e Marino (2020) obtidos de plantas medicinais, mostraram o potencial das plantas no controle de fitopatógenos, por apresentarem ação fungicida direta e inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos.

O uso de produtos vegetais contra patógenos fúngicos pode dificultar o aparecimento de resistência devido à presença de diferentes compostos antimicrobianos, além de serem mais seguros, pois apresentam baixa toxicidade ao ambiente e humanos (BRINKER, 1998; FANDOHAN et al. 2004; CALVO et al. 2011). São facilmente biodegradáveis por serem instáveis com temperaturas elevadas e, consequentemente, não persistem no meio ambiente por muito tempo quando comparado com os fungicidas convencionais (MARTINEZ, 2012).

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar a sensibilidade *in vitro* dos óleos essenciais de cravo (*Eugenia caryophyllus*), canela (*Cinnamomum cassia*), citronela (*Cymbopogon winterianus*) e melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) em duas

espécies de *Fusarium* (*F. fabacearum* e *F. falciforme*) que causam tombamento na cultura do coentro.

2.METODOLOGIA

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia Molecular do *Campus* de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), localizado no km 85 da BR 101 Norte (9°27'54.71" S – 35°49'39.27" O) no Município de Rio Largo.

Os isolados utilizados no experimento foram obtidos a partir do estudo de identificação de fitopatógenos que causam tombamento em plantas de coentro, em áreas produtoras do nordeste do Brasil. Esses isolados foram identificados por Inferência Bayesiana baseados nas análises multi-locus dos genes fator de alongamento (TEF-1 α) e RNA polimerase II (RPB2), como *Fusarium fabacearum* (COUFAL0462) e *F. falciforme* (COUFAL0478). A escolha das espécies para realização dos experimentos é justificada pela prevalência das mesmas em todas as áreas de plantio da cultura, exceto para *F. falciforme* que esteve presente apenas nos estados de Pernambuco e Ceará.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial triplo 4 x 2 x 5 (4 óleos essenciais x 2 patógenos x 5 concentrações). Os óleos utilizados foram cravo folhas (*Eugenia caryophyllus*), canela da china (*Cinnamomum cassia*), citronela (*Cymbopogon winterianus*) e melaleuca (*Melaleuca alternifolia*). As concentrações consistiram em 0; 12,5; 25; 50; 100 e 200 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Para cada tratamento foram empregadas cinco repetições, sendo a unidade experimental representada por uma placa de Petri.

Os óleos essenciais foram adquiridos em loja de produtos naturais no comércio local, sendo todos da marca Via Aroma. O método de extração dos óleos foi por destilação de acordo com metodologia e especificações próprias dos fabricantes (Via Aroma, 2023).

Discos de micélio de 5 mm de diâmetro das espécies *F. fabacearum* e *F. falciforme* foram removidos da margem das colônias, com 7 dias de crescimento em meio de Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e depositados em placas de Petri contendo meio BDA sintético (20 mL de meio de cultura por placa de Petri), suplementado com os óleos essenciais nas concentrações de 12,5; 25; 50; 100 e 200 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Para a testemunha utilizou apenas BDA sintético na concentração de 0 $\mu\text{L mL}^{-1}$.

As placas contendo os patógenos foram incubadas em estufa Biochemical Oxygen Demand (BOD) a 25° C, fotoperíodo de 12 h. Aos 7 dias, após a inoculação, foi realizada

a avaliação do crescimento micelial do fungo que consistiu em medições do diâmetro das colônias, obtidas pela média de duas medições perpendiculares, utilizando paquímetro digital. Os resultados foram submetidos ao cálculo do índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) e a porcentagem de inibição micelial (PIC) de acordo com as fórmulas (1 e 2).

$$IVCM = \frac{\Sigma \text{Diâmetro médio real} - \text{Diâmetro médio anterior}}{\text{Número de dias após a inoculação}} \quad (1)$$

$$PIC = \frac{(\text{Crescimento da testemunha} - \text{crescimento do tratamento}) \times 100}{\text{Crescimento da testemunha}} \quad (2)$$

Para a avaliação da ação fungistática e fungicida dos óleos essenciais, discos de BDA sintético, contendo o crescimento do patógeno, que tiveram o seu crescimento micelial inibido na presença dos óleos essenciais foram transferidos para novas placas de Petri contendo apenas meio de cultura Ágar-água (AA). As placas foram incubadas durante 7 dias em BOD, a 25° C e fotoperíodo de 12 h. A ação fungistática foi considerada quando o patógeno voltou a crescer em meio AA, apresentando inibição do crescimento micelial apenas quando em contato com o óleo essencial. A ação fungicida foi considerada quando o crescimento micelial foi inibido por completo, não sendo observado o crescimento do patógeno em meio AA.

3.RESULTADOS

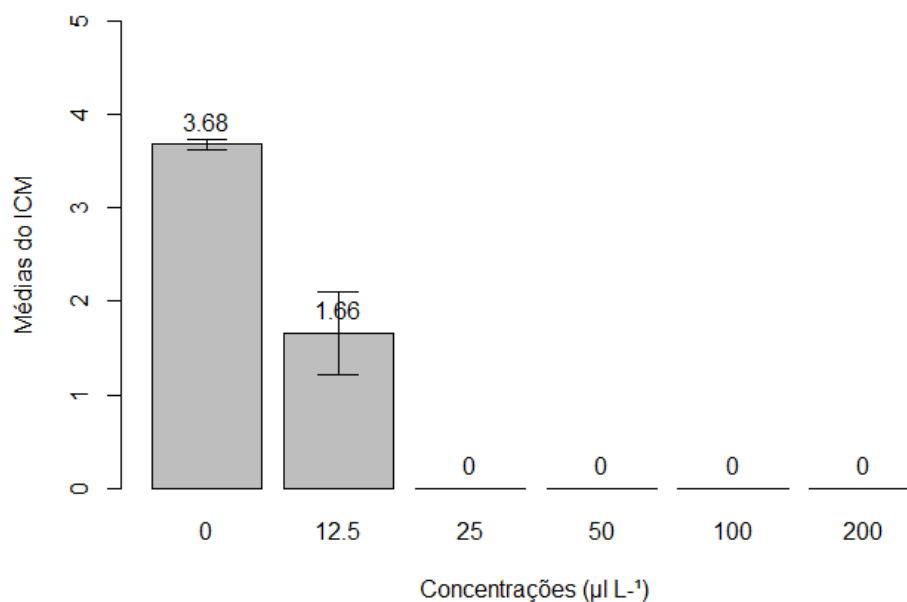
Os óleos essenciais de cravo folha (*Eugenia caryophyllus*), canela (*Cinnamomum cassia*), citronela (*Cymbopogon winterianus*) e melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) reduziram o crescimento micelial *in vitro* de *Fusarium fabacearum*.

O óleo de cravo folha apresentou inibição total do crescimento micelial a partir de 25µL mL⁻¹ (Figura 1A e Figura 3). O óleo de canela inibiu o crescimento do patógeno a partir da concentração de 50µL mL⁻¹ (Figura1B e Figura 3). Contudo, a inibição do crescimento micelial de *F. fabacearum* no óleo de citronela foi observado apenas na maior concentração testada (200µL mL⁻¹) (Figura 1C e Figura 3). E o óleo de melaleuca não conseguiu inibir o crescimento em nenhuma concentração testada, apresentando uma diminuição na concentração de 200µL mL⁻¹, quando comparado as demais concentrações (Figura 1D e Figura 3).

Figura 1 – Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) de *Fusarium fabacearum* nas diferentes concentrações dos óleos essenciais.

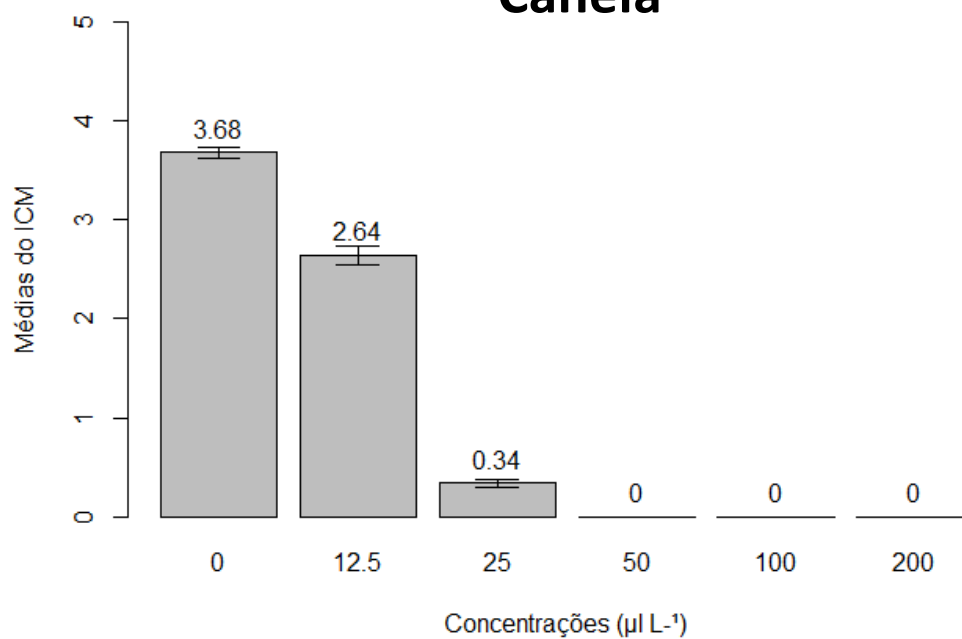
A

Cravo Folha

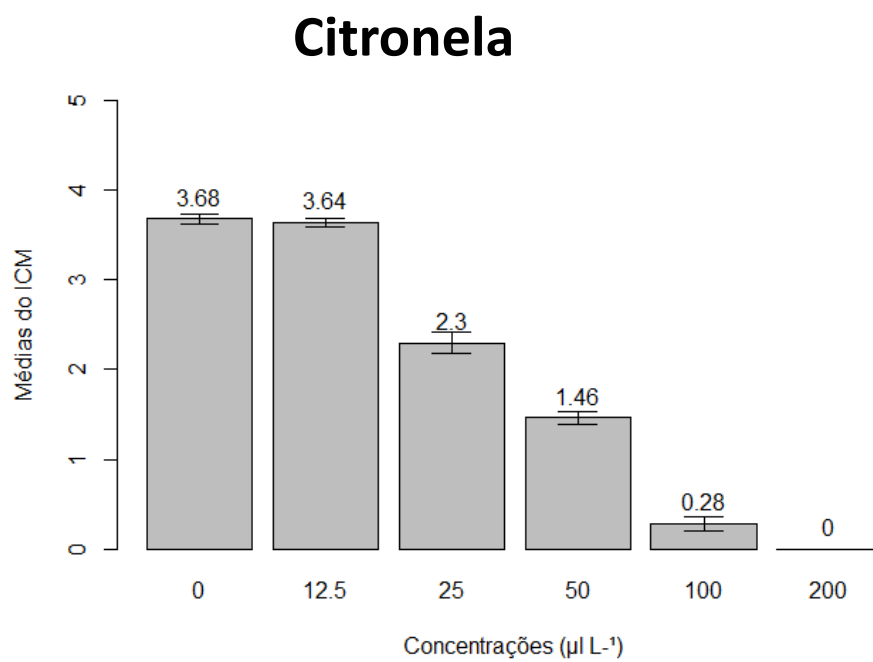


B

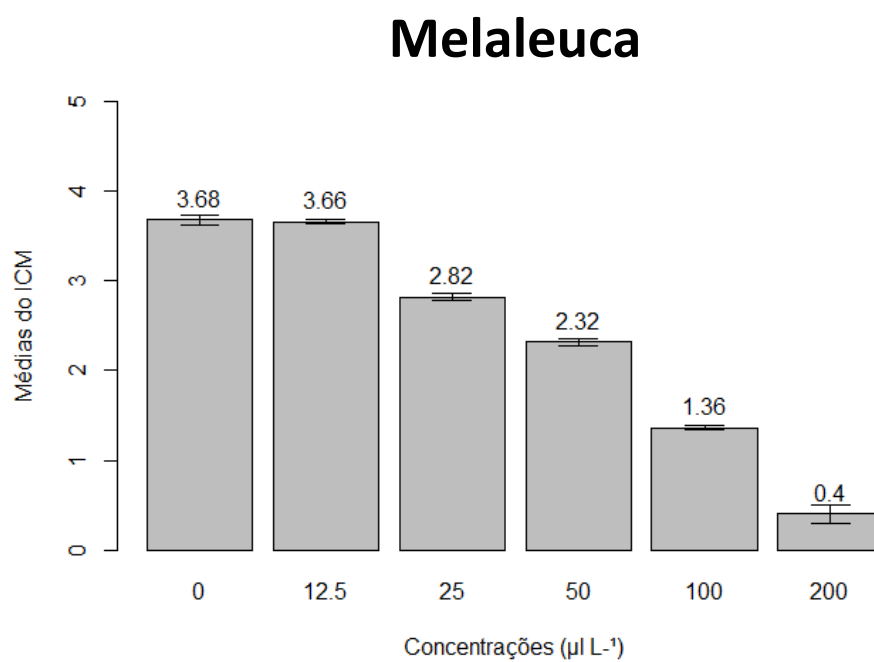
Canela



C



D

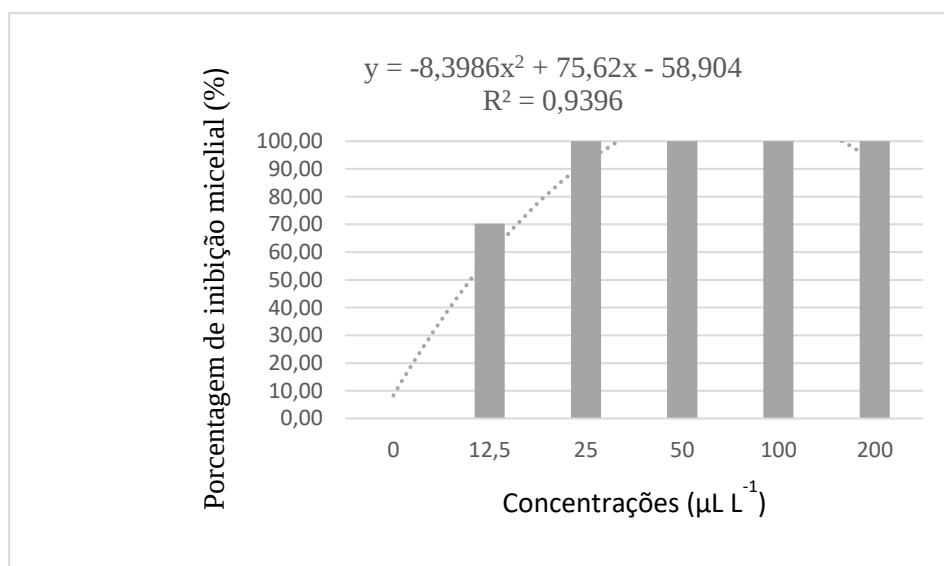


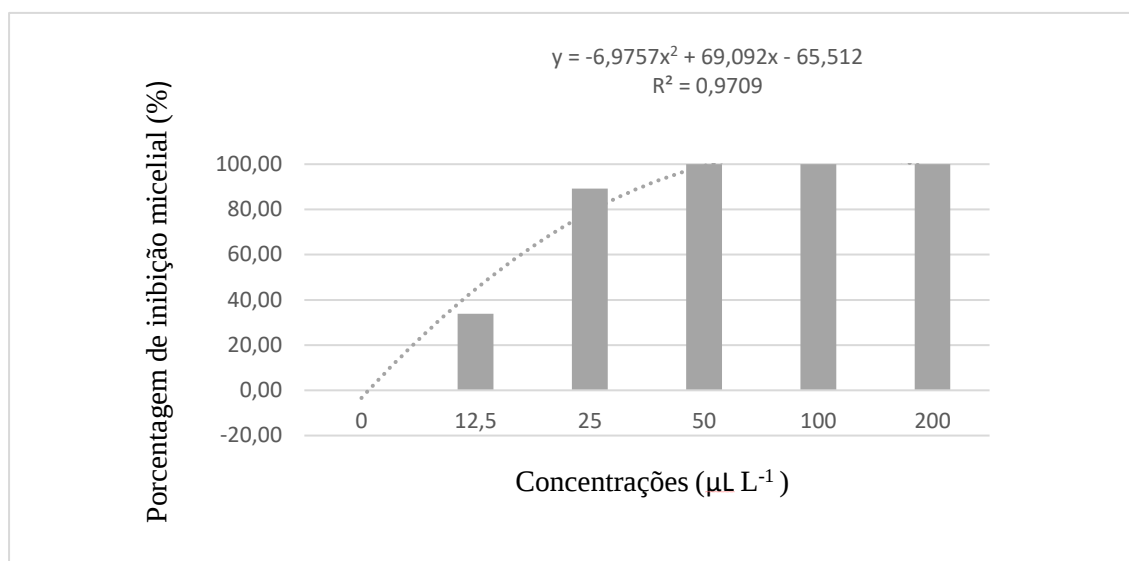
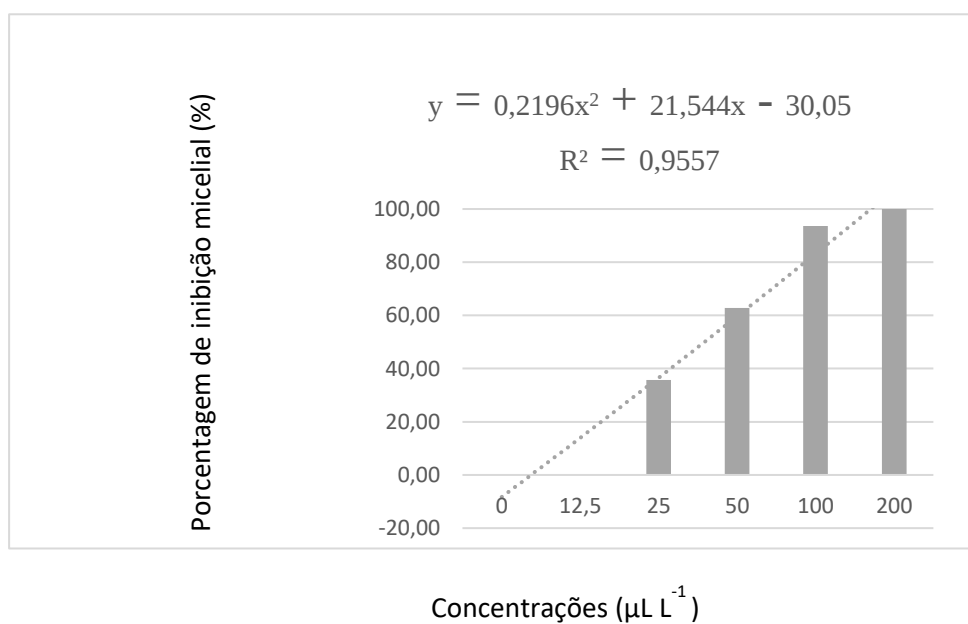
Com base nos resultados obtidos na Porcentagem de inibição micelial (PIC) para a espécie *F. fabacearum* o óleo essencial de cravo inibiu 100% o crescimento micelial a partir de $25\mu\text{L mL}^{-1}$ (Figura 2A e Figura 3). Foi observado 100% de inibição do crescimento a partir de $50\mu\text{L mL}^{-1}$ para o óleo de canela (Figura 2B e figura 3). No entanto, a inibição total do crescimento micelial do fungo no óleo de citronela foi observado apenas na maior concentração testada ($200\mu\text{L mL}^{-1}$) (Figura 2C e Figura 3). E o óleo de melaleuca não inibiu 100% o crescimento micelial em nenhuma concentração testada, apresentando uma diminuição na concentração de $200\mu\text{L mL}^{-1}$, quando comparado com as demais concentrações (Figura 2D e Figura 3).

Figura 2 - Porcentagem de inibição micelial (PIC) *Fusarium fabacearum* nas diferentes concentrações dos óleos essenciais.

A

Cravo Folha



B**Canela****C****Citronela**

D

Melaleuca

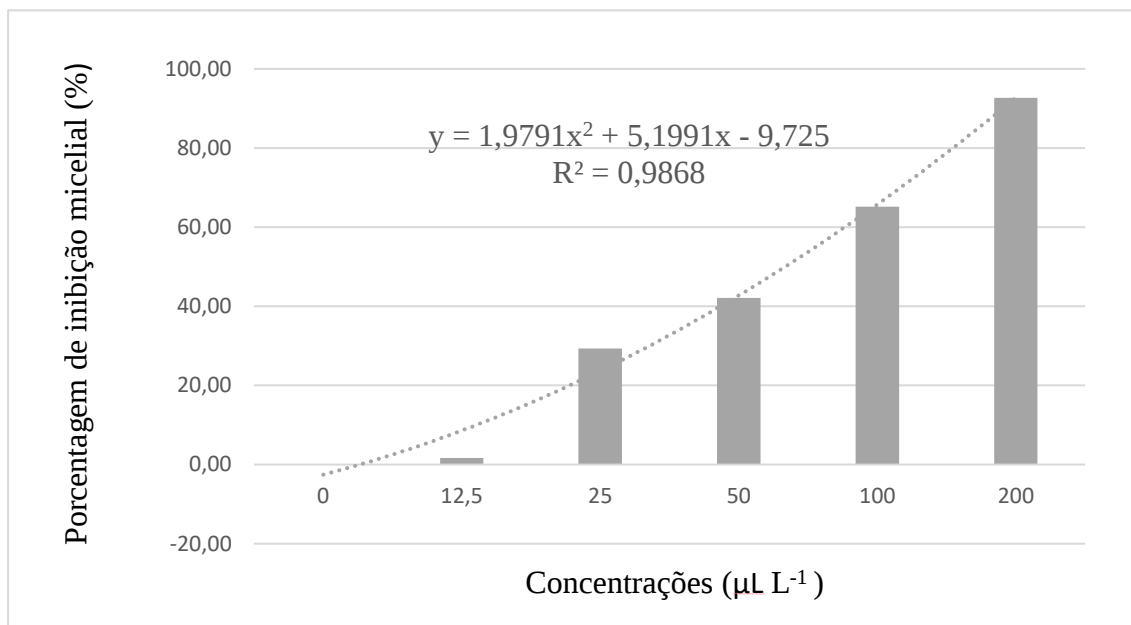
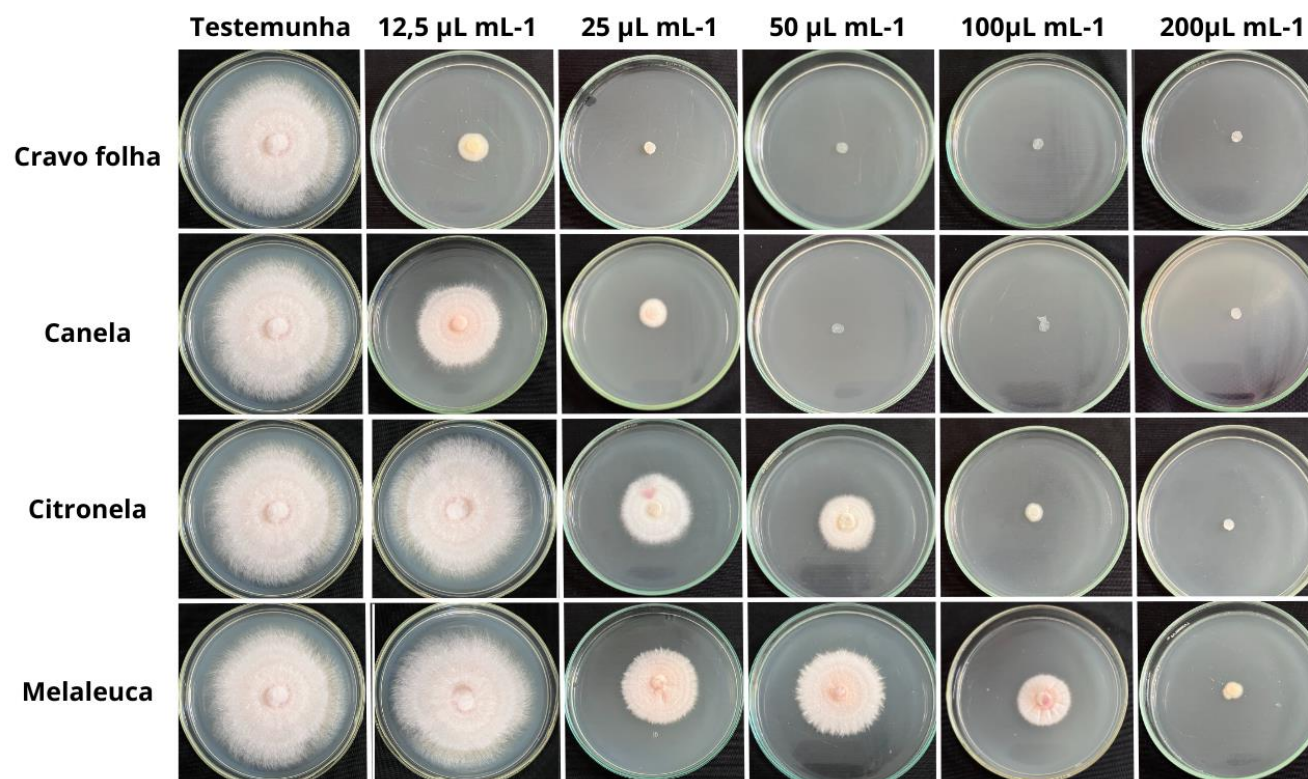


Figura 3 - Efeito das concentrações dos óleos essenciais no crescimento micelial de *Fusarium fabacearum*.

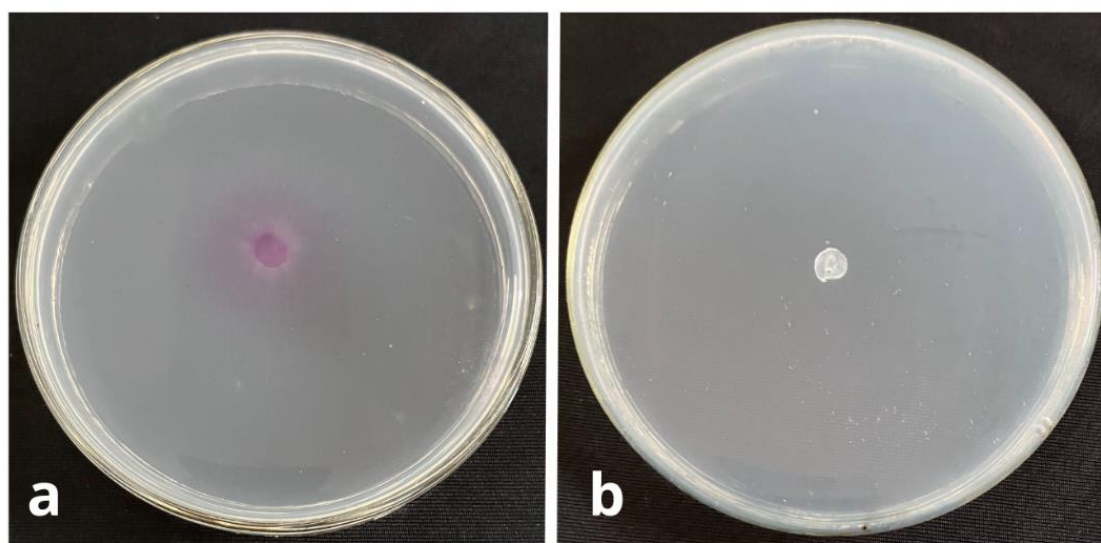


Fonte: Autor, 2023

Na avaliação da ação fungistática e fungicida dos óleos essenciais para a espécie *F. fabacearum* foi possível observar a ação fungistática após 48h do patógeno, quando submetido aos óleos de cravo (25 e 50 μ L mL⁻¹) e citronela (200 μ L mL⁻¹).

O óleo essencial de canela a partir da concentração de 50 μ L mL⁻¹ teve ação fungicida, ou seja, mesmo após ser transferido para o meio com apenas AA observou-se que não houve a retomada do crescimento, inibindo 100% o patógeno (Figura 3).

Figura 4 - Efeito das concentrações dos óleos essenciais na ação fungistática e fungicida no crescimento micelial de *F. fabacearum*. **a.** Ação fungistática. **b.** Ação fungicida.

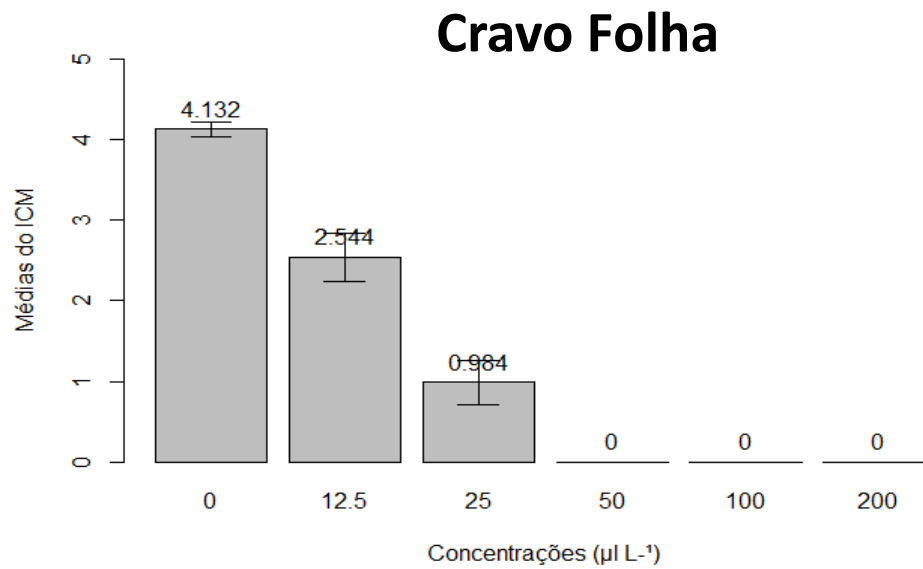


Fonte: Autor, 2023

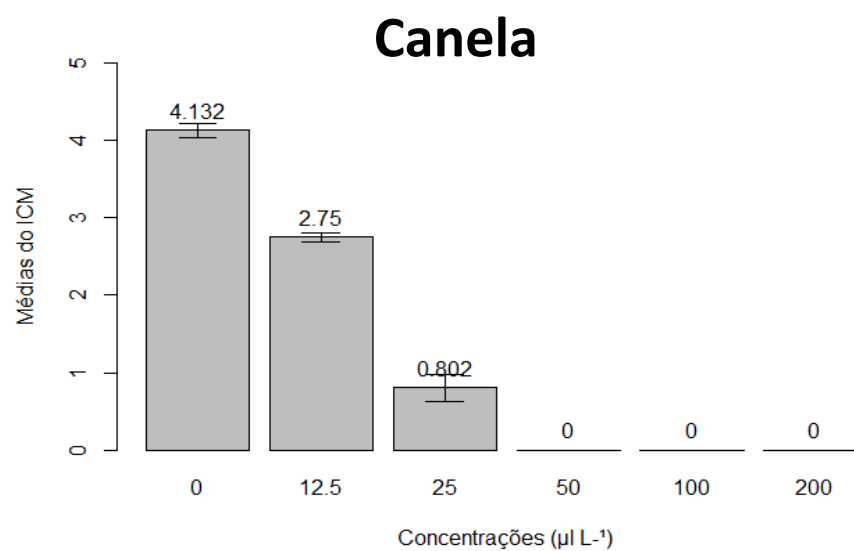
Nos resultados obtidos para a espécie *F. falciforme* o óleo de cravo folha e canela inibiram 100 % o crescimento do patógeno a partir da concentração de 50 μ L mL⁻¹ (Figura 5A e B; figura 7). Quando o patógeno foi submetido ao óleo de citrolena observou que apenas na concentração de 200 μ L mL⁻¹ que não houve o crescimento (Figura 5C e Figura 7). No entanto, óleo de melaleuca não inibiu o crescimento em nenhuma concentração testada (Figura 5D e Figura 7).

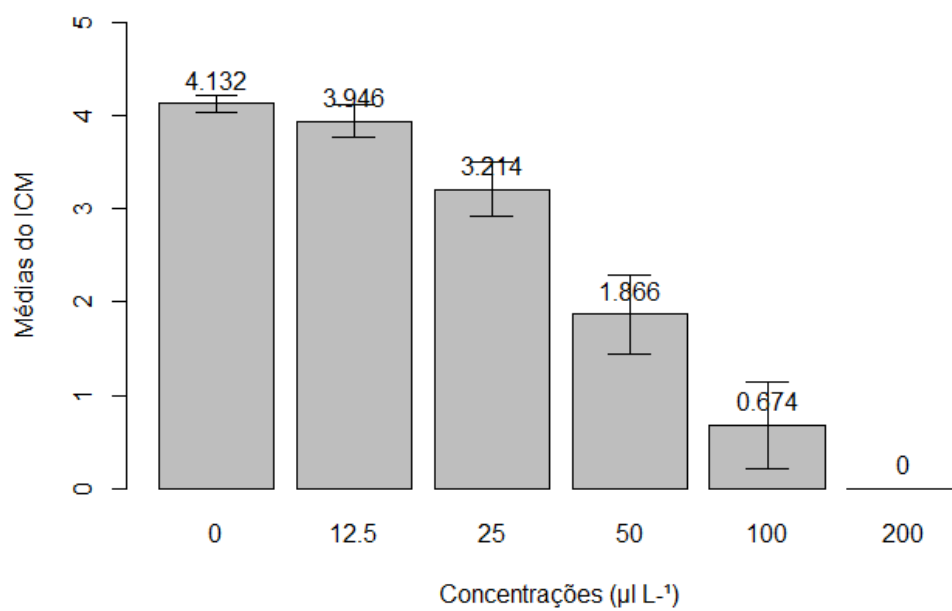
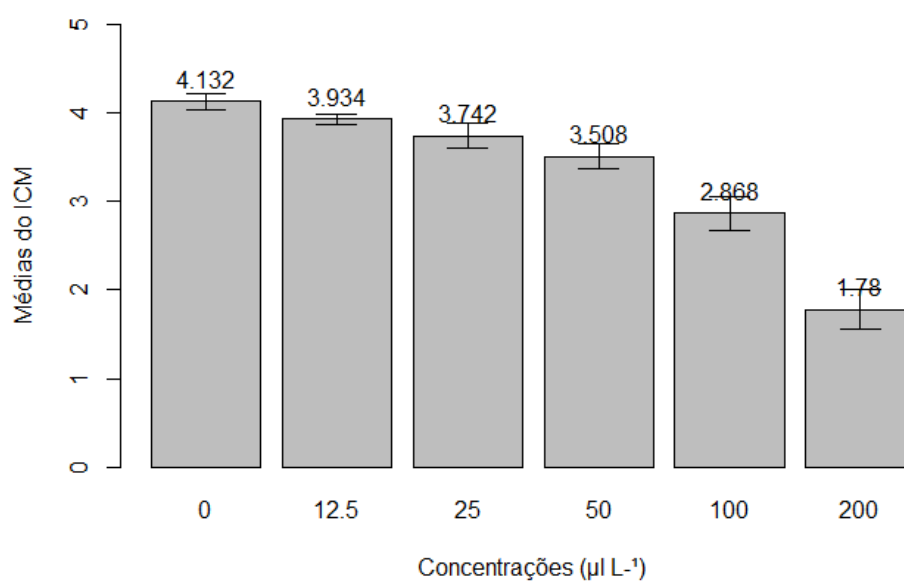
Figura 5 – Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) de *Fusarium falciforme* nas diferentes concentrações dos óleos essenciais.

A



B



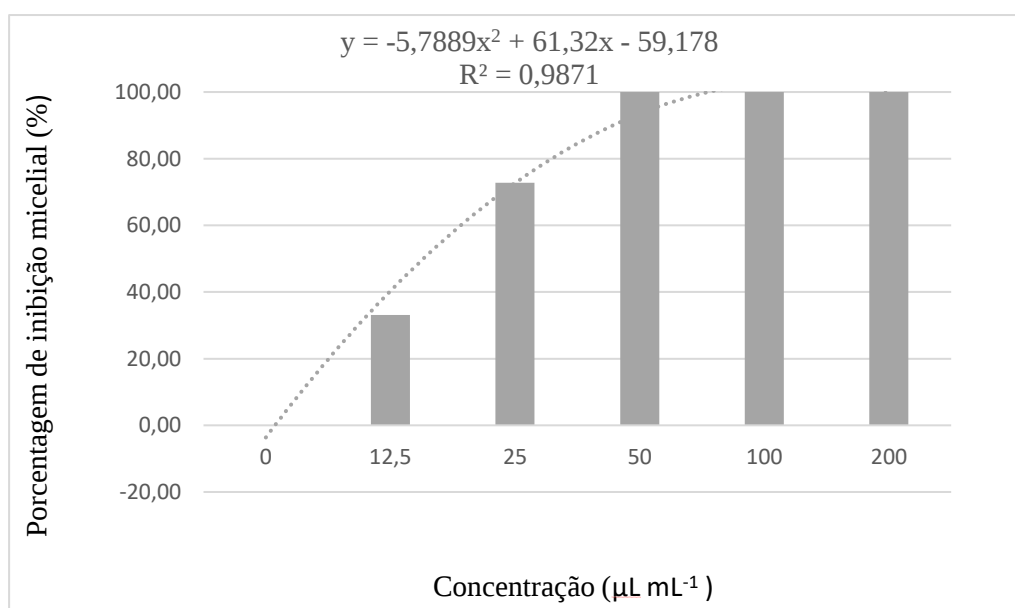
C**Citronela****D****Melaleuca**

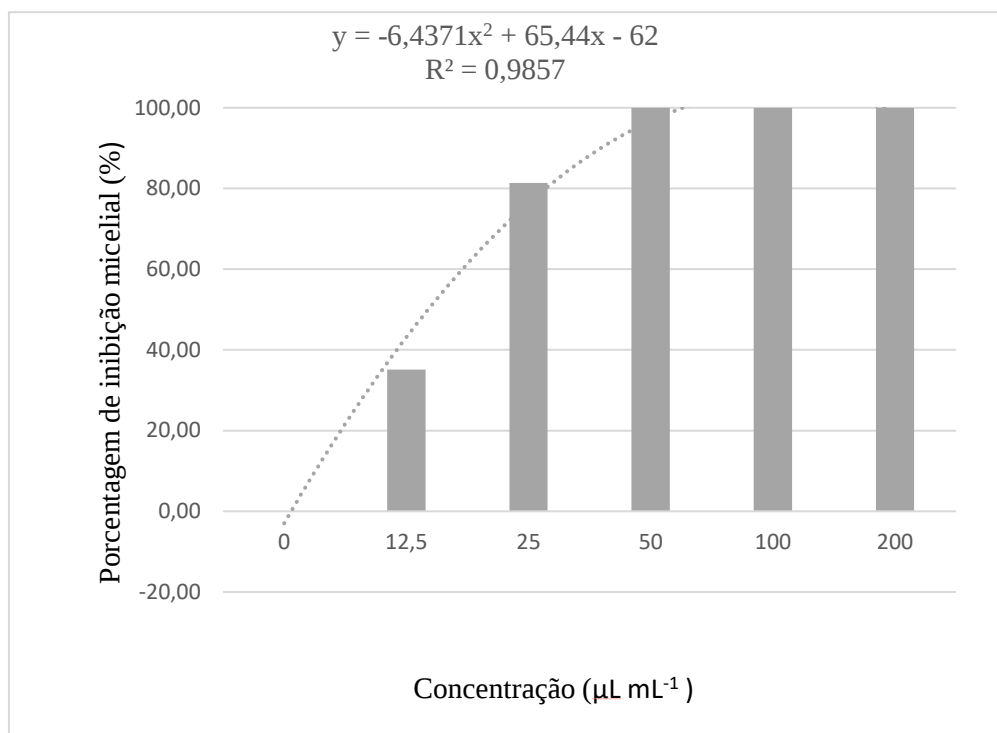
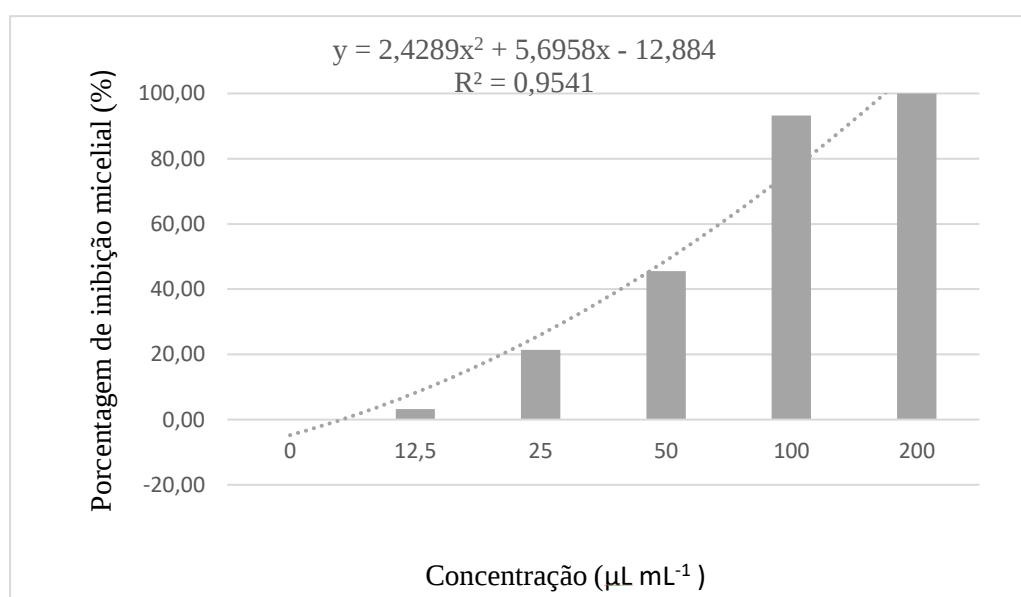
De acordo com os resultados obtidos na Porcentagem de inibição micelial (PIC) para a espécie *F. falciforme* o óleo essencial de cravo e canela inibiram 100% o crescimento micelial a partir de $50\mu\text{L mL}^{-1}$ (Figura 6A e 6B; Figura 7). O maior percentual de inibição do crescimento micelial do fungo no óleo de citronela foi observado apenas na maior concentração testada ($200\mu\text{L mL}^{-1}$) (Figura 6C e Figura 7). E o óleo de melaleuca não inibiu 100% o crescimento micelial em nenhuma concentração testada (Figura 6D e Figura 7).

Figura 6 - Porcentagem de inibição micelial (PIC) *Fusarium falciforme* nas diferentes concentrações dos óleos essenciais.

A

Cravo Folha



B**Canela****C****Citronela**

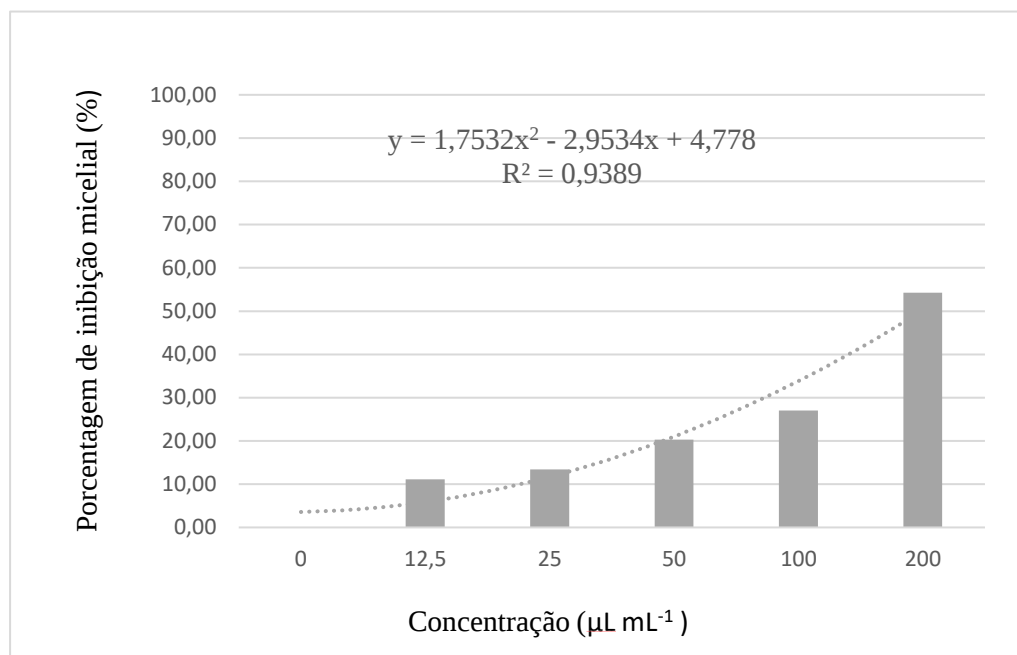
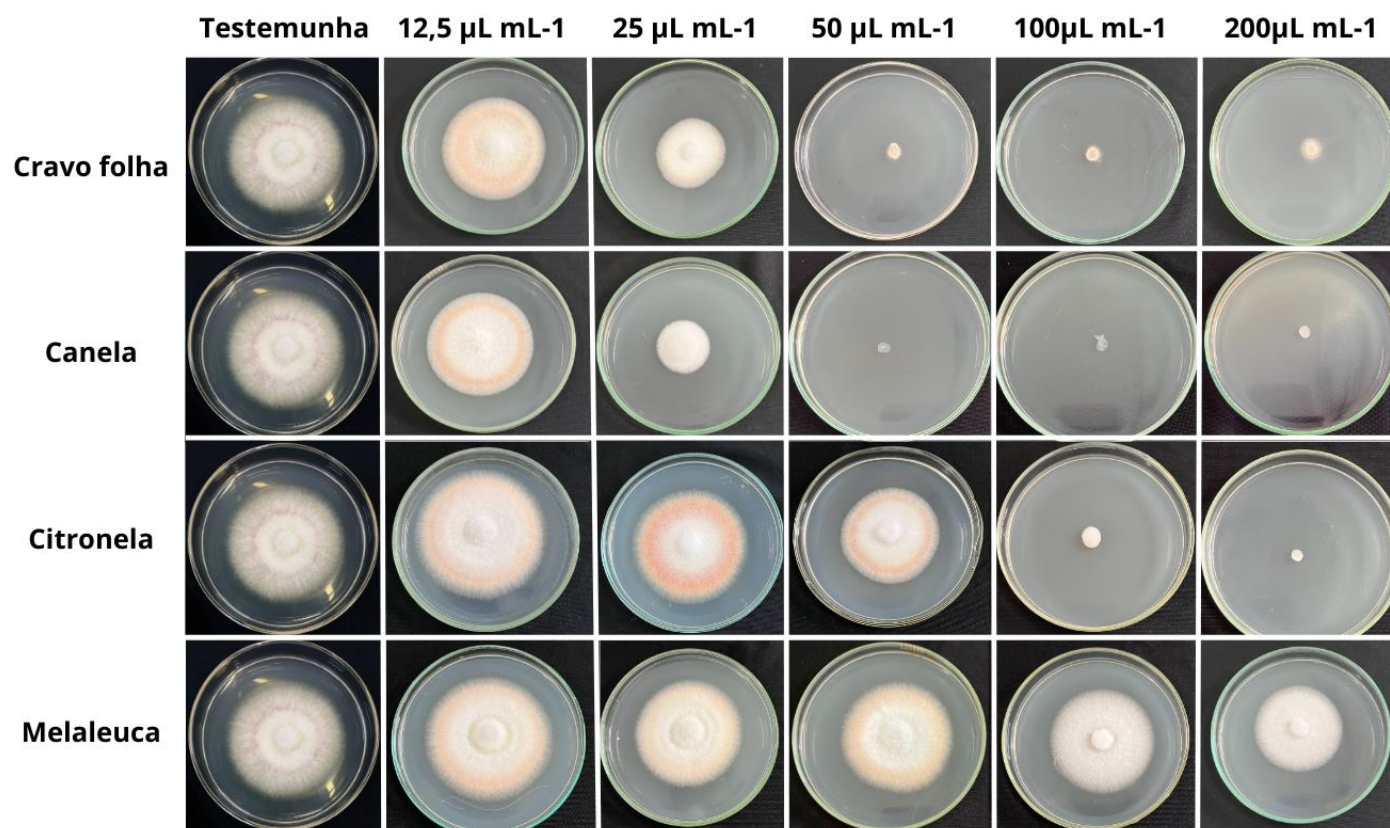
D**Melaleuca**

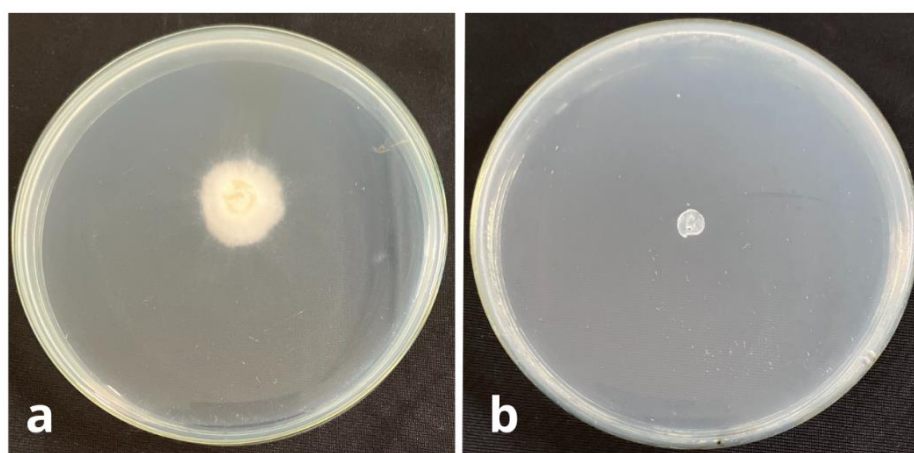
Figura 7 - Efeito das concentrações dos óleos essenciais no crescimento micelial de *Fusarium falciforme*.



Fonte: Autor, 2023

Nos resultados obtidos para a espécie *F. falciforme* o óleo de cravo folha apresentou ação fungicida após 24h na concentração de $200\mu\text{L mL}^{-1}$. No óleo de canela o patógeno apresentou ação fungicida a partir da concentração de $50\mu\text{L mL}^{-1}$. No entanto, citronela teve ação fungistática nas concentrações de 100 e $200\mu\text{L mL}^{-1}$ após 24h (Figura 8).

Figura 8 - Efeito das concentrações dos óleos essenciais na ação fungistática e fungicida no crescimento micelial de *Fusarium falciforme*. **a.** Ação fungistática **b.** Ação fungicida.



Fonte: Autor, 2023

DISCUSSÃO

Os óleos essenciais têm a capacidade de promover controle microbiano, em virtude da sua composição química. Diversos constituintes que estão presentes nos óleos agem por mecanismos de ação em diferentes alvos, proporcionando algumas vantagens ao seu uso quando comparado com os fungicidas sintéticos, uma vez que reduzem a possibilidade de resistência em fitopatógenos (LIMA et al. 2019).

Compostos fenólicos, como o eugenol presente no óleo de cravo (*Eugenia caryophyllus*) (ROJAS et al. 2014), cinamaldeído em canela (*Cinnamomum cassia*) (PONCIANO et al. 2020), citronelal, geraniol e citronelol em citronela (*Cymbopogon winterianus*) (CRUZ et al. 2015), α -terpineno, γ -terpineno, 1,8-cineol e terpinen-4-ol em melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) (GARCIA et al. 2009), são constituintes presentes nos óleos testados, apresentando atividade microbiana.

Todos os óleos foram capazes de diminuir/inibir o crescimento micelial das espécies de *Fusarium*, exceto citronela e melaleuca para *F. fabacearum* na concentração de 12,5 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Segundo Pereira et al. 2006, os resultados inferiores de alguns óleos essenciais sobre alguns fungos podem ser atribuídos a uma possível inadequação das doses empregadas.

Alguns mecanismos de ação causados pelos óleos essenciais em fungos são o rompimento da integridade da parede celular pela inibição da síntese de quitina e β -glucanas, ruptura da membrana celular, seja por ligação ou inibição da biossíntese de ergosterol, e a inibição de ácido ribonucleico, ácido desoxirribonucleico ou síntese de proteínas (SEEPE; NXUMALO; AMOO, 2021).

As figuras 3 e 7 mostram a efetividade dos óleos estudados para o controle micelial de *F. fabacearum* e *F. falciforme* em diferentes concentrações, sobressaindo-se os óleos de cravo (a partir de 50 $\mu\text{L mL}^{-1}$), canela (a partir de 50 $\mu\text{L mL}^{-1}$) e citronela (200 $\mu\text{L mL}^{-1}$). Estudos que mostram a inibição do crescimento de fungos *in vitro* são relatados na literatura. Ascari, 2022, avaliou o potencial dos óleos essenciais de canela-da-china, lavandin e palmarosa na inibição do crescimento micelial de *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Fusarium* spp. Com base nos resultados obtidos, os óleos de canela-da-china e palmarosa inibiram em 100% as espécies fúngicas testadas nas concentrações de 500 e 1000 ppm. Todos os óleos inibiram o crescimento dos isolados de *Fusarium* spp., porém, somente o óleo de canela manteve a inibição total.

Estudando o controle de alguns fitopatógenos, Cruz et al. 2015 identificaram os principais componentes e avaliaram o efeito fungitóxico do óleo essencial de

Cymbopogon winterianus (citronela) sobre três isolados de *Fusarium solani* (UENF/CF163, UENF/CF241 e UENF/CF295) provenientes da goiabeira. De acordo com seus resultados, os principais componentes encontrados foi o geranial (28,62%), citronelol (23,62%) e neral (17,10%). A menor concentração do óleo essencial de citronela inibiu em mais de 90% a germinação de esporos dos isolados UENF/CF241 e UENF/CF295, e reduziu a produção de esporos em mais de 95% nos três isolados, indicando que esse óleo possui uma boa atividade fungicida para esses isolados. Figueiredo et al. 2020, em seus estudos, relatou que o óleo essencial de cravo folha inibiu o crescimento micelial de *Cladosporium herbarum*, agente etiológico da doença conhecida como “verrugose” que afeta todos os órgãos aéreos do maracujazeiro, a partir da concentração de 1,6 μL e apresentou uma inibição micelial total na concentração de 12,8 μL .

Em contrapartida, Martins et al. 2010, mostram a eficácia do óleo de melaleuca em que obtiveram inibição total no crescimento de *Macrophomina phaseolina* e *Sclerotinia sclerotiorum* a partir da concentração de 0,2%. Souza et al. 2015 relataram que o óleo de melaleuca foi eficaz no controle de *Cercospora beticola* e, como consequência, houve produção de raízes de beterraba com melhor desenvolvimento.

Os resultados desse estudo mostram alternativas de controle para a redução dos patógenos que causam sintomas de tombamento na cultura do coentro, visto que é uma doença de grande importância e vem causando perdas expressivas na produção em diversas áreas de plantio no nordeste do Brasil. No entanto, estudos mais detalhados, bem como teste em casa de vegetação e campo precisam ser realizados para uma melhor confiabilidade na adoção do método de controle.

REFERÊNCIAS

- ASCARI, Dalila. Controle alternativo de fungos fitopatogênicos com uso de óleos essenciais de plantas medicinais. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal de Santa Catarina, 2022.
- CORTES-ROJAS, D. F.; SOUZA, C. R. F.; OLIVEIRA, W. P. Clove (*Syzygium aromaticum*): A precious spice. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. v. 4, p. 90- 96, 2014.
- CRUZ, T. P.; ALVES, F. R.; MENDONÇA, R. F.; COSTA, A. V.; JUNIOR, W. C. J.; PINHEIRO, P. F.; MARINS, A. K. Atividade fungicida do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* Jowit (citronela) contra *Fusarium solani*. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 1, p. 1-8, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.14393/BJ-v31n1a2015-22346>.
- DE FIGUEIREDO, ANA ROSA; DA SILVA, LEIRSON RODRIGUES; DE MORAIS, LILIA APARECIDA SALGADO. Bioatividade do óleo essencial de *Eugenia caryophyllus* sobre *Cladosporium herbarum*, agente etiológico da verrugose em maracujá. **Scientia Plena**, v. 17, n. 2, 2021.
- DIAS, F. H. C., Nunes, M. S., da Silva, E. C., de França Silva, E. G., da Silva, H. F., & do Nascimento, L. C. Efeito dos óleos essenciais na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho crioulo. **Scientific Electronic Archives**, v. 14, n. 9, 2021.
- GARCIA, C. C. et al. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade físico-química de formulações de sabonete líquido íntimo acrescidas de óleo de melaleuca. **Rev. Bras. Farm**, v. 90, n. 3, p. 236-240, 2009
- KNIGHT, Noel L. et al. Detection of *Cercospora beticola* and *Phoma betae* on table beet seed using quantitative PCR. **Phytopathology**, v. 110, n. 4, p. 943-951, 2020.
- LIMA, T. S.; FRANÇA, K. R. S.; AZEVEDO, P. T. M.; PAIVA, Y. F.; SILVA, J. C. S.; SILVA, K. O.; SANTOS, A. B.; GALDINO, J. A. A. S.; JÚNIOR, A. F. M.; CARDOSO, T. A. L. Control of Some Phytopathogenic Fungi Using Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L.). **Journal of Experimental Agriculture International**, v. 39, n. 3, p. 1-11, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.9734/jeai/2019/v39i330332>.
- PEREIRA, M. C., VILELA, G. R., COSTA, L. M. A. S., SILVA, R. F. D., FERNANDES, A. F., FONSECA, E. W. N. D., & PICCOLI, R. H. (2006). Inhibition fungi growth through of utilization essential oils of spice. **Ciência e Agrotecnologia**, 30, 731-738.
- PONCIANO, R. C. S.; MARTINS, G. R.; IULIANELLI, G. C. V.; TAVARES, M. I. B. Estudo do extrato da canela por NMR em solução. **Brazilian Journal of development**. 2020.

SEEPE, H.A; NXUMALO, W; AMOO, S.O. Natural Products from Medicinal Plants against Phytopathogenic *Fusarium* Species: Current Research Endeavours, Challenges and Prospects. **Molecules**, Basel, v.26, n.21, p.6539, 2021.

SOUZA, A. D., ROGGERIO, T. U., FURLAN, M. R., & AOYAMA, E. M. (2015). Óleo de melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Maiden & Betche, Cheel) no controle de cercosporiose em beterraba. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 17, 1078-1082.

VELOSO, R. A.; LEÃO, E. U.; MOURÃO, D. S. C.; FERREIRA, T. P. S.; FARIAS, D. I. O. A.; SANTOS, G. R. Efeito de óleos essenciais sobre a micoflora associada às sementes de manjerição. *agries*, v.6, 2020. DOI: <https://doi.org/10.36725/agries.v6i0.1959>