

**POTENCIAL DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO  
MANEJO DA FERRUGEM E DA  
CERCOSPORIOSE DO CAFEIRO**

**RICARDO BORGES PEREIRA**

**2008**

**RICADO BORGES PEREIRA**

**POTENCIAL DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO MANEJO DA FERRUGEM  
E DA CERCOSPORIOSE DO CAFEIEIRO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitopatologia, para a obtenção do título de “Doutor”.

Orientador  
Prof. Dr. Eduardo Alves

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2008

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Pereira, Ricardo Borges.

Potencial de óleos essenciais no manejo da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro / Ricardo Borges Pereira. – Lavras : UFLA, 2008.

107 p. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: Eduardo Alves.

Bibliografia.

1. Cafeeiro. 2. *Cercospora coffeicola*. 3. *Hemileia vastatrix*. 4. Óleos essenciais. 5. Controle alternativo. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 633.7394

**RICARDO BORGES PEREIRA**

**POTENCIAL DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO MANEJO DA FERRUGEM  
E DA CERCOSPORIOSE DO CAFEIEIRO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitopatologia, para a obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 19 de dezembro de 2008.

Prof. Dr. Mário Lúcio Vilela de Resende	UFLA
Prof. Dr. Hilário Antônio de Castro	UFLA
Dra. Sônia Maria de Lima Salgado	EPAMIG Lavras
Dra. Sara Maria Chalfoun	EPAMIG Lavras

Prof. Dr. Eduardo Alves  
UFLA  
(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2008

## DEDICATÓRIA

*A Deus,  
que sempre esteve comigo em minha caminhada.*

*A meus pais e irmãos,  
Túlio, Sívia, Túlio Jr. e Virgínia, que muito amo,  
que compartilharam de meus ideais.*

*A Gil,  
pelo apoio incondicional,  
ajudando-me a superar todos os obstáculos,  
dividindo comigo minhas alegrias.*

## AGRADECIMENTOS

**Dedico**

A Deus e aos meus familiares, pelo incentivo, amor e por estarem sempre ao meu lado em todos os momentos, dando-me boas oportunidades.

A Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade de realizar o doutorado.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos e à Fapemig, pelo apoio ao projeto de pesquisa CAG 1832/06.

Ao professor Eduardo Alves, pela orientação, amizade e confiança na realização do presente trabalho.

Ao professor Mário Lúcio Vilela de Resende, pela atenção, auxílio e amizade.

Ao professor Dr. Hilário Antônio de Castro, à Dra. Sara Maria Chalfoun e à Dra. Sônia Maria de Lima Salgado, pela participação na banca e pelas valiosas sugestões.

À equipe deste trabalho, Gilvaine, Fabiano e Letícia, pelo importante apoio oferecido e pelos momentos de descontração.

Aos amigos do Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra-Estrutural, Eloísa, Glauco, Luciane, Renato, Lidiane e Suelen, pela agradável convivência e auxílio nos experimentos.

Aos colegas do Departamento, Flávio, Rodrigo, Renata, Alex, Ana Beatriz, Amanda, Ângelo, Carla, Luana, Luciana, Érika, Eudes, Fernanda Lopes, Fernanda Martins, Flávia, João Eduardo, Juliano, Fabrício, Vanessa, Rodrigo Mac Leod, Daniel, Henrique, Cleilson e Luis Henrique, pelo companheirismo.

Aos amigos de república, Pedro, Jerônimo e Fabrício (ex. morador).

Aos amigos do “Fitopatorracha”, pelos momentos de descontração.

A todos os servidores técnico-administrativos do Departamento de Fitopatologia, pela paciência e amizade.

Aos demais professores do Departamento de Fitopatologia, pelos conhecimentos transmitidos.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para o cumprimento desta importante etapa da minha vida.

**Muito obrigado!**

## BIOGRAFIA

Ricardo Borges Pereira, filho de Túlio Pereira e Sivia Maria Borges Pereira, nasceu em 27 de dezembro de 1981, em Araxá, Minas Gerais.

Iniciou o curso de graduação em Agronomia na Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, Minas Gerais, em agosto de 2000, graduando-se em fevereiro de 2005. Durante a graduação, foi bolsista do Programa Especial de Treinamento (PET – Agronomia/MEC/SESu), de agosto de 2001 a dezembro de 2003, sob a orientação do Prof. Vicente Gualberto. Foi bolsista de iniciação científica pelo PIBIC/CNPq, no Departamento de Fitopatologia, de janeiro de 2004 a fevereiro de 2005, sob a orientação do Prof. Mário Lúcio Vilela de Resende, com quem desenvolveu pesquisa utilizando extratos vegetais como ativadores de plantas no controle da vassoura-de-bruxa e murcha-de-verticillium do cacaueteiro e, da murcha bacteriana em tomateiro.

Em março de 2005, iniciou o mestrado em Fitopatologia na Universidade Federal de Lavras, concluindo-o em julho de 2006, sob a orientação do Prof. Eduardo Alves. Durante o mestrado, foi bolsista da Capes, desenvolvendo trabalhos com óleos essenciais e extratos vegetais, visando o controle da cercosporiose do cafeeiro.

Em agosto de 2006, iniciou o doutorado em Fitopatologia na Universidade Federal de Lavras, também sob a orientação do Prof. Eduardo Alves. Durante o doutorado, foi bolsista do CNPq, desenvolvendo trabalhos com óleos essenciais no controle da ferrugem e cercosporiose do cafeeiro, bem como estudos das interações entre *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola* – cafeeiro, concluindo-o em dezembro de 2008, com a defesa desta tese.

Atualmente é bolsista de pós-doutorado e desenvolve pesquisa no Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Café (INCT Café), na UFLA.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO .....	i
ABSTRACT .....	ii
CAPÍTULO 1. Óleos essenciais no manejo de doenças .....	1
1 INTRODUÇÃO .....	2
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	5
2.1 Ferrugem do cafeeiro .....	5
2.2 Cercosporiose do cafeeiro .....	6
2.3 Indução de resistência no controle de doenças de plantas .....	8
2.4 Óleos essenciais no controle de fitopatógenos .....	10
2.4.1 Citronela ( <i>Cymbopogon nardus</i> (L.) Rendle.) .....	12
2.4.2 Nim ( <i>Azadirachta indica</i> A. Juss.) .....	13
2.4.3 Tomilho ( <i>Thymus vulgaris</i> L.) .....	14
2.4.4 Cravo-da-índia ( <i>Syzygium aromaticum</i> L.) .....	15
2.4.5 Canela ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Breym) .....	15
2.4.6 Capim-limão ( <i>Cymbopogon citratus</i> Staph) .....	16
2.4.7 Eucalipto ( <i>Eucalyptus citriodora</i> Hook) .....	17
2.4.8 Árvore de chá ( <i>Melaleuca alternifolia</i> Cheel) .....	18
2.5 A microscopia aplicada em estudos com patógenos e suas interações com as plantas. ....	18
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	20
CAPÍTULO 2. Óleos essenciais no manejo da ferrugem do cafeeiro .....	29
RESUMO .....	30
ABSTRACT .....	31
1 INTRODUÇÃO .....	32
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	35
2.1 Local de realização dos trabalhos .....	35

2.2 Obtenção do inóculo de <i>Hemileia vastatrix</i> .....	35
2.3 Preparo e condução das mudas de cafeeiro .....	35
2.4 Obtenção dos óleos essenciais .....	36
2.5 Avaliação da toxidez dos óleos essenciais na germinação de urediniósporos de <i>Hemileia vastatrix</i> .....	36
2.6 Óleos essenciais no controle da ferrugem do cafeeiro em casa de vegetação .....	37
2.7 Avaliação do efeito sistêmico em cultivares de cafeeiro tratadas com óleos essenciais .....	38
2.8 Análises estatísticas .....	39
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	40
3.1 Avaliação da toxidez dos óleos essenciais na germinação de urediniósporos de <i>Hemileia vastatrix</i> .....	40
3.2 Óleos essenciais no controle da ferrugem do cafeeiro em casa de vegetação .....	43
3.3 Avaliação do efeito sistêmico em cultivares de cafeeiro tratadas com óleos essenciais .....	50
4 CONCLUSÕES .....	56
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	57
CAPÍTULO 3. Óleos essenciais no manejo da cercosporiose do cafeeiro ..	62
RESUMO .....	63
ABSTRACT .....	64
1 INTRODUÇÃO .....	65
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	68
2.1 Local de realização dos trabalhos .....	68
2.2 Obtenção do inóculo de <i>Cercospora coffeicola</i> .....	68
2.3 Preparo e condução das mudas de cafeeiro .....	68
2.4 Obtenção dos óleos essenciais .....	69
2.5 Avaliação da toxidez dos óleos essenciais na germinação de conídios e no crescimento micelial de <i>Cercospora coffeicola</i> .....	69
2.6 Óleos essenciais no controle da cercosporiose do cafeeiro em casa de vegetação .....	71
2.7 Avaliação do efeito sistêmico em cultivares de cafeeiro tratadas com óleos essenciais .....	72

2.8 Estudo da germinação e do desenvolvimento micelial <i>in vivo</i> .....	73
2.8.1 Instalação do experimento e inoculação .....	73
2.8.2 Coleta das amostras para microscopia .....	74
2.8.3 Preparo das amostras para microscopia eletrônica de varredura .....	74
2.9 Análises estatísticas .....	75
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	76
3.1 Avaliação da toxidez dos óleos essenciais na germinação de conídios e no crescimento micelial de <i>Cercospora coffeicola</i> .....	76
3.2 Óleos essenciais no controle da cercosporiose do cafeeiro em casa de vegetação .....	80
3.3 Avaliação do efeito sistêmico em cultivares de cafeeiro tratadas com óleos essenciais .....	86
3.4 Estudo da germinação e do desenvolvimento micelial <i>in vivo</i> .....	92
4 CONCLUSÕES .....	98
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	99
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	106

## RESUMO

PEREIRA, Ricardo Borges. **Potencial de óleos essenciais no manejo da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro**. 2008. 107p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) -Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

A ferrugem e a cercosporiose são consideradas as principais doenças do cafeeiro, pois reduzem a produção e prejudicam a qualidade da bebida. O manejo da doença é realizado, convencionalmente, pela aplicação de cúpricos e fungicidas sistêmicos, no entanto, eles podem promover a contaminação do homem e do ambiente e selecionar raças resistentes dos patógenos. Assim, os óleos essenciais surgem como uma alternativa para o controle da ferrugem e a cercosporiose do cafeeiro. Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram: (i) avaliar o efeito *in vitro* dos óleos essenciais de canela (CA), citronela (CI), capim-limão (CL), cravo-da-índia (CR), árvore-de-chá (ME), tomilho (TO), nim (NI) e eucalipto (EU) na germinação de urediniósporos de *Hemileia vastatrix* e de conídios de *Cercospora coffeicola*; (ii) avaliar o efeito destes no crescimento micelial de *C. coffeicola*; (iii) avaliar o efeito dos óleos essenciais no controle da ferrugem e cercosporiose em diferentes cultivares de cafeeiro em casa de vegetação; (iv) avaliar a proteção sistêmica dos óleos essenciais mais promissores nas diferentes cultivares e seus efeitos no controle da ferrugem e da cercosporiose e (v) avaliar *in vivo* os efeitos destes sobre a germinação de conídios e o desenvolvimento micelial de *C. coffeicola*, por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV). Todos os óleos essenciais promoveram a inibição da germinação dos urediniósporos de *H. vastatrix* e dos conídios de *C. coffeicola*, com o aumento das concentrações. Os óleos essenciais de CR, CA, NI, TO e CL inibiram o crescimento micelial de *C. coffeicola* na concentração 1.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ . Os óleos essenciais promoveram controle parcial das doenças em casa de vegetação, sendo os óleos de TO, CR e CI os mais promissores para o controle da ferrugem nas cultivares Catucaí 2SL, Catucaí IAC 62 e Mundo Novo 379/19, e os óleos de CA e CI, para o controle da cercosporiose em todas as cultivares. O óleo essencial de CR apresentou efeito local, enquanto o óleo de CI apresentou efeito sistêmico contra a ferrugem do cafeeiro. Os óleos essenciais de CA e CI promovem proteção sistêmica nas cultivares Catucaí 2SL e Catucaí IAC 62 contra a cercosporiose. Os óleos essenciais de CA e CI reduziram a germinação e o desenvolvimento micelial de *C. coffeicola in vivo*, promovendo o extravasamento do citoplasma celular.

---

\* **Comitê de Orientação:** Eduardo Alves – UFLA (Orientador); Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA (Co-orientador) e Mário Sobral de Abreu – UFLA (Co-orientador).

## ABSTRACT

PEREIRA, Ricardo Borges. **Potential of the essential oils in the control of leaf rust and brown spot eye of coffee plant**. 2008. 107p. Thesis (Doctor in Phytopathology) - Federal University of Lavras, Lavras, MG.\*

The rust and brown spot eye are considered the main diseases of coffee plant, it reduces the production and undermine the drink quality. The management of the disease is conventionally done by application of copper and systemic fungicides, however, they may promote the contamination of man, environment and select resistant pathogens races. Thus, the essential oils could be an alternative to control of rust and brown spot eye coffee plant. Considering the exposed, the objectives of this work were: (i) to assess the effect in vitro of essential oils of cinnamon (CA), citronella (CI), lemon grass (CL), clove (CR), tea-tree (ME), thyme (TO), neem (NI) and eucalyptus (EU) on the germination of both urediniospores of *Hemileia vastatrix* and conidia of *Cercospora coffeicola*; (ii) to assess the effect of these on mycelial growth of *C. coffeicola*; (iii) to assess the effect of essential oils to control of rust and brown spot eye in different coffee cultivars in greenhouse; (iv) to assess the systemic protection of essential oils most promising in the different cultivars and their effects on control of rust and brown spot eye and; (v) to assess in vivo effects of these on the conidia germination and fungal development of *C. coffeicola* through scanning electron microscopy. All essential oils promoted the germination inhibition of both urediniospores of *H. vastatrix* and the conidia of *C. coffeicola* with increasing concentrations. The essential oils of CR, CA, NI, TO and CL inhibited the mycelial growth of *C. coffeicola* concentration in  $1000 \mu\text{L L}^{-1}$ . The essential oils promote partial diseases control in the greenhouse, and the oil TO, CR and CI were the most promising to rust control in Catucaí 2SL, Catucaí IAC 62 and Mundo Novo 379/19 cultivars, and the oil CA and CI to brown spot eye control in all cultivars. The essential oil of CR presented local effect, while the oil of the CI presented systemic effect against coffee leaf rust. The essential oils of CA and CI promoted systemic protection in cultivars Catucaí 2SL and Catucaí IAC 62 against spot eye control. The essential oils of CA and CI reduced germination and mycelial development of *C. coffeicola* in vivo, promoting the leakage of the cell cytoplasm.

---

\* **Advising Committee:** Eduardo Alves - UFLA (Adviser), Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA (Co-adviser) and Mário Sobral de Abreu – (Co-adviser).

## **CAPÍTULO 1**

### **ÓLEOS ESSENCIAIS NO MANEJO DE DOENÇAS**

## 1 INTRODUÇÃO

O cafeeiro é uma planta originária das regiões altas da Etiópia (Graner & Godoy Junior, 1967). O gênero *Coffea* abrange mais de 100 espécies botânicas conhecidas. No entanto, somente as espécies *Coffea arabica* L. e *C. canephora* Pierre são cultivadas em regiões tropicais e subtropicais. A maior parte do café produzido mundialmente é da espécie *C. arabica*, ocupando, aproximadamente, 70% das áreas cultivadas (Mônaco, 1977).

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café. Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento, Conab (2008), a produção nacional de *C. arabica* em 2008 foi de 45,85 milhões de sacas, representando uma das principais fontes de divisas para o país. Minas Gerais destaca-se como o maior produtor nacional de café arábica, com uma produção de 23,3 milhões de sacas (Conab, 2008).

Devido ao aumento na demanda pelo café, principalmente nos países de clima frio, seu cultivo vem se mostrando sempre crescente. No entanto, a cultura ainda apresenta alguns problemas fitossanitários, que causam perdas quando não são tomadas medidas de controle eficazes. Dentre as doenças que acometem a cultura, destacam-se como principais a ferrugem, causada por *Hemileia vastatrix* Berk. & Br e a cercosporiose, causada por *Cercospora coffeicola* Berk & Cooke (Zambolim et al., 2005).

No Brasil estima-se que as perdas em decorrência apenas da ferrugem do cafeeiro sejam da ordem de 30% da produção, principalmente pela ausência de medidas de controle e pela predominância de cafeeiros *C. arabica* susceptíveis à maioria das raças de *H. vastatrix*, incluindo a raça II, predominante no país (Mazzafera et al., 1993; Pereira & Sakiyama, 1999). Segundo Zambolim et al. (2005), a severidade da ferrugem e os prejuízos

ocasionados na produção do cafeeiro, de modo geral, variam de região para região e de ano para ano, em decorrência da carga pendente dos cafeeiros e das condições climáticas prevalentes. Os danos causados pela ferrugem são principalmente indiretos, pela indução da desfolha intensificada pela colheita. A queda precoce das folhas resulta no menor vingamento da florada, menor vingamento dos chumbinhos e também na seca dos ramos plagiotrópicos, comprometendo a produção do cafeeiro (Godoy et al., 1997; Pereira, 2003). Essa seca constante dos ramos reduz à longevidade dos cafeeiros, tornando a lavoura gradativamente antieconômica (Pereira, 2003).

Outra doença de grande importância no cafeeiro é a cercosporiose. Atualmente, está presente em quase todas as regiões que apresentam condições favoráveis ao patógeno, constituindo uma doença de importância econômica, capaz de promover a desfolha e, em consequência, reduzir a produção, além de prejuízos como a depreciação da qualidade da bebida dos grãos. Em condições de viveiro, a cercosporiose causa intensa desfolha, provocando atraso no desenvolvimento e no raquitismo das mudas (Godoy et al., 1997). Ataques intensos da doença no campo ocorrem, principalmente, em regiões mais altas, chegando a causar perdas de até 30% na produção (Carvalho & Chalfoun, 2001). Os prejuízos com a cercosporiose ganharam maior importância econômica com a implantação de lavouras nos cerrados, que apresentam solos com baixa fertilidade natural, ou em lavouras mal manejadas nutricionalmente (Pozza et al., 2000).

Atualmente, em todo o mundo, nos locais se pratica uma agricultura econômica, faz-se o uso de fungicidas para o controle de doenças de plantas. O uso racional desses produtos tem efeito benéfico para os produtores em curto prazo, no entanto, em longo prazo pode promover a seleção de novas raças resistentes dos patógenos, além de contaminação do ambiente e riscos à saúde humana.

Como uma das medidas alternativas de controle de doenças, tem-se a utilização de óleos essenciais provenientes de plantas medicinais, uma vez que estes oferecem menor risco ao homem e ao ambiente. O potencial dos óleos essenciais no controle de doenças de plantas tem sido muito pesquisado nos últimos anos, devido às suas propriedades antimicrobianas, mostrando-se promissores no controle alternativo de doenças de plantas (Guiraldo et al., 2004; Schwan-Strada & Stangarlin, 2005).

Diante do exposto, o presente trabalho foi realizado com os objetivos de avaliar o efeito *in vitro* de diferentes óleos essenciais na germinação de uredinósporos de *H. vastatrix*, na germinação de conídios de *C. coffeicola* e no crescimento micelial de *C. coffeicola*; avaliar o efeito destes no controle da ferrugem e da cercosporiose em diferentes cultivares de cafeeiro em casa de vegetação; avaliar o efeito sistêmico dos óleos essenciais mais promissores no controle da ferrugem e cercosporiose em diferentes cultivares de cafeeiro e avaliar *in vivo* os efeitos destes sobre a germinação de conídios e o desenvolvimento micelial de *C. coffeicola*, por meio da microscopia eletrônica de varredura.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Ferrugem do cafeeiro

A ferrugem alaranjada é a doença mais destrutiva do cafeeiro, capaz de provocar redução do crescimento das plantas e queda prematura das folhas infectadas (Agrios, 2005). Possui como agente causal o fungo *Hemileia vastatrix*, pertencente à família Pucciniacea, ordem Uredinales, classe dos Uredinomycetes. Trata-se de um patógeno biotrófico, com ciclo de vida incompleto, pois, até o momento, as fases de pécnio e écio são desconhecidas (Godoy et al., 1997; Agrios, 2005).

Ataques mais intensos do patógeno no campo ocorrem, normalmente, nos meses de dezembro a janeiro, com um grande progresso da doença nos meses de março a abril, com máxima incidência nos meses de junho e julho. Já na estação seca ocorre queda acentuada de folhas, reduzindo a incidência da doença (Pozza, 2004).

Os sintomas da doença se iniciam na forma de manchas cloróticas translúcidas com 1 a 3 mm de diâmetro na face inferior das folhas que, em poucos dias, atingem 1 cm de diâmetro. Na face inferior das folhas desenvolvem-se massas pulverulentas de coloração amarelo-alaranjada, formadas por urediniósporos do patógeno. Quando estas coalescem, podem cobrir toda a extensão do limbo foliar. Na face superior das folhas aparecem áreas de tonalidade amarelada, que correspondem às regiões infectadas. Com o tempo as lesões aumentam de tamanho, deixando em seu centro uma área necrótica, onde a esporulação é reduzida, com uma produção de esporos de coloração esbranquiçada de menor viabilidade, chegando a cessar (Zambolim et al., 2005).

Para o processo de infecção, são necessárias condições de baixa

luminosidade, temperaturas entre 21° e 25°C e molhamento foliar por um período mínimo de três horas. Temperaturas inferiores a 18°C e superiores a 28°C comprometem o sucesso da infecção. O período de incubação (tempo entre a penetração e a visualização dos sintomas) pode variar de 29 a 62 dias após a penetração, variando em função das condições ambientais, da suscetibilidade da planta e da idade do órgão infectado. A esporulação na face inferior inicia-se aos sete dias após o aparecimento dos sintomas (Godoy et al., 1997).

A disseminação de *H. vastatrix* ocorre mais eficientemente pela ação do vento, das gotas da chuva, do escorrimento de água pelas margens do limbo foliar para a superfície inferior e pela ação homem durante os tratamentos culturais. A incidência da doença aumenta juntamente com as chuvas, atingindo o máximo no fim da estação chuvosa (Godoy et al., 1997; Zambolim et al., 2005). Com o aumento de horas de molhamento foliar, ocorre o aumento da incidência da doença, além de aumentar o número de ciclos do patógeno (Pozza, 2004).

A ferrugem do cafeeiro é de difícil controle, mas resultados satisfatórios são obtidos pelo uso de fungicidas, em pulverizações sistemáticas durante a estação chuvosa, com intervalos de duas a três semanas, dependendo da severidade da doença. Fungicidas sistêmicos podem ser usados de forma curativa, alternando com pulverizações cúpricas, porém, seu uso pode selecionar novas raças fisiológicas resistentes do patógeno (Agrios, 2005).

Há muito se procura obter cultivares portadoras de genes de resistência a *H. vastatrix* que possam substituir as cultivares tradicionais de *C. arabica* susceptíveis, as quais requerem um controle sistemático da doença. No entanto, esse processo tem sido dificultado pelo aparecimento de novas raças fisiológicas do patógeno, que levam à “quebra” da resistência das cultivares melhoradas.

## **2.2 Cercosporiose do cafeeiro**

A cercosporiose do cafeeiro, também conhecida por mancha-de-olho-

pardo ou olho-de-pomba, é uma das doenças mais antigas do cafeeiro. Possui como agente causal o fungo *Cercospora coffeicola*, pertencente à família Dematiaceae, ordem Moniliales e à classe dos fungos mitospóricos (Zambolim et al., 2005).

Nas folhas, o sintoma é caracterizado por manchas circulares de coloração castanho-clara a escura, de 5 a 8 mm de diâmetro, com centro branco-acinzentado, quase sempre envolvido por um halo amarelado, dando à lesão aspecto de olho. No centro das lesões são formados os esporodóquios escuros do fungo, onde são produzidos conídios hialinos multi-septados agrupados em fascículos. Tem sido também observado outro tipo de sintoma, com lesões maiores e sem a presença de halos amarelados, sendo a doença denominada cercospora-negra. Uma única lesão na folha é suficiente para que a planta produza uma maior quantidade de etileno, provocando a queda da folha (Zambolim et al., 2005).

Nos frutos, a doença pode iniciar quatro meses após a floração, causando lesões deprimidas de coloração castanho-clara, dispostas no sentido do pedúnculo-coroa do fruto. Quando atacados no estágio ainda verde e verde cana, os frutos amadurecem precocemente, sendo este processo iniciado por um avermelhamento a partir da lesão, seguido de chochamento e queda prematura dos grãos. Em frutos mais desenvolvidos, a lesão aumenta de tamanho, tornando-se mais escura, promovendo a aderência da casca ao pergaminho do fruto, dificultando o processo de despulpamento do fruto e, em consequência, reduzindo a qualidade da bebida (Chalfoun, 1997; Pozza, 2008).

O que faz a cercosporiose ainda mais importante é o fato de se constituir um problema tanto para mudas em formação em viveiros como para lavouras em produção no campo. Nos viveiros, a doença provoca intensa desfolha, afetando o crescimento das mudas, tornando-as raquíticas e inadequadas para o plantio. Já em plantios novos, é comum ocorrerem intensos ataques do patógeno,

promovendo desfolha acentuada, prejudicando o crescimento das plantas, principalmente em lavouras implantadas em terrenos de baixa fertilidade ou com adubações desequilibradas, provocando o chochamento e a queda prematura dos frutos atacados, além de servir de porta de entrada para outros fungos que depreciam a qualidade da bebida do café (Chalfoun, 1997).

Solos de baixa fertilidade ou com desequilíbrio nutricional, principalmente em cálcio, potássio e nitrogênio, predispõem a planta ao ataque mais intenso do patógeno (Pozza, 2004; Pozza, 2008). Condições de alta umidade relativa e temperaturas amenas são ideais para o desenvolvimento do fungo, uma vez que este se desenvolve em temperaturas entre 10° e 25°C. Alta luminosidade (insolação) e alta carga pendente também contribuem para o desenvolvimento da doença. Segundo Zambolim & Vale (2003), quando a planta apresenta alta carga pendente, os frutos drenam grande parte dos nutrientes das folhas para que possam completar o seu desenvolvimento, tornando-as desnutridas, o que aumenta a incidência da doença.

Como medidas de controle da cercosporiose, algumas práticas culturais podem ser adotadas, principalmente em condições de viveiro, como controle da irrigação, luminosidade, utilização de substratos equilibrados e com boas propriedades físicas. O controle químico pode ser realizado por meio de aplicações de fungicidas cúpricos alternados com sistêmicos. Triazóis e estrobilurinas são bastante utilizados, pois, com as mesmas aplicações, já se realiza também o controle da ferrugem.

### **2.3 Indução de resistência no controle de doenças de plantas**

A indução de resistência em plantas contra fitopatógenos representa um método alternativo no controle de doenças, a qual ativa os mecanismos de defesa da planta que se encontram na forma latente. Esta ativação pode ser obtida pelo tratamento biótico, ou seja, formas avirulentas de patógenos, extratos vegetais,

extratos fúngicos (Standnik, 1999), óleos essenciais (Schwan-Estrada, 2003) ou por ativadores químicos, como o ácido aminobutírico (Cohen, 1996), ácido 2,6-dicloroisonicotínico e acibenzolar-S-metil (ASM) (Van Loon et al., 1998).

A proteção obtida contra determinado patógeno pode ser local ou sistêmica, dependendo do intervalo de tempo entre o tratamento inicial (indutor) e a inoculação do patógeno (desafiador). A sua duração pode ser de poucos dias a algumas semanas ou, mesmo, durar todo o ciclo de vida da planta (Pascholati & Leite, 1995), passando, assim, a funcionar como um mecanismo de defesa constitutivo da planta.

A resistência induzida é dividida em duas categorias, a resistência sistêmica adquirida (RSA) (Sticher et al., 1997) e a resistência sistêmica induzida (RSI) (Van Loon et al., 1998). Na primeira, a resistência se desenvolve sistêmica ou localizadamente em resposta a um patógeno que causa uma lesão necrótica (HR) ou por aplicação exógena de ácido salicílico ou compostos sintéticos, como o éster S-metil do ácido benzo [1,2,3] tiadiazol-7-carbotiólico (ASM) e o ácido 2,6-dicloroisonicotínico (INA). Geralmente, a RSA é efetiva contra amplo espectro de patógenos e está associada com a produção de proteínas relacionadas à patogênese (PR proteínas). Muitas delas possuem atividade antimicrobiana e são excelentes marcadores moleculares para a resposta de resistência (Hammerschmidt & Smith-Becker, 1999). Já na RSI, a molécula sinalizadora é mediada pelo ácido jasmônico e o etileno, sem envolver a expressão de PR proteínas (Van Loon et al., 1998).

Estudos têm focado o modo de ação de produtos sintetizados em laboratório a partir do ácido salicílico, caracterizados como ativadores de resistência de plantas, principalmente o acibenzolar-S-metil (ASM). De Nardi et al. (2006) observaram a expressão dos genes de defesa típica da SAR 16 horas após a pulverização do cafeeiro com ASM, por meio de PCR quantitativo em tempo real e da técnica de microarranjo. A principal resposta nas folhas foi a

expressão de genes relacionados à explosão oxidativa e ao aumento de barreiras físicas e químicas (peroxidase, quitinase, lipoxigenase, glutathione-S-transferase e superóxido dismutase).

Martins et al. (1998) verificaram ação protetora do ASM em mudas de cafeeiro, onde o mesmo foi capaz, em condições controladas, de induzir proteção contra *H. vastatrix* por até 10 semanas após a aplicação. Esse efeito indutor do ASM contra ferrugem do cafeeiro foi confirmado por Nojosa (2003), em cujo trabalho o tratamento com ASM proporcionou um controle de 56,8% em folhas destacadas e 52,0% em mudas de cafeeiro. Segundo o autor, nas plantas tratadas com ASM, foi possível observar aumento considerável nos teores de clorofila *a* e *b*, de lignina e da atividade de peroxidases.

Trabalhos desenvolvidos com extrato bruto ou óleo essencial de plantas medicinais têm indicado o potencial dos mesmos no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas e de outros compostos de defesa, indicando a presença de compostos com característica de eliciadores (Schwan-Estrada, 2003). Pereira et al. (2008) verificaram picos de atividade da enzima peroxidase em plantas de cafeeiro tratadas com ASM aos 2 e 11 dias após a pulverização e com óleo essencial de tomilho, aos 2 e 9 dias após a pulverização.

#### **2.4 Óleos essenciais no controle de fitopatógenos**

Óleos essenciais são substâncias obtidas de partes de plantas por meio de destilação por arraste de vapor d'água, entre outros métodos. Seus constituintes são complexos e variáveis, entre os quais se destacam aqueles de baixo peso molecular, como os monoterpenos com 10 carbonos e sesquiterpenos com 15 carbonos. Possuem características peculiares odoríferas, lipofílicas, líquidas e voláteis, conhecidos também como óleos voláteis, óleos etéreos ou

essências. Os constituintes apresentam-se em diferentes concentrações, ocorrendo sempre um composto majoritário e outros em menores quantidades (Simões et al., 1999).

O uso indiscriminado e incorreto de fungicidas vem causando sérios prejuízos aos ecossistemas, além da contaminação dos alimentos e a seleção de novas raças de patógenos resistentes a fungicidas. Assim, diversas pesquisas têm sido realizadas no intuito de desenvolver métodos e produtos alternativos para o controle de doenças de plantas, e os óleos essenciais têm apresentado potencial para o propósito (Fernandes, 2000). No contexto da agricultura alternativa, compostos presentes nos óleos essenciais das plantas poderiam funcionar seletivamente no controle de diversas doenças, inofensivamente ao ambiente (Shan Villar, 2002).

Vários trabalhos têm enfatizado as substâncias fungitóxicas ou fungistáticas presentes nos óleos essenciais de diferentes plantas. Stangarlin et al. (1999) detectaram, por meio de cromatografia delgada, a presença de compostos fungitóxicos em óleo derivado de plantas medicinais, inibindo o desenvolvimento de *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. Os autores observaram também a presença de duas frações fungitóxicas bem definidas nos extratos de erva-cidreira (*Melissa officinalis* L.) e uma nos extratos de cânfora (*Cinnamomum camphora* (L.) J. Presl) e alfavaca (*Ocimum basilicum* L.).

Lemos et al. (1990), avaliando os óleos essenciais de dez plantas brasileiras quanto às suas atividades antimicrobianas, verificaram que o óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) Cham. exibiu grande atividade contra *Saccharomices cerevisiae* Meyen ex E.C. Hansen, *Aspergillus flavus* Link ex Fries. Segundo Bonaldo et al. (1998), a atividade fungitóxica do óleo essencial de eucalipto *Corymbia citriodora* Hill & Johnson foi comprovada contra *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Phytophthora* sp., *Alternaria alternata* (Fr.) Kiessler e *C. graminicola* em testes *in vitro*, em que a inibição do crescimento

micelial destes patógenos foi de 100%.

Segundo Piper et al. (2001), a ação dos óleos essenciais e suas substâncias em contato com os micro-organismos promovem a permeabilidade das células, causando vazão dos seus constituintes. Fato comprovado por Rasooli et al. (2006), por meio da microscopia eletrônica de transmissão, em que os óleos essenciais de *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas e *Thymus x-porlock* provocaram danos severos às paredes, membranas e organelas celulares dos esporos de *Aspergillus niger*.

#### **2.4.1 Citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle.)**

A citronela é uma planta aromática semelhante ao capim-cidreira, conhecida por conter em suas folhas um óleo com propriedades repelentes, tendo como constituintes mais de 80 componentes, entre eles: citronelal, geraniol e limoneno. Os teores de óleo essencial na matéria seca e na matéria fresca são de 1,4% e 0,84%, respectivamente. Segundo Ketoh et al. (2002), o óleo essencial de citronela contém de 70% a 90% de geraniol.

Rios et al. (2003) utilizaram o óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.) *in vitro* para avaliar o crescimento micelial de *Colletotrichum acutatum* Simmonds, agente da flor-preta-do-morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.). Os autores observaram que o óleo de citronela, nas concentrações de 5%, 10% e 15%, reduziu parcialmente o crescimento micelial do fungo, enquanto que, na concentração de 20%, ocorreu inibição total deste crescimento. Costa et al. (2008) verificaram que o óleo essencial de citronela (*Cymbopogon martinii* (Roxb.) Watson), na concentração de 1,0%, apresentou elevada inibição sobre a bactéria *Erwinia carotovora*, *in vitro*. Segundo Scortichini & Rossi (1991), o óleo apresenta um fitoconstituente denominado de terpineno, que é responsável pelo antagonismo de bactérias, como *Erwinia amylovora* (Burril).

Santos et al. (2001) relataram a eficiência do óleo essencial de citronela sobre a inibição do desenvolvimento micelial de *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas*, causador da fusariose do abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merr.). Alves et al. (2003) relataram a eficiência dos óleos de citronela no controle dos fungos *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Saccardo, *Colletotrichum musae* Berk e Curt. e *F. subglutinans* f. sp. *ananas* Ventura, Zam. & Gilb.

Em experimentos realizados em mudas de bananeira (*Musa* spp.), Silva (2007) verificou que o óleo essencial de citronela 1,25% promoveu redução de 50% na incidência do mal-do-panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc)). Medice et al. (2007) verificaram que o óleo de citronela, além de inibir totalmente a germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd., agente causal da ferrugem-asiática-da-soja (*Glycine max* (L.) Merr.), reduziu a severidade da doença em casa de vegetação.

#### **2.4.2 Nim (*Azadirachta indica* A. Juss.)**

O nim é uma planta muito utilizada para fins medicinais e na agricultura como produto fitossanitário natural. Muitos compostos ativos já foram isolados da árvore nim, dos quais se destacam salanina, azadiractina e nimbolina, entre outros. O composto mais potente, a azadiractina, concentra-se nos frutos, no entanto, tem também sido encontrada em outras partes da planta, em menores concentrações (Martinez, 2002).

O óleo essencial de nim tem ação comprovada sobre grande número de patógenos. Barbosa et al. (2004) testaram diferentes concentrações de óleo de nim *in vitro* sobre o crescimento micelial de *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer, agente causal da vassoura-de-bruxa em cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.). Os autores verificaram que, na concentração de 1%, o mesmo foi capaz de inibir totalmente o desenvolvimento do patógeno.

Carneiro (2003), utilizando o óleo essencial de nim nas concentrações de

0,25%, 0,5%, 1% e 2% no controle do oídio (*Oidium lycopersici* Cooke & Massee) em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), constatou um controle significativo da doença, mesmo nas menores concentrações utilizadas, sendo este similar ao fungicida utilizado como padrão. No patossistema *Uromyces appendiculatus* (Pers.) Unger – feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), Pierre et al. (2007) verificaram redução da incidência da ferrugem em casa de vegetação e, por meio de observações realizadas em microscópio eletrônico de varredura, constataram redução do número e do tamanho dos soros urediniais do fungo.

#### **2.4.3 Tomilho (*Thymus vulgaris* L.)**

Outra espécie vegetal, conhecida popularmente por tomilho, apresenta constituintes ativos reconhecidos cientificamente como timol e carvacrol, com ação semelhante a bactericidas e a fungicidas (Pinto et al., 2001).

Em experimento realizado *in vitro* por Zambonelli et al. (1996), utilizando o óleo essencial de tomilho a 800 ppm, observou-se redução do crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc & Magnus) e *Pythium ultimum* Trow. Por meio da microscopia eletrônica de varredura, os autores constataram a degeneração e o extravasamento do conteúdo celular de hifas.

Alguns trabalhos realizados *in vivo* têm apresentado resultados promissores com a utilização do óleo de tomilho no controle de doenças. Almada et al. (1998) observaram efeito fungitóxico do óleo essencial de tomilho em plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) inoculadas com *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. & Curt.) Rostov em casa de vegetação. Medice et al. (2007) observaram reduções de 34,6% a 62,3% na severidade da ferrugem em diferentes cultivares de soja tratadas com o óleo essencial de tomilho a 3000 ppm. Os autores relataram um efeito direto do óleo de tomilho sobre a formação de urédias e urediniosporos do fungo. Fato também observado por Pereira et al.

(2008) em plantas de cafeeiro tratadas com óleo de tomilho a 500 ppm e inoculadas com *C. coffeicola*.

#### **2.4.4 Cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.)**

O óleo essencial de cravo-da-índia possui como constituinte majoritário o eugenol. Segundo Mendes Ferrão (1993), o eugenol representa 84,4% dos componentes do óleo essencial de cravo-da-índia.

Analisando o poder antimicrobiano do óleo essencial do *Syzygium aromaticum*, Ponce et al. (2003) constataram que a concentração de 0,04% e 0,05% foi suficiente para inibição do crescimento de bactérias pelo método mínimo de concentração. Bullerman et al. (1977) observaram que o óleo essencial de cravo-da-índia a 250 mg mL<sup>-1</sup> foi suficiente para inibir o desenvolvimento e a produção de toxina de *Aspergillus parasiticus* Spear, enquanto o eugenol apresentou efeito inibidor na concentração de 125 mg mL<sup>-1</sup>. Souza et al. (2004), utilizando o óleo essencial de cravo-da-índia *in vitro*, verificaram que o mesmo inibiu completamente o desenvolvimento *Rhizopus* sp., *Eurotium repens* de Bary e *A. niger* a partir da concentração de 600 µg mL<sup>-1</sup> e de *Penicillium* spp. a 800 µg mL<sup>-1</sup>. Segundo Amaral & Barra (2005), o óleo essencial de cravo-da-índia age, possivelmente, na parede celular dos fungos.

O carvacrol, outro componente do metabolismo secundário presente no óleo essencial de cravo-da-índia, tem sido investigado por seu efeito bactericida, mostrando evidências significativas de função antioxidante (Schauenberg, 1977).

#### **2.4.5 Canela (*Cinnamomum zeylanicum* Breym)**

A composição do óleo essencial de canela é bastante variável, podendo este ser extraído tanto da casca como das folhas da planta. Segundo Albuquerque (1989), o óleo apresenta de 60% a 90% de aldeído cinâmico e 10%

de eugenol, quando extraído da casca e 10% de aldeído cinâmico e de 60% a 95% de eugenol, quando extraído das folhas.

Diversos trabalhos desenvolvidos *in vitro* e *in vivo* mostram o potencial do óleo essencial de canela no controle de fitopatógenos. Souza et al. (2004), utilizando o óleo essencial de canela a 5000 ppm, observaram total inibição do desenvolvimento micelial de *Rhizopus* sp., *Penicillium* spp., *E. repens* e *A. niger*. Segundo Montes-Belmont & Carvajal (1998), os compostos cinamaldeídos e eugenol são os dois componentes de maiores propriedades antimicrobianas presentes no óleo.

Em estudo realizado por Bullerman et al. (1977), o óleo essencial de canela inibiu o desenvolvimento e a produção de toxina por *A. parasiticus*, quando utilizado na concentração de 200 mg mL<sup>-1</sup>. Abreu (2006) observou redução de 26%, 62% e 95% na incidência da pinta-preta (*Alternaria solani* (Ell. & Mart.) Jones & Groot) do tomateiro, em plantas tratadas com o óleo essencial de canela, nas concentrações de 500; 750 e 5.000 µL L<sup>-1</sup>, respectivamente. Em campo, o autor observou redução de 12,5% e 32,8% na incidência da doença em folíolos de plantas tratadas com óleo, nas concentrações de 3.000 e 5.000 µL L<sup>-1</sup>.

#### **2.4.6 Capim-limão (*Cymbopogon citratus* Staph)**

O citral é o componente principal do óleo essencial de capim-limão, de 70% a 80%, sendo o responsável pelo odor de limão característico da planta (Simões et al., 2002).

A aplicação do óleo essencial de capim-limão como opção no controle fitossanitário vem sendo estudada por vários pesquisadores. Devi et al. (1982) observaram efeito letal do óleo de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus* (D. C.) Stapf.) sobre o desenvolvimento micelial de *Rhizoctonia solani* Kuhn e inibição completa da germinação de esclerócios. Wilson et al. (1997) verificaram que o óleo essencial de *C. citratus* inibiu totalmente a germinação de esporos de

*Botrytis cinerea* Persoon ex Fries, até mesmo em baixas concentrações do óleo, 0,39% e 6,25%.

Nguefack et al. (2004), avaliando o efeito do óleo essencial de capim-limão no crescimento micelial de fungos, observaram redução de 64% no desenvolvimento de *Fusarium moniliforme* Sheldon, na concentração de 200 ppm. Já na concentração de 500 ppm, o mesmo reduziu em 48% e 77% no desenvolvimento micelial de *A. flavus* e *Aspergillus fumigatus* Fresenius, respectivamente. O controle total ocorreu na concentração de 300 ppm para *F. moniliforme* e 1.200 ppm para *A. flavus* e *A. fumigatus*.

Rozwalka et al. (2008) verificaram a atividade fungitóxica do óleo essencial de capim-limão sobre o desenvolvimento micelial de *Glomerella cingulata* (Stonemam) Spauld & Schrenk e *C. gloeosporioides*.

#### **2.4.7 Eucalipto (*Corymbia citriodora* Hook)**

Em geral, os óleos essenciais de eucalipto são constituídos de terpenos mais complexos, como o citronelal e o cineol. Outros constituintes da essência estão presentes na porcentagem de 20% a 30%, como  $\alpha$ -pineno, piperitona, felandreno, butiraldeído e hexanal (Charles & Simon, 1990).

A atividade antimicrobiana do óleo essencial de eucalipto foi verificada por diversos autores. Trabalhando com diferentes espécies de eucalipto e generos correlatos (*Eucalyptus urophylla* S.T. Blake, *Eucalyptus camaldulensis* Dehn e *C. citriodora*) na inibição micelial *in vitro* de *F. oxysporum*, *Botrytis sorokiniana* e *B. cinerea*, Salgado et al. (2003) concluíram que todas as espécies vegetais apresentaram efeitos fungistáticos nas concentrações de 500 mg L<sup>-1</sup>, mas o *E. urophylla* obteve o melhor desempenho, que foi atribuído à presença do composto globulol.

Bonaldo et al. (2004), utilizando extratos aquosos de eucalipto em pepino contra *Colletotrichum lagenarium* (Pass.) Ells & Halst, agente causal da

antracnose, verificaram que o mesmo, além de apresentar atividade antifúngica ao patógeno, conferiu indução de resistência local.

#### **2.4.8 Árvore-de-chá (*Melaleuca alternifolia* Cheel)**

A constituição química do óleo essencial das folhas da árvore-de-chá é bem conhecida, sendo este rico em terpinen-4-ol, principal responsável por suas propriedades antifúngicas e antibacterianas (Vieira et al., 2004).

Ponce et al. (2003), analisando o poder antimicrobiano do óleo essencial de árvore-de-chá, constataram que a concentração de 500 a 800  $\mu\text{L L}^{-1}$  foi suficiente para a inibição do crescimento de bactérias pelo método de concentração mínima. Medice (2007), utilizando o óleo essencial de árvore-de-chá 0,06% no controle da ferrugem-asiática-da-soja em campo, verificou redução de 70% na severidade da doença, semelhante à conferida pelo fungicida tebuconazole, utilizado como padrão.

### **2.5 A microscopia aplicada em estudos com patógenos e suas interações com as plantas**

Na interação planta-patógeno, a maioria dos eventos que levam ao estabelecimento de relações parasíticas ou a resistência da hospedeira, ocorre na célula, tanto do patógeno como da planta hospedeira. Detalhes de tais modificações têm sido obtidos por meio de estudos bioquímicos, enzimológicos e moleculares, mas sua visualização só tem sido possível por meio dos estudos morfológicos. Para se visualizar tais processos de infecção, os microscópios de luz (ML), o microscópio eletrônico de transmissão (MET) e o microscópio eletrônico de varredura (MEV), têm proporcionado inestimáveis contribuições. Estes representam importantes ferramentas para o entendimento dos processos relacionados ao desenvolvimento das doenças em plantas, ou seja, da adesão, germinação, penetração, colonização e reprodução dos patógenos, bem como das

reações das plantas a esses agentes.

Trabalhos ultra-estruturais utilizando MEV e MET com os patógenos *C. coffeicola* e *H. vastatrix* em cafeeiro relacionados com os eventos de pré-penetração, penetração e colonização são raros. Até o momento, não se tem conhecimento concreto do tipo de barreiras produzidas pela planta contra a ação do patógeno, se estas são bioquímicas (fitoalexinas, fenóis, quitinases e glucanases) ou físicas (lignina, papilas, gomas, ceras, etc). Estes estudos são necessários para o esclarecimento das respostas de defesa, pré-formada e pós-formada pela planta, para os patógenos em estudo.

A exemplo da utilização da microscopia eletrônica na investigação dos mecanismos de ação de óleos essenciais em patógenos, tem-se o trabalho realizado por Medice et al. (2007), utilizando a MEV. Estes autores observaram que plantas de soja tratadas com óleo essencial de tomilho e inoculadas sete dias depois com urediniósporos de *P. pachyrhizi* apresentavam urédias menores e com número reduzido de urediniósporos, os quais também se apresentavam plasmolizados e inviáveis. Pereira et al. (2008) também verificaram tal efeito por meio da MEV em plantas de cafeeiro tratadas com o óleo essencial de tomilho e inoculadas com *C. coffeicola*.

Rasooli et al. (2006), em observações realizadas por meio da MET, verificaram que os óleos essenciais de *Thymus eriocalyx* e *Thymus x-porlock* provocaram danos severos às paredes, membranas e organelas celulares dos esporos de *A. niger*. Segundo os autores, a exposição do micélio aos óleos essenciais de *T. eriocalyx* e *T. x-porlock* provocou alterações morfológicas nas hifas, ruptura da membrana plasmática e destruição mitocondrial.

Assim, a microscopia aplicada a estudos de interação entre plantas e patógenos e ao controle de doenças de plantas facilita o entendimento dos mecanismos pelos quais os patógenos atacam e o modo de ação dos óleos essenciais ou outras substâncias utilizadas no controle de doenças.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C.L.M. **Controle de *Alternaria solani* em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com óleos essenciais**. 2006. 71 p. Tese (Doutorado em Agronomia - Horticultura) – Faculdade Paulista de Ciências Agrárias, Botucatu.

AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 5<sup>th</sup>ed. New York: Academic, 2005. 922p.

ALBUQUERQUE, J. **Plantas medicinais de uso popular**. Brasília: ABEAS/MEC, 1989. 96p.

ALMADA, C.B.J.; LIMA, C.Z.R.L.Z.; POSSAMAI, C.J. Controle alternativo do míldio (*Pseudoperonospora cubensis* Berk & Curt) em pepino (*Cucumis sativus* L.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 294, ago. 1998. Suplemento.

ALVES, E.S.S.B.; PUPO, M.S.; MARQUES, S.S.; VILCHES, T.T.B.; SANTOS, R.B.; VENTURA, J.A.; FERNANDO, P.M.A. Avaliação de óleos essenciais na inibição do crescimento de fungos de fruteiras tropicais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 343-343, ago. 2003. Suplemento.

AMARAL, M.F.Z.J.; BARA, M.T.F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 2, p. 5-8, dez./jun. 2005. Disponível em: <[http://www.farmacia.ufg.br/revista/\\_pdf/vol2\\_2\\_supl/resumos/ref\\_v2\\_2\\_supl-2005\\_p5-8%20Amaral.pdf](http://www.farmacia.ufg.br/revista/_pdf/vol2_2_supl/resumos/ref_v2_2_supl-2005_p5-8%20Amaral.pdf)>. Acesso em: 10 dez. 2008.

BARBOSA, S.; GUILHERME, R.R.; ALESSANDRA, M.H.; LUCÍLA, G.S.E. Nim (*Azadirachta indica*) como candidato para controle biológico de fungos patogênicos do cacau (*Theobroma cacao*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p.159, ago. 2004. Suplemento.

BONALDO, S.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; TESSMANN, D.J.; SCAPIM, C.A. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 128-134, mar./abr. 2004.

BONALDO, S.; SCHWAN-ESTRADA, R.F.K.; STANGARLIN, R.J.; CRUZ, M.E.S.; PASCHOLATI, F.S. Inibição do crescimento micelial de fungos fitopatogênicos e indução de fitoalexinas por *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 229, ago. 1998. Suplemento.

BULLERMAN, L.B.; LIEW, F.Y.; SEIER, S.A. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 6, n. 42, p. 1107-1109, nov./dez. 1977.

CARNEIRO, S.M.T.P.G. Efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 29, n. 3, p. 262-265, set. 2003.

CARVALHO, V.L.; CHALFOUN, S.M. **Cercospora**: doença do cafeeiro também chamada de "olho pardo" ou "olho de pomba. Belo Horizonte: EPAMIG, 2001. (Informe Tecnológico, 26).

CHALFOUN, S.M. **Doenças do cafeeiro**: importância, identificação e métodos de controle. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 93 p.

CHARLES, D.J.; SIMON, J.E. Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil. **Journal of American society of Horticultural Science**, Alexandria, v. 115, n. 3, p. 458-462, maio 1990.

COHEN, Y. Induced resistance against fungal diseases by aminobutyric acids. In: LYR, H.; RUSSEL, P.E.; SISLER, H.D. (Ed.). **Modern fungicides and antifungal compounds**. Andover: Intercept, 1996. p. 461-466.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira café safra 2008, segunda estimativa, maio/2008**. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/2\\_levantamento\\_2008.pdf](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/2_levantamento_2008.pdf)> Acesso em: 18 jun. 2008.

COSTA, C.M.G.R.; SANTOS, M.S.; BARROS, H.M.M.; AGRA, P.F.M.; FARIAS, M.A.A. Óleo essencial de citronela no controle da bactéria fitopatogênica *Erwinia carotovora*. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 2., n. 2, p.11-14, jun. 2008.

DE NARDI, B.; DREOS, R.; TERRA, L.D.; MARTELLOSI, C.; ASQUINI, E.; TORNINCASA, P.; GASPERINI, D.; PACCHIONI, B.; RATHINAVELU, R.; PALLAVICINI, A.; GRAZIOSI, G. Differential responses of *Coffea arabica* L. leaves and roots to chemically induced systemic acquired resistance. **Genome**, Toronto, v. 49, n. 12, p. 1594–1605, Dec. 2006.

DEVI, S.B.; NASEEMA, A.; NAIR, M.C. In vitro effect of lemongrass oil on the mycelial growth of *Rhizoctonia solani*. **Indian Phytopathology**, Collation, v. 35, n. 4, p. 714-6, 1982.

FERNANDES, M.C.A. Emprego de métodos alternativos de controle de pragas e doenças na olericultura. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 110-112, 2000. Suplemento.

GODOY, C.V.; BERGAMIN FILHO, A.; SALGADO, C.L. Doenças do cafeeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p.184-200.

GRANER, E.A.; GODOY JÚNIOR, C. **Manual do cafeicultor**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1967. 320 p.

GUIRALDO, N.; AMBROSANO, E.J.; MENDES, P.C.D.; ROSSI, F.; AVÉRALO, R.A. Medidas de controle de doenças em sistema agroecológicos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, n. 1, p. 153-156, jan./mar. 2004.

HAMMERSCHMIDT, R.; SMITH-BECKER, J.A. The role of salicylic acid in disease resistance. In: AGRAWAL, A.A.; TUZUN, S.; BENT, E. (Ed.). **Induced plant defenses against pathogens and herbivores - biochemistry, ecology and agriculture**. Saint Paul: APS, 1999. p. 37-53.

KETOH, G.K.; GLITHO, A.I.; HUIGNARD, J. Susceptibility of the bruchid *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae) to three essential oils. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 95, n. 1, p. 174-184, Jan. 2002.

LEMOS, T.L.G.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W.; CRAVERO, A.A.; CLARK, A.M.; Mc CHESNEY, J.D. Antimicrobial activity of essential oils of brazilian plants. **Phytoterapy Research**, Chichester, v. 4, n. 2, p. 82-84, Apr. 1990.

MARTINEZ, S.S. Composição do nim. In: MARTINEZ, S.S. **O Nim - *Azadirachta indica***: natureza, usos múltiplos, produção. Londrina: Instituto Agrônômico do Paraná, 2002. p. 23-30.

MARTINS, E.M.; GUZZO, S.D.; CASTRO, R.M.; KYDA, K. Ação protetora do acibenzolar-S-metil (Bion<sup>®</sup>) em plantas de cafeeiro contra ferrugem. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 24., 1998, Poços de Caldas. **Anais...** Poços de Caldas: SDR/PROCAFÉ/PNFC, 1998. p. 177-178.

MAZZAFERA, P.; FAZUOLI, L.C.; CARVALHO, A. Ploidy and resistance of *Coffea arabica* and related species to coffee rust. **Journal of Genetics and Breeding**, Rome, v. 47, n. 3, p. 267-270, Sept. 1993.

MEDICE, R. **Produtos alternativos no manejo da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) da soja**. 2007. 102 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R.T.; JÚNIOR, M.R.G.; LOPES, E.A.G.L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p.83-90, jan./fev. 2007.

MENDES FERRÃO, J.E. **Especiarias**: cultura, tecnologia e comércio. Lisboa: Ministério do Planejamento e da Administração do Território/Secretaria de Estado da Ciência e Tecnologia/Instituto de Investigação Científica Tropical, 1993. 443 p.

MONACO, L.C. Consequences of the introduction of coffee leaf rust into Brazil. **Annals Academic Science**, New York, v. 287, p. 57-71, 1977.

MONTES-BELMONT, R.; CARVAJAL, M. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 61, n. 5, p. 616-619, maio 1998.

NGUEFACK, J.; LETH, V.; AMVAM ZOLLO, P.H.; MATHUR, S.B. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. **International Journal of Food Microbiology**, Washington, v. 94, n. 3, p.329-334, June 2004.

NOJOSA, G.B.A. **Efeito de indutores na resistência de *Coffea arabica* L. à *Hemileia vastatrix* BERK & BR. e *Phoma costarricensis* ECHANDI.** 2003. 102 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: Mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos.** São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, cap. 22, p. 417-454.

PEREIRA, A.A.; SAKIYAMA, N.S. Melhoramento genético do cafeeiro visando resistência às doenças. In: SIMPÓSIO DE ATUALIZAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS, GENÉTICA E MELHORAMENTO DO CAFEEIRO, 3., 1999, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 1999. p. 117-140.

PEREIRA, R.B.; ALVES, E.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; RESENDE, M.L.V.; LUCAS, G.C.; FERREIRA, J.B. Extrato de casca de café, óleo essencial de tomilho e acibenzolar-S-metil no manejo da cercosporiose-do-cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 10, p. 1287-1296, out. 2008.

PEREIRA, A.A. Uso da resistência genética no manejo integrado de doenças do cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 36., 2003, Uberlândia. **Resumos...** Uberlândia: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2003. p. 129-137.

PIERRE, R.O.; ALVES, E.; MEDICE, R.; PERINA, F.J.; LEITE LOPES, E.A.G. Óleos essenciais e extratos vegetais no controle da ferrugem *Uromyces appendiculatus* em feijoeiro. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 30., 2007. Jaboticabal. **Resumos...** Botucatu: Associação Paulista de Fitopatologia, v. 33, p. 18-18, 2007.

PINTO, J.E.B.P.; LAMEIRA, O.L.; SANTIAGO, E.J.A. de; SILVA, F.G. **Cultivo de plantas medicinais, aromáticas e condimentares.** Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 222 p.

PIPER, P.; CALDERON, C.O.; HATZIXANTHIS, K.; MOLLAPOUR, M. Weak acid adaptation: the stress response that confers resistance to organic acid food preservatives. **Microbiology**, Washington, v. 147, n. 10, p. 2635-2642, out. 2001.

PONCE, A.G.; FRITZ, R.; VALLE, C.; ROURA, S.I. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. **Lebensmittel-Wissenschaft-Technologie**, London, v. 36, n. 7, p. 679–684, July 2003.

POZZA, A.A.A.; MARTINEZ, H.E.P.; POZZA, E.A.; CAIXETA, S.L.; ZAMBOLIM, L. Intensidade da mancha de olho pardo em mudas de cafeeiro em função de doses de N e K em solução nutritiva. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 29-33, jan./mar. 2000.

POZZA, E.A. **Manejo integrado de doenças do cafeeiro**. Lavras: UFLA, 2004. 111 p.

POZZA, E.A. A Importância das doenças foliares do cafeeiro, In: NÚCLEO DE ESTUDOS EM FITOPATOLOGIA. (Org.). **Manejo fitossanitário da cultura do cafeeiro**. Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2008. v. 1, p. 81-94.

RASOOLI, I.; REZAEI, M.B.; ALLAMEH, A. Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-porlock*. **Food Control**, Reading, v. 17, p. 359-364, 2006.

RIOS, S.S.; CANUTO, R.S.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; SOUSA, L.T.; SANTOS, L.O.; SILVA, J.J.C.; NORONHA, R.A.; PEREIRA, M.R.; DIAS, M.S.C. Inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum acutatum* Si. Mmonds, agente causal da flor preta do morangueiro (*Fragaria x ananassa* Dulch) com óleo de citronela (*Cimbopogon* sp.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 360, ago. 2003. Suplemento.

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

SALGADO, A.P.S.P.; CARDOSO, M.G.; SOUZA, P.E.; ABREU, C.M.P.; PINTO, J.E.B.P. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 249-254, mar./abr. 2003.

SANTOS, M.P.; ALVES, E.S.S.; SANTOS, R.B.; VENTURA, J.A.; FERNANDES, P.M.B. Eficiência *in vitro* de óleos essenciais no controle de *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* agente etiológico da fusariose do abacaxizeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 335, ago. 2001. Suplemento.

SCHAUENBERG, P.; PARIS, F. **Guine to medicinal plants**. New Canaan: Keats, 1977. 349 p.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Potencial de extrato e óleos essenciais de vegetais como indutores de resistência - plantas medicinais. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS CONTRA FITOPATÓGENOS, 1., 2003, São Pedro. **Anais...** São Pedro: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz /USP, 2003.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Org.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. v. 1, p. 125-138.

SCORTICHINI, M.; ROSSI, M.P. Preliminary *in vitro* evaluation of the antimicrobial activity of terpenes and terpenoids Towards *Erwinia amylovora* (Burril). **Journal of Applied Bacteriology**, Roma, v. 71, n. 2, p. 109-112, Feb. 1991.

SHAN VILLAR, A.Y.K. **Constituição química e atividade fungitóxica de extratos de *Thymus vulgaris* L.** 2002. 58 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SILVA, J.C. **Uso de óleos essenciais, extratos vegetais e indutores de resistência no controle alternativo do mal-do-Panamá da bananeira**. 2007. 65 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Alagoas, Rio Largo.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS/EDUFSC, 1999.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4.ed. Porto Alegre: UFRGS, 2002. 821p.

SOUZA, S.M.C.; PEREIRA, M.C.; ANGÉLICO, C.L.; PIMENTA, C.J.  
Avaliação de óleos essenciais de condimentos sobre o desenvolvimento micelial de fungos associados a produtos de panificação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 3, p. 685-690, maio/jun. 2004.

STANDNIK, M.J. **Induction of resistance in wheat by a benzothiadiazole derivative against the powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*): practical aspects and mechanisms of action**. 1999. Thesis (PhD) - University of Hohenheim, Stuttgart.

STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 11, n. 1, p. 16-21, jan. 1999.

STICHER, L.; MAUCH MANI, B.; METRAUX, J.P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 35, p. 235-270, 1997.

VAN LOON, L.C.; BAKKER, P.A.H.M.; PIETERSE, C.M.J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 36, p. 453-483, 1998.

VIEIRA, T.R.; BARBOSA, L.C.A.; MALTHA, C.R.A., PAULA, V.F.; NASCIMENTO, E.A. Constituintes químicos de *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 536-539, abr. 2004. Disponível em: < <http://quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2004/vol27n4/03-AR03090.pdf> >. Acesso em: 10 dez. 2008.

WILSON, C.L.; SOLAR, J.M.; EL GHAOUTH, A.; WISNIEWFKI, M.E. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 81, n. 2, p. 204-210, Feb. 1997.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R. Estratégias múltiplas no manejo integrado de doenças do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 137-153, ago. 2003. Suplemento.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, E.M. Doenças do cafeeiro (*C. arabica* e *C. canephora*), In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p.165-180.

ZAMBONELLI, A.; D'AURELIO, A.Z.; BIANCHI, A.; ALBASIN, A. Effects of essential oils on phytopathogenic fungi *in vitro*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 144, n. 3, p. 491-494, Mar. 1996.

## **CAPÍTULO 2**

### **ÓLEOS ESSENCIAIS NO MANEJO DA FERRUGEM DO CAFEIEIRO**

## RESUMO

PEREIRA, Ricardo Borges. Óleos essenciais no manejo da ferrugem do cafeeiro. In: \_\_\_\_\_. **Potencial de óleos essenciais no manejo da ferrugem e da corcosporiose do cafeeiro**. 2008. Cap.2, p.29-61. Tese (Doutorado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

A ferrugem é a doença de maior importância no cafeeiro, pois provoca intensa desfolha das plantas, principalmente em anos de alta produção. Seu controle é realizado mediante a aplicação de fungicidas cúpricos e sistêmicos. No entanto, com o decorrer do tempo, estes podem selecionar raças resistentes do patógeno. Assim, os óleos essenciais surgem como uma alternativa para o controle da ferrugem em cafeeiro. Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram: (i) avaliar o efeito *in vitro* dos óleos essenciais de canela (CA), citronela (CI), capim-limão (CL), cravo-da-índia (CR), árvore-de-chá (ME), tomilho (TO), nim (NI) e eucalipto (EU), na germinação de urediniósporos de *Hemileia vastatrix*; (ii) avaliar o efeito destes, acibenzolar-S-metil (ASM) e tebuconazole no controle da ferrugem nas cultivares de cafeeiro Catucaí 2SL, Catucaí IAC 62 e Mundo Novo 379/19 em casa de vegetação e (iii) avaliar o efeito sistêmico dos óleos essenciais mais promissores, ASM e tebuconazole sobre a ferrugem do cafeeiro em três cultivares. Todos os óleos essenciais promoveram a inibição da germinação dos urediniósporos de *H. vastatrix* com o aumento das concentrações. O tratamento tebuconazole promoveu o maior controle da doença em todas as cultivares. Os óleos essenciais promoveram controle parcial da ferrugem em casa de vegetação, sendo os óleos essenciais de TO, CR e CI os mais promissores para o controle da doença nas cultivares Catucaí 2SL, Catucaí IAC 62 e Mundo Novo 379/19, respectivamente. O fungicida tebuconazole apresentou efeito sistêmico contra a ferrugem do cafeeiro em todas as cultivares, enquanto ASM apresentou efeito sistêmico somente na cultivar Catucaí 2SL. O óleo essencial de CR apresentou efeito local, enquanto o óleo de CI apresentou efeito sistêmico contra a ferrugem do cafeeiro.

---

\* **Comitê de Orientação:** Eduardo Alves – UFLA (Orientador); Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA (Co-orientador) e Mário Sobral de Abreu – UFLA (Co-orientador).

## ABSTRACT

PEREIRA, Ricardo Borges. Potential of the essential oils in the control of rust coffee plant. In: \_\_\_\_\_. **Essential oils in the control of rust and brown spot eye of coffee plant**. 2008. Chap. 2, p.29-61. Thesis (Doctor in Phytopathology) - Federal University of Lavras, Lavras, MG.\*

The coffee leaf rust is the most important disease in coffee plant, because it causes severe defoliation of the plants, mainly in years of the high production. Its control is made by application of copper and systemic fungicides, however, in long-time; they can select resistant pathogens races. Thus, the essential oils are an alternative to control of coffee plant rust. Considering the exposed, the objectives of the work were: (i) to assess the effect in vitro of essential oils of cinnamon (CA), citronella (CI), lemon grass (CL), clove (CR), tea-tree (ME), thyme (TO), neem (NI) and eucalyptus (EU) on the *Hemileia vastatrix* urediniospores germination; (ii) to assess the effect of these, acibenzolar-S-methyl (ASM) and tebuconazole to control of rust in coffee cultivars Catucaí 2SL, Catucaí IAC 62 and Mundo Novo 379/19 in a greenhouse and; (iii) to assess the systemic effect of the essential oils most promising, as well ASM and tebuconazole against coffee leaf rust, in three coffee cultivars. All essential oils promoted the inhibition of urediniospores germination of *H. vastatrix* with increasing concentrations. The treatment tebuconazole promoted the best disease control in all cultivars. The essential oils promoted partial rust control in the greenhouse, and the essential oils of TO, CR and CI were the most promising to rust control in Catucaí 2SL, Catucaí IAC 62 and Mundo Novo 379/19 cultivars, respectively. The fungicide tebuconazole presented systemic effect against the coffee leaf rust in all cultivars, while ASM presented systemic effect only in Catucaí 2SL cultivars. The essential oil of CR presented local effect, while the oil of the CI presented systemic effect against coffee leaf rust.

---

\***Advising Committee:** Eduardo Alves - UFLA (Adviser), Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA (Co-adviser) and Mário Sobral de Abreu - UFLA (Co-adviser).

## 1 INTRODUÇÃO

O cafeeiro (*Coffea arabica* L.) é uma das importantes fontes de divisas para o Brasil, o qual se destaca como o principal produtor e exportador mundial de café, com a produção de 45,85 milhões de sacas de 60 quilos beneficiados, na safra de 2008. As regiões Sul e Oeste Mineiro contribuem com pouco mais de 50% deste total, ou seja, 23,3 milhões de sacas (Companhia Nacional de Abastecimento, Conab, 2008).

A produção de café, principalmente de *C. arabica*, é essencial para o PIB do Brasil. Assim, um dos principais obstáculos à produção é a ocorrência de uma série de doenças que acometem a cultura, destacando-se, entre as principais, a ferrugem do cafeeiro, causada por *Hemileia vastatrix* Berk et. Br (Zambolim et al., 2005).

No Brasil, desde que foi identificada na Bahia, em 1970, a ferrugem está relacionada a perdas. Quando em condições favoráveis, as perdas devido à doença podem chegar a 50% da produção, pois os danos se estendem aos anos seguintes (Pozza, 2008).

Os principais danos causados pela ferrugem são ocasionados pela queda precoce das folhas e seca dos ramos produtivos que, por consequência, não produzem no ano seguinte, diminuindo a produtividade e a qualidade da bebida (Godoy et al., 1997; Zambolim et al., 2005). Essa seca constante dos ramos reduz a longevidade dos cafeeiros, tornando a lavoura gradativamente antieconômica (Pereira, 2003; Pozza, 2008).

A maioria das cultivares de cafeeiro plantadas no Brasil é suscetível à ferrugem, dependendo somente de condições ambientais favoráveis para a ocorrência da doença, que é agravada, principalmente, em anos de alta produção (Zambolim & Vale, 2003).

O controle da doença tem sido realizado de forma convencional, com a aplicação de fungicidas cúpricos e sistêmicos, porém, o uso indiscriminado desses produtos pode promover danos irreversíveis ao ambiente e à saúde humana.

Diante disso, pesquisas sobre o potencial dos óleos essenciais no controle de doenças de plantas têm sido realizadas em vários patossistemas. Medice et al. (2007) verificaram que os óleos essenciais de eucalipto (*Corymbia citriodora* Hill & Johnson), tomilho (*Thymus vulgaris* L.), nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) e citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle.) inibiram totalmente a germinação de uredinósporos de *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. e reduziram a severidade da ferrugem-asiática-da-soja (*Glycine max* (L.) Merr.), em casa de vegetação.

Alves et al. (2003) relataram a eficiência dos óleos de citronela e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf) no controle dos fungos *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Saccardo, *Colletotrichum musae* Berk e Curt. e *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* Ventura, Zam. & Gilb.

Ranasingue et al. (2002) relataram a atividade fungitóxica e fungistática dos óleos essenciais de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (Linne) Merrill) e canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume.) sobre *C. musae*, *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff & Maubl. e *Fusarium proliferatum* (Matsuhima) Nirenberg.

Além da atividade *in vitro*, a eficiência dos óleos essenciais no controle de doenças de plantas tem sido evidenciada em vários patossistemas, tais como *C. coffeicola* em cafeeiro (Pereira et al., 2008), *P. pachyrhizi* em soja (Medice et al., 2007), *Alternaria solani* (Ell. & Mart.) Jones & Grout em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) (Abreu, 2006) e *Colletotrichum acutatum* Simmonds em morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.) (Rios et al., 2003), entre outros.

Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram: avaliar o efeito *in*

*in vitro* dos óleos essenciais na germinação de urediniósporos de *H. vastatrix*; avaliar o efeito destes no controle da ferrugem em cultivares de cafeeiro e avaliar a proteção sistêmica em cultivares de cafeeiro tratadas com os óleos essenciais mais promissores e seus efeitos no controle da ferrugem do cafeeiro.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local de realização dos trabalhos

Os experimentos deste trabalho foram realizados no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra-Estrutural (LME), em casa de vegetação, do Departamento de Fitopatologia (DFP) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), na cidade de Lavras, MG, situada a 960 m de altitude, 44,97° de longitude Oeste e 21,22° de latitude Sul, no período de janeiro a novembro de 2008.

### 2.2 Obtenção do inóculo de *Hemileia vastatrix*

Folhas com esporulação natural de *H. vastatrix* foram coletadas em lavouras cafeeiras da região de Lavras, MG. Em seguida, os urediniósporos foram retirados das folhas mediante raspagem, utilizando-se um pincel de cerdas macias e acondicionados em microtubos de 2 mL, por um período máximo de 48 horas, até a sua utilização.

Para a inoculação, foi preparada uma suspensão de urediniósporos de *H. vastatrix*, na concentração de 0,5 g de urediniósporos L<sup>-1</sup> de água destilada, contendo tween 80 (0,05%), concentração esta utilizada em todos os experimentos.

### 2.3 Preparo e condução das mudas de cafeeiro

Em todos os experimentos foram utilizadas mudas de cafeeiro das cultivares Mundo Novo 379/19 e Catuaí IAC 62, como materiais suscetíveis a *H. vastatrix* e a cultivar Catucaí 2SL como material parcialmente resistente a *H. vastatrix*.

As mudas foram adquiridas na Estação Experimental da Epamig, Centro

de Pesquisa do Sul de Minas, Lavras, MG, com seis meses de idade. Em seguida, foram transplantadas para sacos de poliestireno de 3 L contendo substrato Plantmax<sup>®</sup> HT. As plantas foram mantidas em casa de vegetação durante todo o período experimental, onde foram irrigadas periodicamente e adubadas conforme a recomendação de Ribeiro et al. (1999).

#### 2.4 Obtenção dos óleos essenciais

Os óleos essenciais utilizados foram adquiridos da Brasil Portrait (2008).

**TABELA 1:** Nome comum e científico das plantas utilizadas como fontes de extração dos óleos essenciais.

Nome comum	Nome científico
Árvore-de-chá	<i>Melaleuca alternifolia</i>
Canela	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>
Capim-limão	<i>Cymbopogon citratus</i>
Citronela	<i>Cymbopogon nardus</i>
Cravo-da-índia	<i>Syzygium aromaticum</i>
Eucalipto	<i>Corymbia citriodora</i>
Nim	<i>Azadirachta indica</i>
Tomilho	<i>Thymus vulgaris</i>

#### 2.5 Avaliação da toxidez dos óleos essenciais na germinação de urediniósporos de *Hemileia vastatrix*

Para a avaliação da toxidez dos óleos essenciais na germinação de *H. vastatrix*, foram testados os óleos de tomilho, cravo-da-índia, eucalipto, canela, citronela, árvore-de-chá, nim e capim-limão, nas concentrações de 0, 250, 500, 1.000, 1.500 e 2.000  $\mu\text{L L}^{-1}$  de água. Foi adicionado leite em pó 10 g  $\text{L}^{-1}$  como emulsificante natural às concentrações de 2000  $\mu\text{L L}^{-1}$ , das quais partiram as demais diluições. A fim de isolar o efeito do leite em pó, presente nas diluições

dos óleos, foi adicionado ao experimento um tratamento contendo as mesmas quantidades de leite em pó utilizadas.

Foram utilizadas placas de Petri de 6 cm de diâmetro, contendo meio ágar-água (AA) 2%. Os óleos foram adicionados ao meio antes que este fosse vertido nas placas, após queda da temperatura para 40°C, de modo que as diluições finais atingissem as pré-estabelecidas pelo ensaio. Após a solidificação do meio, 500 µL da suspensão de urediniósporos foram depositados sobre a superfície do meio e espalhados com uma alça de Drigalsky. Em seguida, as placas foram acondicionadas em BOD, a 23°C, no escuro, por 24 horas.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com duas placas para cada tratamento, cada uma dividida em quatro quadrantes, num total de oito repetições.

Após a incubação, a germinação foi paralisada pela adição de quatro gotas de solução de lactoglicerol. Em seguida, foi avaliada a percentagem de germinação dos urediniósporos em microscópio estereoscópio trinocular, sendo avaliados 50 urediniósporos por quadrante.

## **2.6 Óleos essenciais no controle da ferrugem do cafeeiro em casa de vegetação**

Neste experimento foram testados os óleos essenciais de tomilho, cravo-da-índia, eucalipto, canela, citronela, árvore-de-chá, nim e capim-limão, na concentração de 1.000 µL L<sup>-1</sup>, leite em pó 10 g L<sup>-1</sup>, acibenzolar-S-metil (ASM) 200 mg L<sup>-1</sup> como padrão de indução de resistência, fungicida tebuconazole 200 µL L<sup>-1</sup> como padrão de controle e uma testemunha inoculada (água destilada).

Mudas de cafeeiro das cultivares Mundo Novo 379/19, Catuaí IAC 62 e Catucaí 2SL, com um ano de idade, foram pulverizadas com os tratamentos até o ponto de escorrimento, utilizando-se um pulverizador manual. Após 30 dias, as plantas foram novamente pulverizadas com os mesmos tratamentos. Sete dias

após a primeira aplicação, as plantas foram inoculadas com *H. vastatrix*, mediante pulverização com uma suspensão de uredinósporos e, em seguida, submetidas a uma câmara úmida, no escuro, por um período de 60 horas.

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados (DBC), com três repetições, sendo cada parcela composta por seis plantas.

Foram realizadas cinco avaliações da ferrugem, a partir dos 30 dias após a inoculação, em intervalos de 11 dias, utilizando-se a escala diagramática proposta por Cunha et al. (2001). Em seguida, foram calculadas as áreas abaixo da curva de progresso da incidência (AACPID) e da severidade da doença (AACPSD), conforme Shaner & Finney (1977), por meio da seguinte equação:

$$AACPD = \sum_{i=1}^{n-1} [(X_i + X_{i+1}) / 2] (t_{i+1} - t_i)$$

em que: X = intensidade da doença; t = tempo e n = número de avaliações no tempo.

## **2.7 Avaliação do efeito sistêmico em cultivares de cafeeiro tratadas com óleos essenciais**

Para avaliar o efeito sistêmico em cultivares de cafeeiro e seus efeitos no controle da ferrugem, foram realizados três experimentos, separadamente, com as cultivares Mundo Novo 379/19, Catuaí IAC 62 e Catuaí 2SL. Estes experimentos foram realizados simultaneamente.

Foram testados os óleos essenciais mais promissores obtidos no experimento anterior, no caso, o óleo tomilho na cultivar Catuaí 2SL, o óleo de cravo-da-índia na cultivar Catuaí IAC 62 e o óleo de citronela na cultivar Mundo Novo 379/19. Os óleos foram utilizados na concentração de 1.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ . Em cada um dos experimentos foram adicionados os tratamentos acibenzolar-S-metil (ASM) 200  $\text{mg L}^{-1}$ , tebuconazole 200  $\mu\text{L L}^{-1}$ , leite em pó 10  $\text{g L}^{-1}$  e testemunha (água destilada).

Aos 12 meses de idade, as plantas foram marcadas e separadas em metade inferior e superior. Realizou-se a aplicação dos tratamentos somente na metade inferior das plantas, utilizando um pulverizador manual, até atingir o ponto de escorrimento. Após 30 dias, as plantas foram novamente pulverizadas na metade inferior com os mesmos tratamentos. Sete dias após a primeira aplicação, realizaram-se as inoculações em ambas as partes da planta, inferior e superior. A inoculação das plantas foi realizada conforme metodologia descrita no experimento anterior.

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados (DBC), com três repetições, sendo cada parcela composta por seis plantas.

Foram realizadas cinco avaliações da ferrugem separadamente em cada uma das partes, a partir dos 30 dias após a inoculação, em intervalos de 11 dias, utilizando-se a escala diagramática proposta por Cunha et al. (2001). Em seguida, foram calculadas as áreas abaixo da curva de progresso da incidência (AACPID) e a severidade da doença (AACPSD), conforme Shaner & Finney (1977).

## **2.8 Análises estatísticas**

As análises estatísticas foram realizadas em software estatístico Sisvar v. 4.0. (Ferreira, 2000). Para comparação de médias qualitativas, utilizou-se o teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) e, para médias quantitativas, foram gerados gráficos de regressão. Para a confecção dos gráficos de regressão, utilizou-se o programa Excel, do Microsoft Office 2007. Dados de porcentagem de germinação dos urediniósporos foram transformados para  $\sqrt{x + 1}$ .

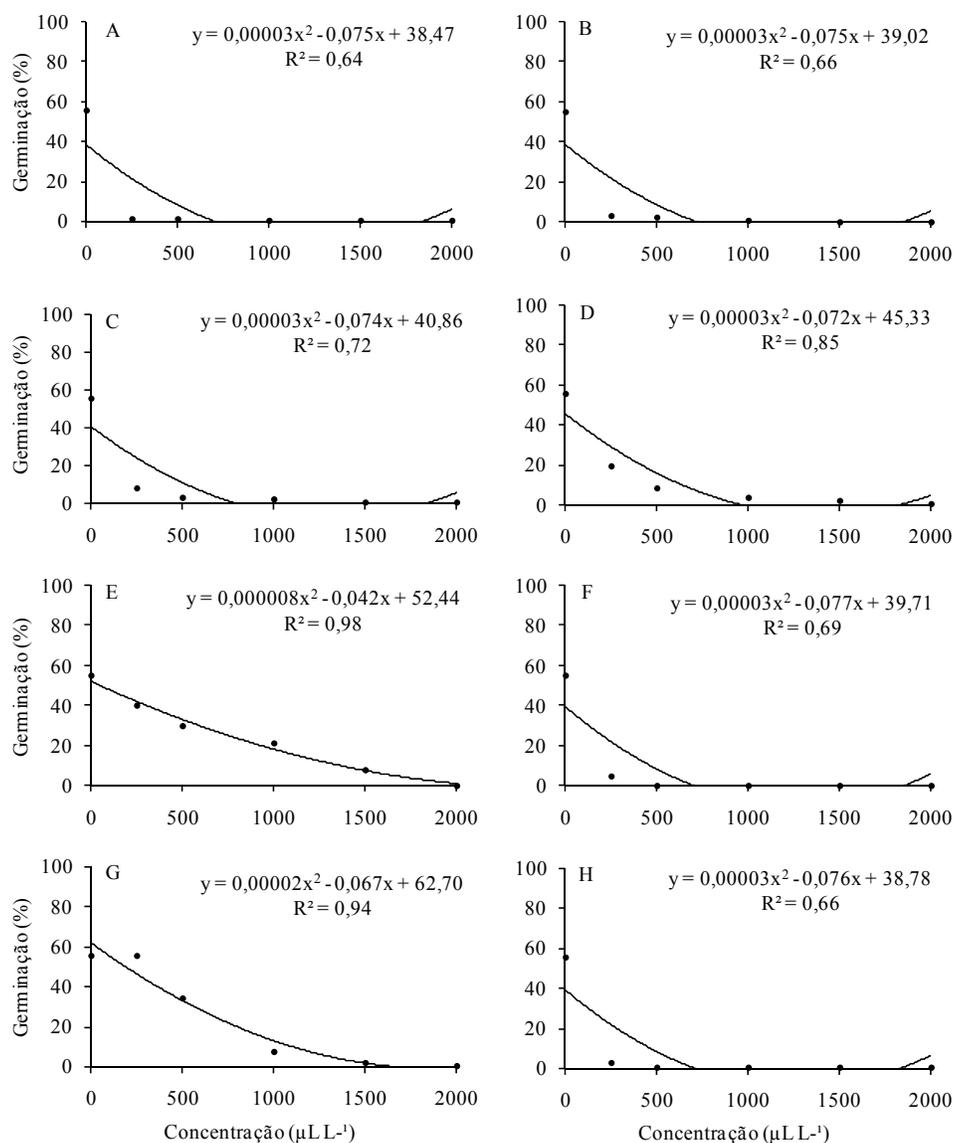
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Avaliação da toxidez dos óleos essenciais na germinação de urediniósporos de *Hemileia vastatrix*

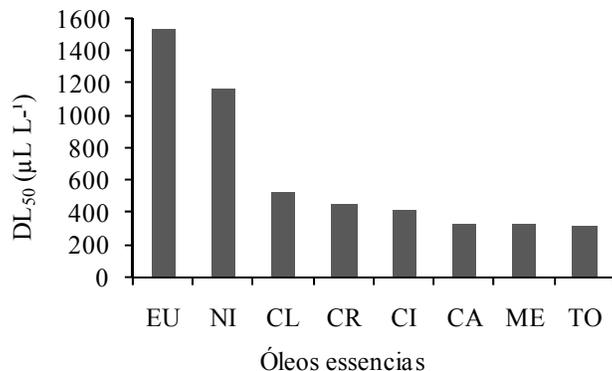
Todos os óleos essenciais reduziram a germinação de urediniósporos de *H. vastatrix* de forma quadrática com o aumento das concentrações (Figura 1). Os óleos essenciais de canela, citronela, capim-limão, cravo-da-índia, árvore-de-chá e tomilho reduziram totalmente a germinação dos conídios a partir da concentração de  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$ , com  $DL_{50}$  (concentração capaz de promover a inibição ou a morte de 50% dos urediniósporos viáveis) estimadas em 333, 415, 530, 457, 327 e  $316 \mu\text{L L}^{-1}$ , respectivamente (Figura 2).

Os óleos essenciais de nim e eucalipto promoveram 100% de inibição da germinação dos urediniósporos a partir das concentrações de 1.500 e  $2.000 \mu\text{L L}^{-1}$ , com  $DL_{50}$  estimadas em 1.165 e  $1.533 \mu\text{L L}^{-1}$ , respectivamente. O tratamento constituído de leite em pó não apresentou diferença significativa entre as doses utilizadas e a testemunha.

Os resultados obtidos neste experimento corroboram com os obtidos por alguns autores. Abreu (2006), utilizando o óleo essencial de canela, verificou redução total da germinação de *A. solani* a partir da concentração de  $750 \mu\text{L L}^{-1}$ . Possivelmente, os compostos cinamaldeídos e eugenol presentes no óleo de canela foram os responsáveis por tal inibição, por apresentarem propriedades antimicrobianas já comprovadas (Montes-Belmont & Carvajal, 1998). Estes resultados demonstram que os micro-organismos diferem em sua resistência a determinados óleos essenciais, ou seja, os óleos apresentam uma capacidade específica a determinados micro-organismos, o que é positivo para o manejo de doenças no campo, uma vez que, nestes, há a ocorrência de muitos micro-organismos benéficos ao cafeeiro.



**FIGURA 1.** Porcentagem de germinação de urediniósporos de *Hemileia vastatrix*, submetidos a diferentes concentrações (0, 250, 500, 1.500 e 2.000 μL L<sup>-1</sup>) dos óleos essenciais de canela (A), citronela (B), capim-limão (C), cravo-da-índia (D), eucalipto (E), árvore-de-chá (F), nim (G) e tomilho (H). Dados transformados para  $\sqrt{x + 1}$ .



**FIGURA 2.** DL<sub>50</sub> (concentração capaz de promover a inibição ou morte de 50% dos urediniósporos viáveis de *Hemileia vastatrix* em μL L<sup>-1</sup>) dos óleos essenciais de eucalipto (EU), nim (NI), cravo-da-índia (CR), capim-limão (CL), citronela (CI), canela (CA), árvore-de-chá (ME) e tomilho (TO).

Pereira et al. (2008) observaram redução da germinação de conídios de *Cercospora coffeicola* Berk & Cooke, quando submetidos a concentrações crescentes do óleo essencial de tomilho. Segundo Zambonelli et al. (2004), tal efeito ,provavelmente, se deve à presença dos compostos timol e carvacrol no óleo de tomilho, já conhecidos por sua ação fungicida e bactericida.

Ponce et al. (2003) verificaram o poder antimicrobiano dos óleos essenciais de árvore de chá e cravo-da-índia, quando utilizados na concentração de 500 μL L<sup>-1</sup>, sobre o crescimento de bactérias pelo método da mínima concentração. Neste caso, a toxidez dos óleos sobre os patógenos é atribuída, provavelmente, aos compostos terpinen-4-ol e eugenol presentes em grandes concentrações nos óleos essenciais de árvore-de-chá e cravo-da-índia que, segundo Bullerman et al. (1977) e Vieira et al. (2004), são conhecidos por suas propriedades antimicrobianas.

Segundo Wilson et al. (1997), óleos essenciais de *Cymbopogon* sp., *Thymus* sp. e de *Cynamomum* sp. possuem como constituintes alguns

monoterpenos, como d-limoneno, cineol e b-mirceno, anetol, panialdeído, carvacrol, carvone, limoneno,  $\alpha$ -felandrreno e  $\alpha$ -pineno, em grandes quantidades, sendo capazes de inibir a germinação de vários patógenos. Estas substâncias, quando em contato direto com os microrganismos, promovem a permeabilidade das membranas celulares, causando extravasamento dos seus constituintes (Piper et al., 2001; Amaral & Bara, 2005; Rasooli et al., 2006).

### **3.2 Óleos essenciais no controle da ferrugem do cafeeiro em casa de vegetação**

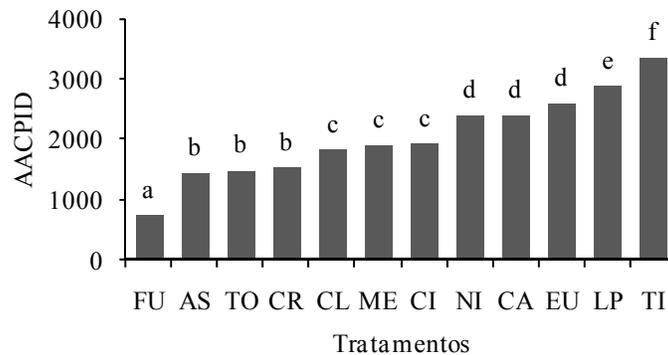
No experimento realizado em casa de vegetação com as três cultivares de cafeeiro, não foi observado nenhum sintoma de fitotoxidez em razão da aplicação dos óleos essenciais. Houve interação significativa para a área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPID) e da severidade (AACPSD) da ferrugem, entre as cultivares e os produtos utilizados, ou seja, houve um comportamento diferente das cultivares em relação aos produtos testados.

Na cultivar Catucaí 2SL, o tratamento padrão tebuconazole reduziu a AACPID e a AACPSD em 77,6% e 93,9%, respectivamente, em relação à testemunha inoculada, diferindo dos demais tratamentos (Figura 3 e 4). Acibenzolar-S-metil e os óleos essenciais de tomilho e cravo-da-índia reduziram a incidência da ferrugem em 56,6%, 55,5% e 54,3%, respectivamente, sem diferirem entre si, seguidos dos óleos essenciais de capim-limão, árvore-de-chá e citronela, os quais reduziram a incidência em 45,7%, 43,0% e 42,7%, respectivamente (Figura 3). Os demais óleos promoveram reduções de 22,3% a 28,3%. Em relação a AACPSD, os óleos essenciais de tomilho, citronela, cravo-da-índia e capim-limão proporcionaram controles de 83,0%, 77,2%, 73,7% e 70,8%, respectivamente, seguidos de acibenzolar-S-metil, óleos essenciais de canela e árvore de chá, com controles de 53,3%, 49,1% e 44,8%, respectivamente (Figura 4). Os óleos essenciais de nim e eucalipto reduziram a

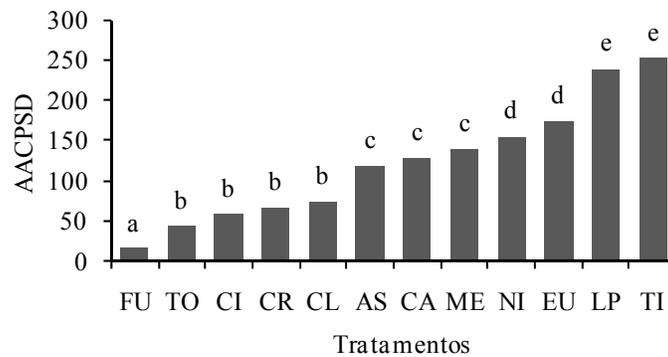
AACPSD em 38,5% e 30,8%, respectivamente. Durante as avaliações da ferrugem em casa de vegetação, foi observada esporulação bastante reduzida nas folhas doentes da cultivar Catucaí 2SL, fato atribuído à resistência horizontal desta cultivar à ferrugem do cafeeiro.

Na cultivar Catuaí IAC 62, o fungicida tebuconazole reduziu a AACPID da ferrugem em 78,75%, seguido do óleo essencial de cravo-da-índia, com redução de 26,3% (Figura 5). Os óleos essenciais de capim-limão, canela, tomilho, árvore-de-chá, citronela e acibenzolar-S-metil reduziram a incidência de doença em 15,5%, 15,0%, 13,2%, 12,1%, 12,0% e 7,9%, respectivamente, sem diferirem entre si. Com relação à AACPSD, o fungicida tebuconazole superou todos os demais tratamentos, reduzindo-a em 94,8% (Figura 6). Os óleos essenciais de cravo-da-índia e capim-limão foram os mais promissores, promovendo redução da severidade em 67,9 e 67,7%, respectivamente, seguidos de árvore de chá, com redução de 55,4%. O óleo essencial de canela reduziu a AACPSD em 45,3%, seguido dos óleos essenciais de tomilho e citronela, com controles de 37,5 e 32,7%, respectivamente. O tratamento padrão de indução de resistência, acibenzolar-S-metil, reduziu a severidade da doença em 12,1%. Os óleos essenciais de eucalipto e nim não apresentaram eficiência na redução da incidência e da severidade da ferrugem.

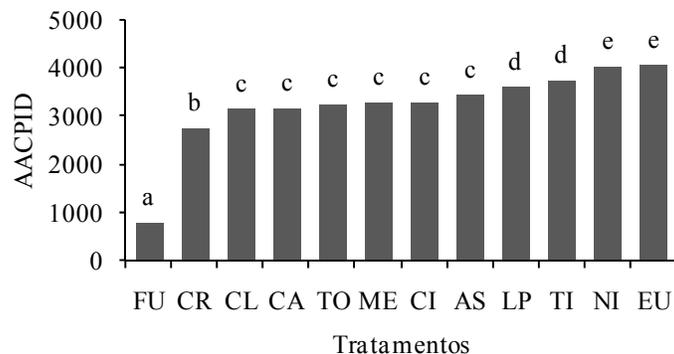
Na cultivar Mundo Novo 379/19, o fungicida tebuconazole reduziu em 83,1% a AACPID e em 97,4% a AACPSD (Figura 7 e 8). Os óleos essenciais de citronela e canela reduziram em 34,0% e 29,6% a incidência da ferrugem, respectivamente, seguidos dos óleos essenciais de eucalipto, árvore-de-chá, tomilho e cravo-da-índia, com reduções de 11,3%, 10,2%, 5,7% e 4,8%, respectivamente (Figura 7). Os demais óleos essenciais e acibenzolar-S-metil não reduziram significativamente a incidência da doença.



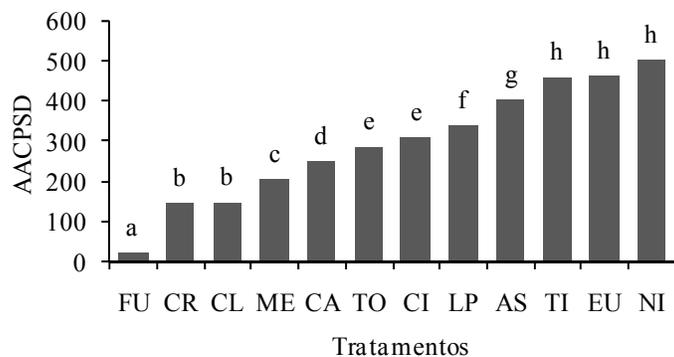
**FIGURA 3.** Área abaixo da curva de progresso da incidência da ferrugem (AACPID) na cultivar Catucaí 2SL tratada com tebuconazole (FU) 200  $\mu\text{L L}^{-1}$ , acibenzolar-S-metil (AS) 200  $\text{mg L}^{-1}$ , óleos essenciais de tomilho (TO), cravo-da-índia (CR), capim-limão (CL), árvore-de-chá (ME), citronela (CI), nim (NI), canela (CA) e eucalipto (EU), na concentração de 1.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ , leite em pó (LP) 10  $\text{g L}^{-1}$  e testemunha (TI). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).



**FIGURA 4.** Área abaixo da curva de progresso da severidade da ferrugem (AACPSD) na cultivar Catucaí 2SL tratada com tebuconazole (FU) 200  $\mu\text{L L}^{-1}$ , acibenzolar-S-metil (AS) 200  $\text{mg L}^{-1}$ , óleos essenciais de tomilho (TO), citronela (CI), cravo-da-índia (CR), capim-limão (CL), canela (CA), árvore-de-chá (ME), nim (NI) e eucalipto (EU), na concentração de 1.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ , leite em pó (LP) 10  $\text{g L}^{-1}$  e testemunha (TI). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).



**FIGURA 5.** Área abaixo da curva de progresso da incidência da ferrugem (AACPID) na cultivar Catuaí IAC 62 tratada com tebuconazole (FU)  $200 \mu\text{L L}^{-1}$ , acibenzolar-S-metil (AS)  $200 \text{ mg L}^{-1}$ , óleos essenciais de cravo-da-índia (CR), capim-limão (CL), canela (CA), tomilho (TO), árvore-de-chá (ME), citronela (CI), nim (NI) e eucalipto (EU), na concentração de  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$ , leite em pó (LP)  $10 \text{ g L}^{-1}$  e testemunha (TI). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

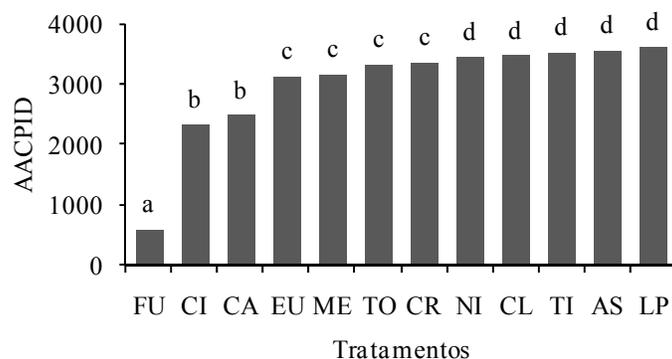


**FIGURA 6.** Área abaixo da curva de progresso da severidade da ferrugem (AACPSD) na cultivar Catuaí IAC 62 tratada com tebuconazole (FU)  $200 \mu\text{L L}^{-1}$ , acibenzolar-S-metil (AS)  $200 \text{ mg L}^{-1}$ , óleos essenciais de cravo-da-índia (CR), capim-limão (CL), árvore-de-chá (ME), canela (CA), tomilho (TO), citronela (CI), eucalipto (EU) e nim (NI), na concentração de  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$ , leite em pó (LP)  $10 \text{ g L}^{-1}$  e testemunha (TI). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

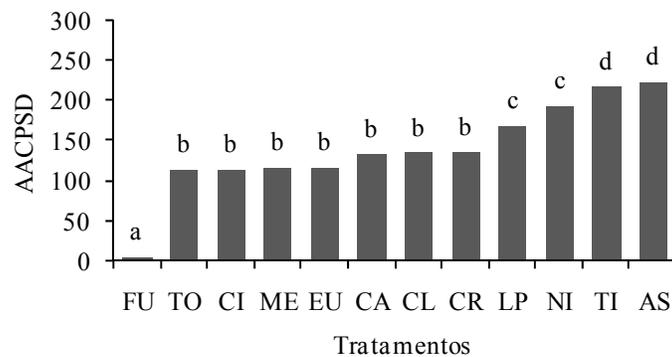
Com relação à AACPSD na cultivar Mundo Novo 379/19, todos os óleos apresentaram controles semelhantes, exceto o óleo essencial de nim (Figura 8). Os óleos de tomilho, citronela, árvore-de-chá, eucalipto, canela, capim-limão e cravo-da-índia reduziram a AACPSD em 47,5%, 42,2%, 46,3%, 46,0%, 38,7%, 38,0% e 37,6%, respectivamente. O óleo essencial de nim reduziu em 10,9% a severidade da ferrugem. O tratamento padrão de indução de resistência, acibenzolar-S-metil, não reduziu significativamente a severidade da doença.

Os resultados apresentados neste trabalho com a cultivar Catucaí 2SL assemelham-se aos observados por Costa et al. (2007) que utilizaram o acibenzolar-S-metil 200  $\mu\text{L L}^{-1}$  e o fungicida tetraconazole (triazol) para o controle da ferrugem em cafeeiro cultivar Catuaí IAC 144, oito dias antes da inoculação. Os autores verificaram reduções de 47,14% e 99,6%, respectivamente, na severidade da ferrugem. Ribeiro Júnior (2008) também verificou reduções de 86,0% e 80,0%, na AACPSD e na AACPID, respectivamente, em cafeeiro tratado sete dias antes da inoculação com o fungicida epoxiconazol + piraclostrobina.

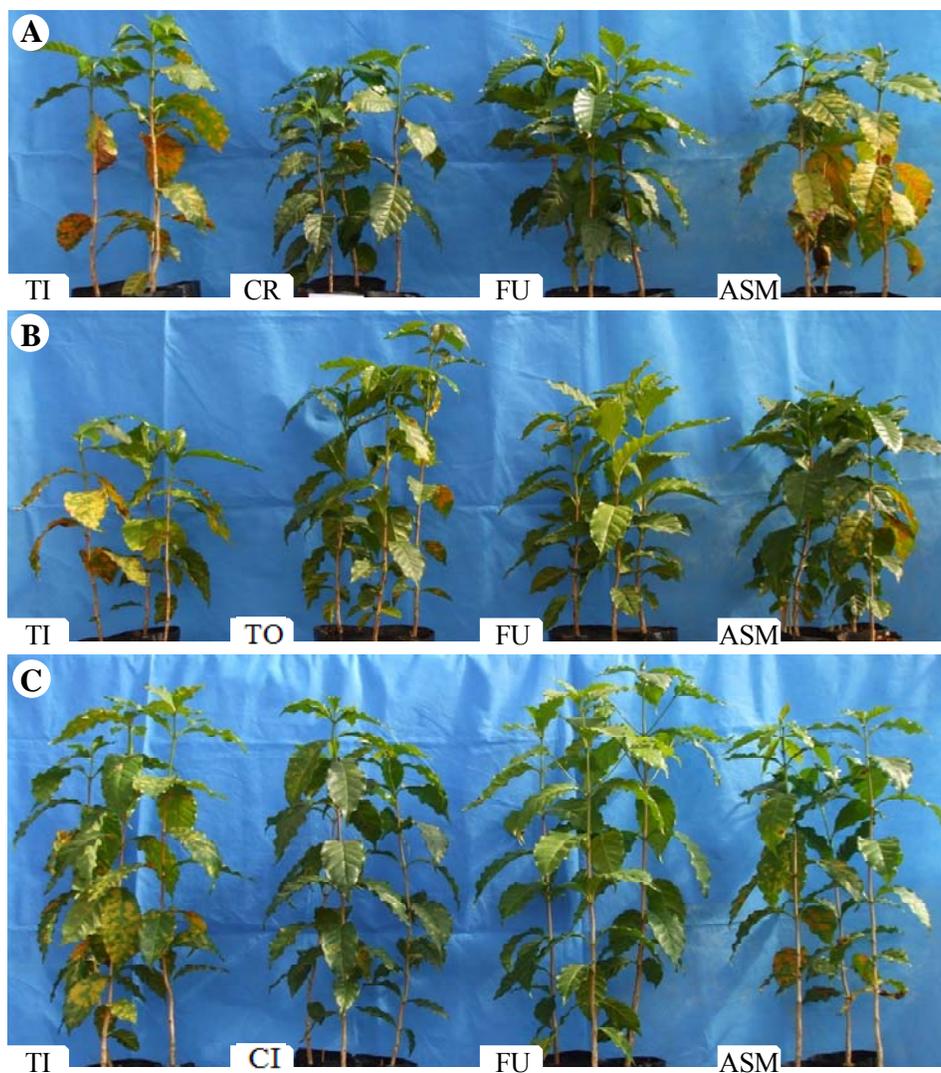
Alguns trabalhos têm relatado a eficiência do óleo essencial de tomilho no controle de doenças em outros patossistemas, como foi observado na cultivar Catucaí 2SL e Mundo Novo 379/19. Pereira et al. (2008) verificaram redução de 16,1% na área abaixo da curva de progresso do número de lesões da cercosporiose (AACPNL) em plantas de cafeeiro tratadas com óleo essencial de tomilho 500  $\mu\text{L L}^{-1}$ , sete dias antes da inoculação. Medice et al. (2007) observaram reduções de 35% a 62% na severidade da ferrugem-asiática da soja em diferentes cultivares tratadas com os óleos essenciais de tomilho, citronela, eucalipto e nim, nas concentrações de 300; 500; 1.000 e 1.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ , respectivamente, sete dias antes da inoculação.



**FIGURA 7.** Área abaixo da curva de progresso da incidência da ferrugem (AACPID) na cultivar Mundo Novo 379/19 tratada com tebuconazole (FU)  $200 \mu\text{L L}^{-1}$ , acibenzolar-S-metil (AS)  $200 \text{ mg L}^{-1}$ , óleos essenciais de citronela (CI), canela (CA), eucalipto (EU), árvore-de-chá (ME), tomilho (TO), cravo-da-índia (CR), nim (NI) e capim-limão (CL), na concentração de  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$ , leite em pó (LP)  $10 \text{ g L}^{-1}$  e testemunha (TI). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).



**FIGURA 8.** Área abaixo da curva de progresso da severidade da ferrugem (AACPSD) na cultivar Mundo Novo 379/19 tratada com tebuconazole (FU)  $200 \mu\text{L L}^{-1}$ , acibenzolar-S-metil (AS)  $200 \text{ mg L}^{-1}$ , óleos essenciais de tomilho (TO), citronela (CI), árvore-de-chá (ME), eucalipto (EU), canela (CA), capim-limão (CL), cravo-da-índia (CR) e nim (NI), na concentração de  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$ , leite em pó (LP)  $10 \text{ g L}^{-1}$  e testemunha (TI). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).



**FIGURA 9.** Plantas de cafeeiro das cultivares Catuaí IAC 62 (A), Catuaí 2SL (B) e Mundo Novo 379/19 (C), aos 74 dias após inoculação com *Hemileia vastatrix*. Testemunha (TI), óleos essenciais de cravo-da-índia (CR), tomilho (TO) e citronela (CI), na concentração de  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$ , tebuconazole (FU)  $200 \mu\text{L L}^{-1}$  e acibenzolar-S-metil (ASM)  $200 \text{ mg L}^{-1}$ .

Rios et al. (2003), pesquisando o óleo essencial de citronela no controle de *C.acutatum*, agente causal da flor-preta-do-morangueiro, observaram que, nas concentrações de 5.000, 10.000 e 15.000  $\mu\text{L}^{-1}$ , houve redução parcial do crescimento micelial *in vivo*, indicando que o óleo de citronela apresenta ação direta sobre o patógeno na planta. Já Silva (2007) utilizou o óleo essencial de citronela no controle do mal-do-panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc)) em bananeira (*Musa* spp.) e verificou proteção de 50% na incidência da doença em relação à testemunha, concordando com os resultados observados neste trabalho para as cultivares Catucaí 2SL e Mundo Novo 379/19.

O controle parcial promovido pelo óleo essencial de canela nas cultivares Catucaí IAC 62 e Mundo Novo 379/19 concorda com os resultados obtidos por Abreu (2006), que relatou reduções de 26%, 62% e 95%, respectivamente, na incidência da pinta-preta (*A. solani*) em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) tratado com óleo essencial de canela nas concentrações de 500, 750 e 5.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ , respectivamente. Em experimento realizado em campo, Abreu (2006) observou redução de 12,5% e 32,8% na incidência da doença em folíolos de tomateiro tratados com óleo essencial de canela nas concentrações de 3.000 e 5.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ , respectivamente.

### **3.3 Avaliação do efeito sistêmico em cultivares de cafeeiro tratadas com óleos essenciais**

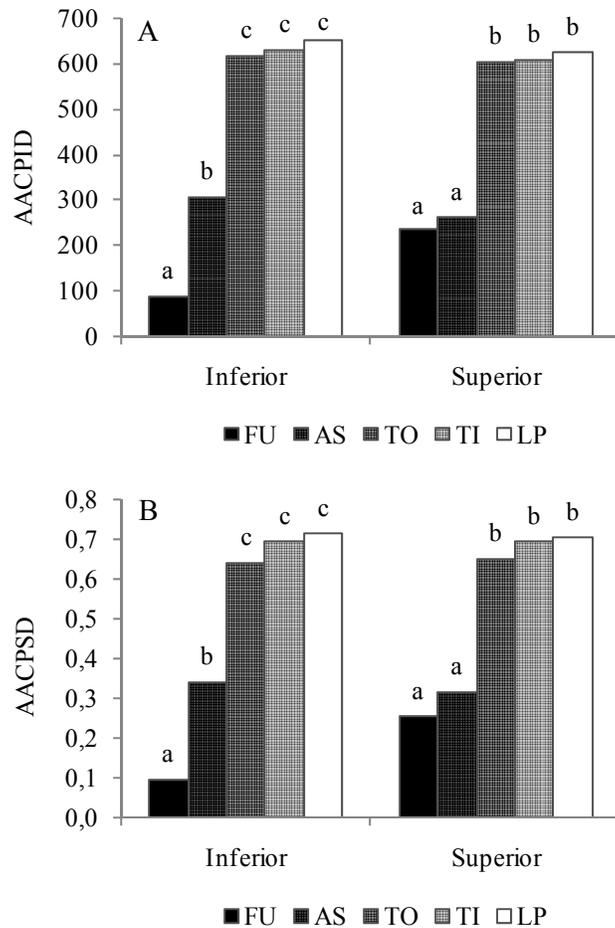
No experimento realizado em casa de vegetação com a cultivar Catucaí 2SL, o fungicida tebuconazole reduziu a AACPID e a AACPSD na metade inferior (tratada) das plantas em 86,0% e 85,5%, respectivamente, seguido de acibenzolar-S-metil, com reduções de 51,4% e 50,7%, respectivamente (Figura 10). Na metade superior (não tratada), tebuconazole e acibenzolar-S-metil reduziram a incidência em 61,3% e 57,0%, respectivamente, e a severidade da ferrugem em 64,3% e 54,3%, respectivamente. O óleo essencial de tomilho não

diferiu da testemunha, em ambas as partes da planta.

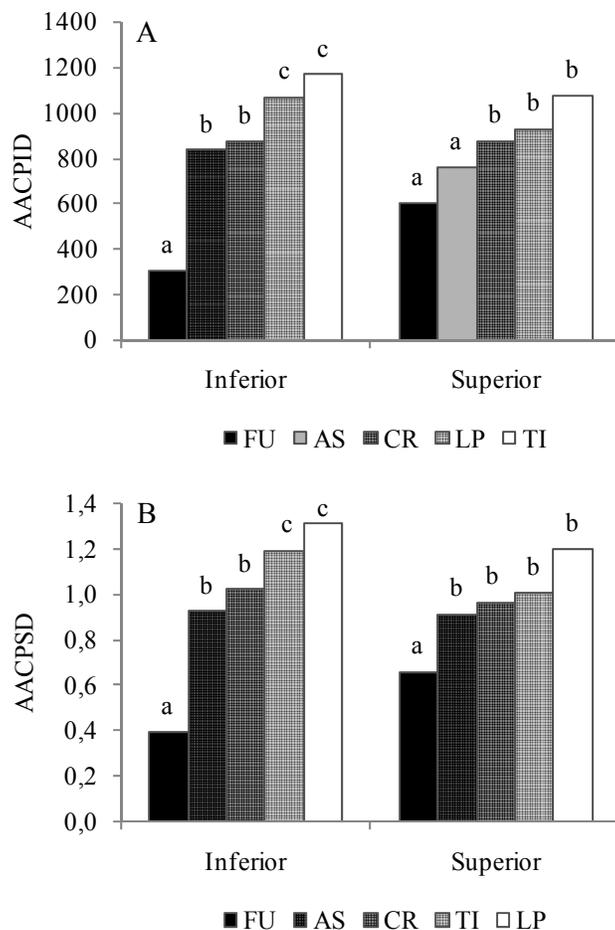
Na cultivar Catuaí IAC 62, tebuconazole reduziu a AACPID na metade inferior (tratada) das plantas em 73,7%, seguido de acibenzolar-S-metil e óleo essencial de cravo-da-índia, com reduções de 28,7% e 25,0%, respectivamente (Figura 11A). Na metade superior (não tratada) das plantas, tebuconazole e acibenzolar-S-metil reduziram a incidência da doença em 43,9% e 34,0%, respectivamente. Nesta, o óleo essencial de cravo-da-índia não diferiu da testemunha. Com relação à severidade da ferrugem, verificou-se que o fungicida tebuconazole reduziu em 70,2% a AACPSD, seguido de acibenzolar-S-metil e óleo essencial de cravo-da-índia, com reduções de 29,8% e 22,1%, respectivamente (Figura 11B). Na metade superior, somente tebuconazole promoveu a redução da AACPSD, sendo esta de 45,0%.

Na cultivar Mundo Novo 379/19, somente o fungicida tebuconazole promoveu reduções significativas da AACPID e AACPSD na metade inferior (tratada) das plantas, sendo estas de 86,6% e 88,5%, respectivamente (Figura 12). No entanto, na metade superior (não tratada) das plantas, o mesmo fungicida e o acibenzolar-S-metil reduziram a incidência da ferrugem em 54,5% e 44,0%, e a severidade em 57,3% e 47,6%, respectivamente. O óleo essencial de citronela não reduziu significativamente a AACPID e a AACPSD, em ambas as partes da plantas.

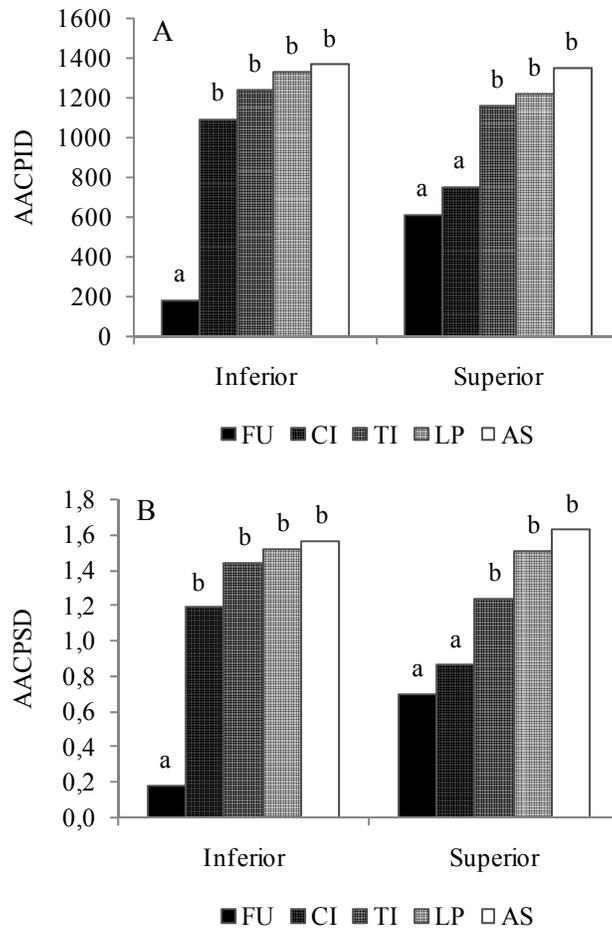
O fungicida tebuconazole promoveu a redução da incidência e da severidade da doença em ambas as partes da planta. Resultados semelhantes foram observados por Guzzo et al. (2001), em cujo trabalho plantas de cafeeiro cultivar Mundo Novo tratadas com acibenzolar-S-metil induziram proteção local (66% a 97%) e sistêmica (83% a 94%), com duração de até 10 semanas. Em outras pesquisas, realizadas por Cavalcanti et al. (2000), Marchi (2002) e Costa et al. (2007), o acibenzolar-S-metil promoveu somente a redução da incidência da doença na metade inferior das plantas, não apresentando efeito sistêmico.



**FIGURA 10.** Área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPID) (A) e severidade da ferrugem (AACPSD) (B) nas plantas de café da cultivar Catucaí 2SL cuja metade inferior foi tratada com tebuconazole (FU) 200  $\mu\text{L L}^{-1}$ , acibenzolar-S-metil (AS) 200  $\text{mg L}^{-1}$ , óleo essencial de tomilho (TO) 1.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ , leite em pó (LP) 10  $\text{g L}^{-1}$  e testemunha (TI). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).



**FIGURA 11.** Área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPID) (A) e severidade da ferrugem (AACPSD) (B) nas plantas de café da cultivar Catuaí IAC 62 cuja metade inferior foi tratada com tebuconazole (FU) 200  $\mu\text{L L}^{-1}$ , acibenzolar-S-metil (AS) 200  $\text{mg L}^{-1}$ , óleo essencial de cravo-da-índia (CR) 1.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ , leite em pó (LP) 10  $\text{g L}^{-1}$  e testemunha (TI). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).



**FIGURA 12.** Área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPID) (A) e severidade da ferrugem (AACPSD) (B) nas plantas de café da cultivar Mundo Novo 379/19 cuja metade inferior foi tratada com tebuconazole (FU) 200  $\mu\text{L L}^{-1}$ , acibenzolar-S-metil (AS) 200  $\text{mg L}^{-1}$ , óleo essencial de citronela (CI) 1.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ , leite em pó (LP) 10  $\text{g L}^{-1}$  e testemunha (TI). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

Os óleos essenciais testados nas diferentes cultivares não apresentaram controle significativo da doença em ambas as partes da planta, exceto o óleo essencial de cravo-da-índia na cultivar Catuaí IAC 62, na qual apresentou um efeito protetor. Pereira et al. (2008), utilizando o óleo essencial de tomilho para o controle da cercosporiose em cafeeiro, verificaram que o controle obtido pelo óleo se deve, principalmente, ao seu efeito direto sobre o patógeno e menos por indução de resistência.

O controle parcial da ferrugem obtido pela aplicação dos óleos essenciais, possivelmente, se deve à presença de compostos tóxicos em grande quantidade, que proporcionam efeito protetor (Schauenberg, 1977; Scortichini & Rossi, 1991; Montes-Belmont & Carvajal, 1998; Amaral & Bara (2005). Tal evidência não impede que estes e outros compostos presentes nos óleos em menores quantidades possam estar contribuindo indiretamente para o controle da doença, por meio da indução de resposta de defesa da planta. Para tal comprovação, são necessários estudos mais aprofundados, como a quantificação de enzimas relacionadas à defesa da planta e de expressão gênica, podendo esta última desvendar quais os possíveis genes de defesa estariam sendo expressos em razão da aplicação dos óleos.

O controle alternativo da ferrugem do cafeeiro por meio do uso de óleos essenciais tem como principal propósito reduzir a utilização de produtos fitossanitários que, ao longo do tempo, causam prejuízos irreversíveis à saúde do homem e ao ambiente. Assim, a utilização dos óleos essenciais, juntamente com outras estratégias de controle utilizadas no manejo integrado de doenças, pode proporcionar resultados satisfatórios na redução da ferrugem do cafeeiro, principalmente em campos de produção de café orgânico, nos quais não se faz o uso de agrotóxicos.

#### 4 CONCLUSÕES

Os óleos essenciais de canela, citronela, capim-limão, cravo-da-índia, árvore-de-chá, tomilho, eucalipto e nim reduzem a germinação dos urediniósporos de *Hemileia vastatrix*.

Os óleos essenciais promovem controle parcial da ferrugem do cafeeiro em casa de vegetação, sendo os óleos de tomilho, cravo e citronela os mais promissores para o controle da doença nas cultivares de Catucaí 2SL, Catucaí IAC 62 e Mundo Novo 379/19, respectivamente.

O óleo essencial de cravo-da-índia promove proteção local e o óleo essencial de citronela promove proteção sistêmica em plantas de cafeeiro contra *H. vastatrix*.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C.L.M. **Controle de *Alternaria solani* em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com óleos essenciais**. 2006. 71 p. Tese (Doutorado em Agronomia - Horticultura) – Faculdade Paulista de Ciências Agrárias, Botucatu.

ALVES, E.S.S.B.; PUPO, M.S.; MARQUES, S.S.; VILCHES, T.T.B.; SANTOS, R.B.; VENTURA, J.A.; FERNANDO, P.M.A. Avaliação de óleos essenciais na inibição do crescimento de fungos de fruteiras tropicais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 343, ago. 2003. Suplemento.

AMARAL, M.F.Z.J.; BARA, M.T.F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 2, p. 5-8, dez./jun. 2005. Disponível em: <[http://www.farmacia.ufg.br/revista/\\_pdf/vol2\\_2\\_supl/resumos/ref\\_v2\\_2\\_supl-2005\\_p5-8%20Amaral.pdf](http://www.farmacia.ufg.br/revista/_pdf/vol2_2_supl/resumos/ref_v2_2_supl-2005_p5-8%20Amaral.pdf)>. Acesso em: 10 dez. 2008.

BRASIL PORTRAIT. **Óleos essenciais**. Disponível em: <<http://www.brasilportrait.com.br>> Acesso em: 24 maio 2008.

BULLERMAN, L.B.; LIEW, F.Y.; SEIER, S.A. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 6, n. 42, p. 1107-1109, nov./dez. 1977.

CAVALCANTI, L.S. **Indução de resistência a *Verticillium dahliae* Kleb. em plântulas de cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.) cv. Theobahia, por benzotiadiazole (BTH)**. 2000. 82 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira café safra 2008, segunda estimativa, maio/2008**. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/2\\_levantamento\\_2008.pdf](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/2_levantamento_2008.pdf)> Acesso em: 18 jun. 2008.

COSTA, M.J.N.; ZAMBOLIM, L.; RODRIGUES, F.A. Avaliação de produtos alternativos no controle da ferrugem do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 150-155. mar./abr. 2007.

- CUNHA, R.L.; POZZA, E. A.; DIAS, W. P.; BARRETTI, P. B. Desenvolvimento e validação de uma escala diagramática para avaliar a severidade da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) do cafeeiro. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2001, Vitória. **Resumos...** Vitória: Embrapa Café, 2001. p. 77-78.
- FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: Universidade Federal de São Carlos/ Sociedade Internacional de Biometria, 2000. p. 255-258.
- GODOY, C.V.; BERGAMIN FILHO, A.; SALGADO, C.L. Doenças do cafeeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p.184-200.
- GUZZO, S. D.; CASTRO, R. M. de; KYDA, K.; MARTINS, E. M. F. Ação protetora do acibenzolar-S-methyl em plantas de cafeeiro contra ferrugem. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 68, n. 1, p. 89-94, jan./jun. 2001.
- MARCHI, C.E.; BORGES, M.F.; RESENDE, M.L.V. Proteção induzida por benzotriazolole contra a ferrugem-alaranjada (*Hemileia vastatrix*) em cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 5, p. 1103-1106, set./out, 2002.
- MEDICE, R. **Produtos alternativos no manejo da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) da soja**. 2007. 102 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R.T.; JÚNIOR, M.R.G.; LOPES, E.A.G.L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 83-90, jan./fev. 2007.
- MONTES-BELMONT, R.; CARVAJAL, M. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 61, n. 5, p. 616-619, maio 1998.
- PEREIRA, R.B.; ALVES, E.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; RESENDE, M.L.V.; LUCAS, G.C.; FERREIRA, J.B. Extrato de casca de café, óleo essencial de tomilho e acibenzolar-S-metil no manejo da cercosporiose-do-cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 10, p. 1287-1296, out. 2008.

PEREIRA, A.A. Uso da resistência genética no manejo integrado de doenças do cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 36., 2003, Uberlândia. **Resumos...** Uberlândia: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2003. p. 129-137.

PIPER, P.; CALDERON, C.O.; HATZIXANTHIS, K.; MOLLAPOUR, M. Weak acid adaptation: the stress response that confers resistance to organic acid food preservatives. **Microbiology**, Washington, v. 147, n. 10, p. 2635-2642, out. 2001.

PONCE, A.G.; FRITZ, R.; VALLE, C.; ROURA, S.I. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. **Lebensmittel-Wissenschaft-Technologie**, London, v. 36, n. 7, p. 679-684, July 2003.

POZZA, E.A.A Importância das doenças foliares do cafeeiro, In: NÚCLEO DE ESTUDOS EM FITOPATOLOGIA. (Org.). **Manejo fitossanitário da cultura do cafeeiro**. Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2008. v. 1, p. 81-94.

RANASINGHE, L.; JAYAWARDENA, B.; ABEYWICKRAMA, K. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. **Letters in Applied Microbiology**, UK, v. 35, n. 3, p. 208-211, Mar. 2002.

RASOOLI, I.; REZAEI, M.B.; ALLAMEH, A. Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-porlock*. **Food Control**, Reading, v. 17, p. 359-364, 2006.

RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ, V.V.H. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação**. Viçosa: CFSEMG, 1999. 359 p.

RIBEIRO JÚNIOR, P.M. **Fosfitos na proteção e na indução de resistência do cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola***. 2008. 105 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

RIOS, S.S.; CANUTO, R.S.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; SOUSA, L.T.; SANTOS, L.O.; SILVA, J.J.C.; NORONHA, R.A.; PEREIRA, M.R.; DIAS, M.S.C. Inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum acutatum* Si. Mmonds, agente causal da flor preta do morangueiro (*Fragaria x ananassa* Dulch) com óleo de citronela (*Cimbopogon* sp.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 360, ago. 2003. Suplemento.

SCHAUENBERG, P.; PARIS, F. **Guine to medicinal plants**. New Canaan: Keats, 1977. 349 p.

SCORTICHINI, M.; ROSSI, M.P. Preliminary *in vitro* evaluation of the antimicrobial activity of terpenes and terpenoids Towards *Erwinia amybovora* (Burril). **Journal of Applied Bacteriology**, Roma, v. 71, n. 2, p. 109-112, Feb. 1991.

SHANER, G.; FINNEY, R.F. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, Sant Paul, v.67, n. 8, p.1051-1056, Aug. 1977.

SILVA, J.C. **Uso de óleos essenciais, extratos vegetais e indutores de resistência no controle alternativo do mal-do-Panamá da bananeira**. 2007. 65 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Alagoas, Rio Largo.

VIEIRA, T.R.; BARBOSA, L.C.A.; MALTHA, C.R.A., PAULA, V.F.; NASCIMENTO, E.A. Constituintes químicos de *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 536-539, abr. 2004. Disponível em: < <http://quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2004/vol27n4/03-AR03090.pdf> >. Acesso em: 10 dez. 2008.

WILSON, C.L.; SOLAR, J.M.; EL GHAOUTH, A.; WISNIEWFKI, M.E. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 81, n. 2, p. 204-210, Feb. 1997.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, E.M. Doenças do cafeeiro (*C. arabica* e *C. canephora* ), In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p.165-180.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R. Estratégias múltiplas no manejo integrado de doenças do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 137-153, ago. 2003. Suplemento.

ZAMBONELLI, A.; D'AURELIO, A.Z.; SEVERI, A.; BENVENUTI, S.; MAGGI, L.; BIANCHI, A. Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of *Thymus vulgaris* L. **Journal of Essential Oil Research**, Jeor, v. 16, n. 1, p. 69-74, Jan./Feb. 2004.

## **CAPÍTULO 3**

### **ÓLEOS ESSENCIAIS NO MANEJO DA CERCOSPORIOSE DO CAFEIEIRO**

## RESUMO

PEREIRA, Ricardo Borges. Óleos essenciais no manejo da cercosporiose do cafeeiro. In: \_\_\_\_\_. **Potencial de óleos essenciais no manejo da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro**. 2008. Cap. 3, p.62-105. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

A cercosporiose é uma das doenças de maior importância em cafeeiro, pois promove queda acentuada de folhas e prejudica a qualidade da bebida. Seu controle é realizado, convencionalmente, pela aplicação de fungicidas cúpricos e sistêmicos. Assim, os óleos essenciais surgem como uma alternativa para o controle da cercosporiose em cafeeiro. Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram: (i) avaliar o efeito *in vitro* dos óleos essenciais de canela (CA), citronela (CI), capim-limão (CL), cravo-da-índia (CR), árvore-de-chá (ME), tomilho (TO), nim (NI) e eucalipto (EU) na germinação de conídios e no crescimento micelial de *Cercospora coffeicola*; (ii) avaliar o efeito dos óleos essenciais e acibenzolar-S-metil (ASM) no controle da cercosporiose nas cultivares de cafeeiro Catucaí 2SL, Catucaí IAC 62 e Mundo Novo 379/19 em casa de vegetação; (iii) avaliar o efeito sistêmico dos óleos essenciais mais promissores, ASM e tebuconazole no controle da doença, em três cultivares de cafeeiro e (iv) avaliar o efeito *in vivo* dos óleos essenciais de CA e CI sobre os eventos iniciais de infecção do patógeno por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV). Todos os óleos essenciais promoveram a inibição da germinação dos conídios de *C. coffeicola* com o aumento das concentrações. Os óleos de CR, CA, NI, TO e CL inibiram o crescimento micelial de *C. coffeicola* na concentração  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$ . O tratamento ASM promoveu o maior controle da doença em todas as cultivares. Os óleos essenciais promovem controle parcial da cercosporiose em casa de vegetação, sendo os óleos de CA e CI os mais promissores no controle da doença em todas as cultivares. Os óleos essenciais de CA e CI promovem proteção sistêmica nas cultivares Catucaí 2SL e Catucaí IAC 62 contra a cercosporiose. Em MEV observou-se que os óleos essenciais de CA e CI reduziram a germinação e o desenvolvimento micelial de *C. coffeicola in vivo*, promovendo o extravasamento do citoplasma celular. Portanto, o controle da cercosporiose obtido pela aplicação dos óleos essenciais se deve, provavelmente, à proteção local e à indução de resistência sistêmica.

---

\***Comitê de Orientação:** Eduardo Alves – UFLA (Orientador); Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA (Co-orientador) e Mário Sobral de Abreu – UFLA (Co-orientador).

## ABSTRACT

PEREIRA, Ricardo Borges. Essential oils in the control of brown spot eye from coffee plant. In: \_\_\_\_\_. **Potential of the essential oils in the control of rust and brown spot eye of coffee plant**. 2008. Chap. 3, p.62-105. Thesis (Doctor in Phytopathology) - Federal University of Lavras, Lavras, MG.\*

The brown spot eye is one of the most important coffee diseases, because it causes leaves fall and undermine the drink quality. Its control is conventionally done by the application of copper and systemic fungicides. Thus, the essential oils are an alternative to control of coffee brown spot eye. Considering the exposed, the objectives of this work were: (i) to assess the effect in vitro of essential oils of cinnamon (CA), citronella (CI), lemon grass (CL), clove (CR), tea-tree (ME), thyme (TO), neem (NI) and eucalyptus (EU) on the conidia germination and on mycelial growth of *Cercospora coffeicola*; (ii) to assess the effect of essential oils and acibenzolar-S-methyl (ASM) to control of brown spot eye in coffee cultivars Catucaí 2SL, Catucaí IAC 62 and Mundo Novo 379/19 in a greenhouse; (iii) to evaluate the systemic effect of essential oils most promising, as well ASM and tebuconazole on brown spot eye control in three coffee cultivars and; (iv) to assess in vivo the effects of these on the conidia germination and fungal development of *C. coffeicola* through scanning electron microscopy (SEM). All essential oils promoted the inhibition of conidia germination of *C. coffeicola* with increasing concentrations. The oil CR, CA, NI, TO and CL inhibited the mycelial growth of *C. coffeicola* concentration in 1000  $\mu\text{L L}^{-1}$ . The treatment ASM promoted the best disease control in all cultivars. The essential oils promote partial brown spot eye control in the greenhouse, and the oils of CA and CI were the most promising to brown spot eye control in all cultivars. The essential oils of CA and CI promoted systemic protection in cultivars Catucaí 2SL and Catucaí IAC 62 against spot eye. In SEM, essential oils of CA and CI reduced germination and mycelial development of *C. coffeicola* in vivo, promoting the leakage of the cell cytoplasm. Therefore, the brown spot eye control obtained by the application of essential oils should be, probably, to protect local and systemic resistance induction.

---

\***Advising Committee:** Eduardo Alves - UFLA (Adviser), Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA (Co-adviser) and Mário Sobral de Abreu - UFLA (Co-adviser).

## 1 INTRODUÇÃO

O cafeeiro (*Coffea arabica* L.) é uma cultura de grande importância para o agronegócio brasileiro e representa uma das principais fontes de divisas para o país. Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento, Conab (2008), a produção nacional de *C. arábica*, em 2008, foi de 45,85 milhões de sacas. No entanto, o cafeeiro é acometido por diversas doenças, destacando-se, como uma das principais, a cercosporiose-do-cafeeiro, causada por *Cercospora coffeicola* Berk & Cooke.

A cercosporiose do cafeeiro ocupa posição de destaque na cultura, pois o patógeno ataca as plantas desde a sua formação em viveiro até a fase de produção em campo, podendo os sintomas ser observados em folhas e frutos (Zambolim et al., 2005). A doença, normalmente, causa intensa desfolha, principalmente no terço superior da planta, expondo os frutos à alta insolação e predispondo-os a infecção do patógeno. Os frutos doentes têm o seu processo de maturação acelerado, o que provoca a queda dos mesmos antes da colheita, além da depreciação da qualidade da bebida (Pozza, 2008).

As perdas ocasionadas pela doença podem chegar a 30% da produção, quando não são adotadas medidas de controle. Condições de déficit hídrico, baixa fertilidade ou desbalanço nutricional, principalmente entre cálcio e potássio, favorecem o ataque do patógeno (Pozza, 2000; 2008).

O controle da cercosporiose tem sido realizado de forma convencional com a aplicação de fungicidas cúpricos e do grupo dos triazóis, estrobirulinas e benzimidazóis (Zambolim & Vale, 2003). No entanto, o uso indiscriminado destes pode promover danos irreversíveis ao ambiente e à saúde humana.

Pesquisas em torno do potencial dos óleos essenciais no controle de doenças de plantas têm sido estimuladas nos últimos anos, uma vez que estes,

além de apresentarem propriedades antimicrobianas (Schwan-Strada & Stangarlin, 2005), têm se mostrado promissores no controle alternativo de doenças de plantas (Guiraldo et al., 2004). Segundo Schwan-Estrada (2003), a exploração da atividade biológica de compostos secundários, como os óleos essenciais, pode se constituir, ao lado da indução de resistência, em mais uma forma potencial de controle alternativo de doenças de plantas.

A atividade antimicrobiana *in vitro* de substâncias obtidas a partir de plantas medicinais tem sido comprovada por diversos autores. Alves et al. (2003) relataram a eficiência dos óleos de citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle.) e de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf) no controle dos fungos *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Saccardo, *Colletotrichum musae* Berk e Curt.) e *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* Ventura, Zam. & Gilb. Medice et al. (2007) verificaram que os óleos essenciais de eucalipto (*Corymbia citriodora* Hill & Johnson), tomilho (*Thymus vulgaris* L.), nim (*Azadirachta indica* A Juss.) e citronela inibiram totalmente a germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd., e reduziram a severidade da ferrugem asiática da soja (*Glycine max* (L.) Merr.) em casa de vegetação. Feng & Zheng (2007) também verificaram a atividade antifúngica do óleo essencial de tomilho sobre *Alternaria alternata* (Fr.) Kiessler. Ranasingue et al. (2002) relataram a atividade fungitóxica e fungistática dos óleos essenciais de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (Linne) Merril) e canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume.) sobre *C. musae*, *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff & Maubl. e *Fusarium proliferatum* (Matsuhima) Nirenberg. Zambonelli et al. (1996) verificaram atividade tóxica do óleo essencial de árvore de chá sobre o crescimento micelial de *Fusarium moniliforme* Sheldon e *F. subglutinans*.

Além da atividade *in vitro*, a eficiência dos óleos essenciais no controle de doenças de plantas tem sido evidenciada em vários patossistemas, tais como

*C. coffeicola* em cafeeiro (Pereira et al., 2008), *P. pachyrhizi* em soja (Medice et al., 2007), *Alternaria solani* (Ell. & Mart.) Jones & Grout em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) (Abreu, 2006) e *Colletotrichum acutatum* Simmonds em morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.) (Rios et al., 2003), entre outros.

Embora existam, na literatura, vários trabalhos mostrando a eficiência de óleos essenciais *in vitro* sobre diferentes fitopatógenos, poucos mostram o efeito destes sobre fitopatógenos *in vivo*, principalmente com relação ao controle de *C. coffeicola* em cafeeiro.

Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram: avaliar o efeito *in vitro* dos óleos essenciais na germinação de conídios e no crescimento micelial de *C. coffeicola*; avaliar o efeito destes no controle da cercosporiose em diferentes cultivares de cafeeiro; avaliar a proteção sistêmica em diferentes cultivares de cafeeiro submetidas ao tratamento com óleos essenciais e seus efeitos no controle da cercosporiose e verificar seus efeitos sobre os eventos iniciais de infecção do patógeno por meio da microscopia eletrônica de varredura.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local de realização dos trabalhos

Os experimentos deste trabalho foram realizados no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra-Estrutural (LME), em casa de vegetação, do Departamento de Fitopatologia (DFP) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), na cidade de Lavras, MG, situada a 960 m de altitude, 44,97° de longitude Oeste e 21,22° de latitude Sul, no período de março de 2007 a dezembro de 2008.

### 2.2 Obtenção do inóculo de *Cercospora coffeicola*

Para a obtenção do inóculo de *C. coffeicola*, folhas naturalmente infectadas no campo, na região de Lavras, MG, foram coletadas e lavadas superficialmente em água corrente. Após o enxugamento das folhas com papel toalha, estas foram submetidas a uma câmara úmida por três dias. Em seguida, realizou-se a raspagem dos conídios produzidos em ambas as faces das folhas, utilizando-se um pincel de cerdas macias umedecidas em água destilada. A suspensão obtida foi filtrada em gaze e ajustada em hemocitômetro para a concentração de  $1,5 \times 10^4$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ , concentração esta utilizada em todos os experimentos.

### 2.3 Preparo e condução das mudas de cafeeiro

Em todos os experimentos descritos a seguir foram utilizadas mudas de cafeeiro das cultivares Mundo Novo 379/19, Catuaí IAC 62 e Catuaí 2SL, como materiais suscetíveis a *C. coffeicola*.

As mudas foram adquiridas na Estação Experimental da Epamig, Centro de Pesquisa do Sul de Minas, Lavras, MG, com seis meses de idade. Em

seguida, foram transplantadas para vasos de 7 L, contendo substrato composto de terra, esterco bovino e areia, na proporção 2:1:1. As plantas foram mantidas em casa de vegetação durante todo o período experimental, onde foram irrigadas periodicamente e adubadas conforme a recomendação (Ribeiro et al., 1999).

#### 2.4 Obtenção dos óleos essenciais

Os óleos essenciais utilizados foram adquiridos da Brasil Portrait (2008).

**TABELA 1:** Nome comum e científico das plantas utilizadas como fontes de extração dos óleos essenciais.

Nome comum	Nome científico
Árvore-de-chá	<i>Melaleuca alternifolia</i>
Canela	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>
Capim-limão	<i>Cymbopogon citratus</i>
Citronela	<i>Cymbopogon nardus</i>
Cravo-da-índia	<i>Syzygium aromaticum</i>
Eucalipto	<i>Corymbia citriodora</i>
Nim	<i>Azadirachta indica</i>
Tomilho	<i>Thymus vulgaris</i>

#### 2.5 Avaliação da toxidez dos óleos essenciais na germinação de conídios e no crescimento micelial de *Cercospora coffeicola*

Para a avaliação da toxidez dos óleos essenciais na germinação de *C. coffeicola*, foram testados os óleos de tomilho, cravo-da-índia, eucalipto, canela, citronela, árvore-de-chá, nim e capim-limão, nas concentrações de 0, 250, 500, 1.000, 1.500 e 2.000  $\mu\text{L L}^{-1}$  de água. Foi adicionado leite em pó 10 g  $\text{L}^{-1}$  como emulsificante natural às concentrações de 2.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ , das quais partiram as demais diluições. A fim de isolar o efeito do leite em pó presente nas diluições dos óleos, foi adicionado ao experimento um tratamento contendo as mesmas

quantidades de leite em pó utilizadas.

Foram utilizadas placas de Petri de 6 cm de diâmetro, com meio ágar-água (AA) 2%. Os tratamentos foram adicionados ao meio antes que este fosse vertido nas placas, após queda da temperatura para 40°C, de modo que as diluições finais atingissem as pré-estabelecidas pelo ensaio. Após a solidificação do meio, 500 µL da suspensão de conídios foram depositados sobre a superfície do meio e espalhados com uma alça de Drigalsky. Em seguida, as placas foram acondicionadas em BOD, a 25°C, com fotoperíodo de 12 horas de luz, por 24 horas.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com duas placas para cada tratamento cada uma, dividida em quatro quadrantes, num total de oito repetições.

Após a incubação, a germinação foi paralisada pela adição de quatro gotas de solução de lactoglicerol. Em seguida, foi avaliada a percentagem de germinação dos conídios em microscópio de luz, sendo avaliados 30 conídios por quadrante.

Para avaliar a toxidez dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial de *C. coffeicola* foram testados os óleos essenciais de tomilho, cravo-da-índia, eucalipto, canela, citronela, árvore-de-chá, nim e capim-limão na concentração de 1.000 µL L<sup>-1</sup> de água. Como emulsificante natural foi utilizado leite em pó, na concentração 10 g L<sup>-1</sup>. Foram adicionados ao experimento dois tratamentos, um composto somente por leite em pó 10 g L<sup>-1</sup> e uma testemunha composta por água destilada.

Foram utilizadas placas de Petri de 11 cm de diâmetro com meio batata, dextrose e ágar (BDA) 2%. Os meios foram preparados e vertidos nas placas conforme metodologia descrita no experimento anterior. No centro de cada placa, foi adicionado um disco de meio de 6 mm de diâmetro contendo micélio jovem de *C. coffeicola*. Em seguida, as placas foram acondicionadas em BOD a

25°C e fotoperíodo de 12 horas, permanecendo nessa condição até o final das avaliações.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com oito repetições, sendo cada parcela composta de dois vasos com três plantas.

Foram realizadas avaliações do diâmetro das colônias a cada quatro dias, desde a inoculação, até que o micélio do tratamento testemunha ocupasse toda a superfície do meio. Em seguida, foi calculado o índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM), por adaptação da fórmula de Maguire (1962).

## **2.6 Óleos essenciais no controle da cercosporiose do cafeeiro em casa de vegetação**

Neste experimento, foram testados os óleos essenciais de tomilho, cravo-da-índia, eucalipto, canela, citronela, árvore-de-chá, nim e capim-limão na concentração de 1.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ , leite em pó 10  $\text{g L}^{-1}$ , acibenzolar-S-metil (ASM) 200  $\text{mg L}^{-1}$  como padrão de indução de resistência e uma testemunha inoculada (água destilada).

Mudas de cafeeiro das cultivares Mundo Novo 379/19, Catuaí IAC 62 e Catuaí 2SL, com nove meses de idade, foram pulverizadas com os tratamentos até o ponto de escorrimento, utilizando-se um pulverizador manual. Após 30 dias, as plantas foram novamente pulverizadas com os mesmos tratamentos. Sete dias após a primeira aplicação, as plantas foram inoculadas com *C. coffeicola* mediante uma pulverização com uma suspensão de conídios e, em seguida, submetidas a uma câmara úmida por 14 horas.

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados (DBC), com três repetições, sendo cada parcela composta por seis plantas.

Foram realizadas cinco avaliações da cercosporiose, a partir dos 21 dias após a inoculação, em intervalos de 14 dias, utilizando-se a escala diagramática

proposta por Oliveira et al. (2001). Em seguida, foram calculadas as áreas abaixo da curva de progresso da incidência (AACPID) e a severidade da doença (AACPSD), conforme Shaner & Finney (1977), por meio da seguinte equação:

$$AACPD = \sum_{i=1}^{n-1} [(X_i + X_{i+1}) / 2] (t_{i+1} - t_i)$$

em que: X = intensidade da doença; t = tempo e n = número de avaliações no tempo.

## **2.7 Avaliação do efeito sistêmico em cultivares de cafeeiro tratadas com óleos essenciais**

Para avaliar a proteção sistêmica em diferentes cultivares de cafeeiro e seus efeitos no controle da cercosporiose, foram realizados três experimentos, um com cada cultivar (Mundo Novo 379/19, Catuaí IAC 62 e Catuaí 2SL).

Foram testados os dois óleos essenciais mais promissores obtidos no experimento anterior, no caso, os óleos de canela e citronela, na concentração de 1.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ , acibenzolar-S-metil (ASM) 200  $\text{mg L}^{-1}$ , fungicida tebuconazole 200  $\mu\text{L L}^{-1}$ , leite em pó 10  $\text{g L}^{-1}$  e testemunha (água destilada).

Aos nove meses de idade, as plantas foram marcadas, separadas em duas partes, metade inferior e metade superior. Realizou-se a aplicação dos tratamentos somente na metade inferior das plantas, utilizando-se um pulverizador manual, até atingir o ponto de escorrimento. Após 30 dias, as plantas foram novamente pulverizadas na metade inferior com os mesmos tratamentos. Sete dias após a primeira aplicação, realizaram-se as inoculações em ambas as metades das plantas, inferior e superior. A inoculação das plantas foi realizada conforme metodologia descrita no experimento anterior.

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados (DBC), com três repetições, sendo cada parcela composta por seis plantas.

Foram realizadas cinco avaliações da cercosporiose, separadamente, em

cada uma das partes, a partir dos 21 dias após a inoculação, em intervalos de 14 dias, utilizando-se a escala diagramática proposta por Oliveira et al. (2001). Em seguida, foram calculadas as áreas abaixo da curva de progresso da incidência (AACPID) e a severidade da doença (AACPSD), conforme Shaner & Finney (1977).

## **2.8 Estudo da germinação e do desenvolvimento micelial *in vivo***

### **2.8.1 Instalação do experimento e inoculação**

Para a avaliação da germinação e do desenvolvimento micelial de *C. coffeicola in vivo*, foram utilizadas plantas de cafeeiro das cultivares Mundo Novo 379/19, Catuaí IAC 62 e Catuaí 2SL, com nove meses de idade, cultivadas conforme descrito no item 2.3.

Foram testados os dois óleos essenciais mais promissores para o controle da cercosporiose obtidos no primeiro experimento, no caso, os óleos essenciais de canela e citronela e uma testemunha (água destilada).

As plantas foram pulverizadas até o ponto de escorrimento, utilizando-se um pulverizador manual e, dois dias após a aplicação, foram coletadas sete folhas de cada tratamento, destacando-se as folhas do terceiro par. Bandejas plásticas previamente desinfestadas com álcool foram preparadas para a recepção das folhas. No fundo das bandejas foram colocadas esponjas de látex laminadas e sobre as mesmas foram colocadas duas folhas de papel *germitest* umedecidas com água destilada. Em seguida, foram desenhados seis círculos de 1 cm de diâmetro com caneta de marca permanente na superfície abaxial das folhas e, em seguida, as folhas foram acomodadas em bandejas. No centro de cada círculo, foram depositados 25 µL da suspensão de  $1,5 \times 10^3$  conídios de *C. coffeicola* mL<sup>-1</sup>. Após a inoculação, as bandejas foram cobertas com plástico transparente e dispostas em câmara de crescimento a 25°C, até o final das coletas.

### **2.8.2 Coleta das amostras para microscopia**

As coletas das amostras a serem observadas em microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas nos tempos de 4, 8, 16 e 48 horas após inoculação. As coletas foram feitas por meio de cortes circulares de 5 mm de diâmetro, realizados com bisturi, dentro de cada círculo onde foram realizadas as inoculações. Os fragmentos foram colocados em microtubos de 1,5 mL contendo fixador (Karnovsky's modificado) e, em seguida, armazenados em geladeira, a 4°C.

O preparo e a observação das amostras em MEV foram realizados no Laboratório de Microscopia e Análise Ultra-Estrutural (LME), no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, MG.

### **2.8.3 Preparo das amostras para microscopia eletrônica de varredura**

Depois de imerso em solução fixativa (Karnovsky's modificado), pH 7,2, por um período mínimo de 24 horas, oito fragmentos de cada tratamento foram transferidos para uma solução tampão de cacodilato 0,05 M e lavados três vezes, durante 10 minutos. As secções foram transferidas para solução de tetróxido de ósmio 1,0% em água por 1 hora, lavadas em água destilada por três vezes e desidratadas em uma série de acetona (30%, 50%, 70%, 90% e 100%, por três vezes). Após essa desidratação, as amostras foram levadas ao aparelho de ponto crítico Balzers CPD 030 para substituição da acetona por CO<sub>2</sub> e complementação da secagem. Os espécimes obtidos foram montados em suportes de alumínio *stubs* com fita de carbono sobre uma película de papel alumínio e cobertos com ouro no evaporador Balzers SCD 050, para observação em microscópio eletrônico de varredura LEO EVO 40. As imagens foram geradas e registradas digitalmente, nas condições de trabalho de 20 Kv e distância de trabalho de 10 mm. As imagens geradas foram gravadas e abertas no Software Photopaint do pacote Corel Draw 12.

## 2.9 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas em software estatístico Sisvar v. 4.0. (Ferreira, 2000). Para a comparação de médias qualitativas, utilizou-se o teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) e, para médias quantitativas, foram gerados gráficos de regressão. Para a confecção dos gráficos de regressão, utilizou-se o programa Excel, do Microsoft Office 2007. Dados de porcentagem de germinação dos conídios foram transformados para  $\sqrt{x + 1}$ .

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

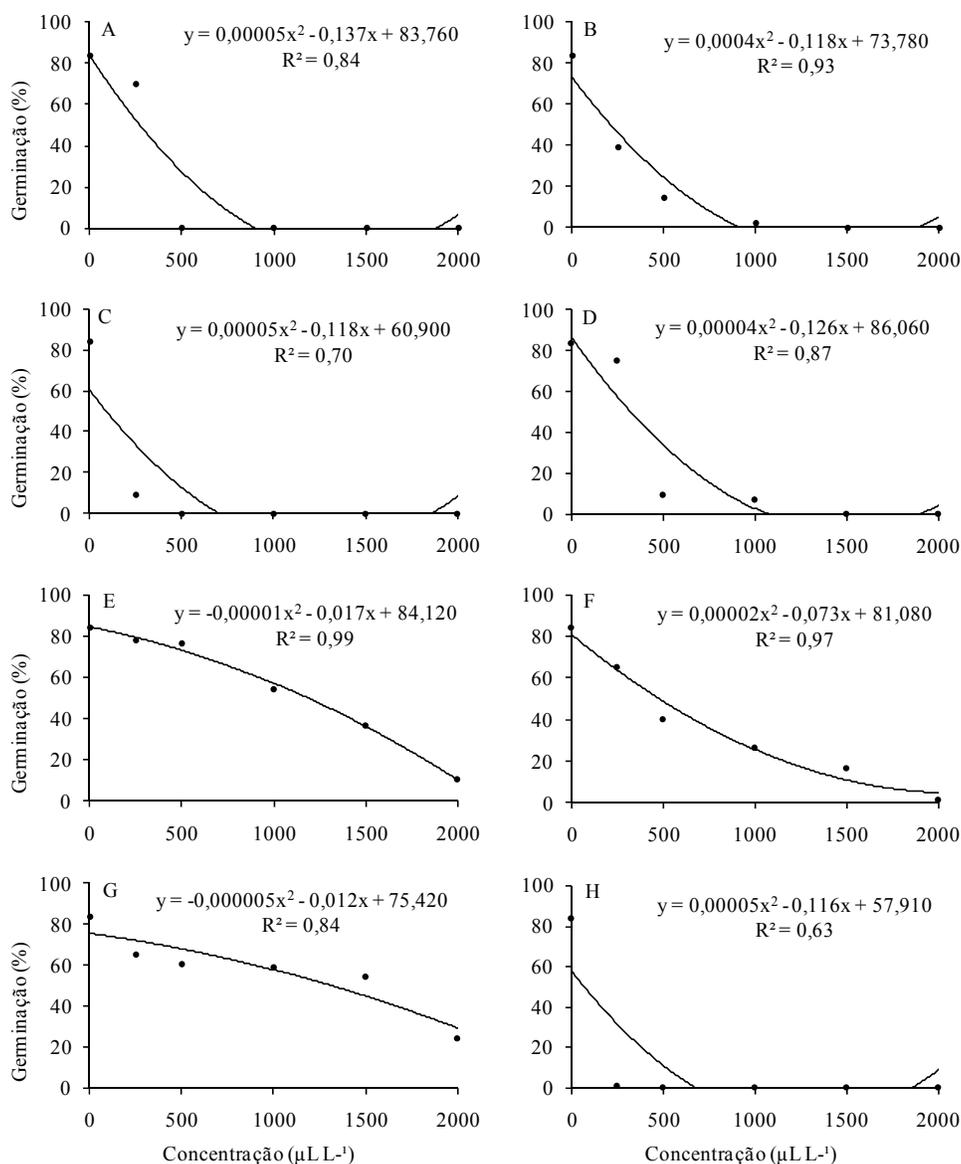
#### 3.1 Avaliação da toxidez dos óleos essenciais na germinação de conídios e no crescimento micelial de *Cercospora coffeicola*

Todos os óleos essenciais reduziram a germinação de conídios de *C. coffeicola* de forma quadrática, com o aumento das concentrações (Figura 1). Os óleos essenciais de tomilho, capim-limão, canela e citronela inibiram totalmente a germinação dos conídios a partir da concentração de  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$ , com  $DL_{50}$  (concentração capaz de promover a inibição ou morte de 50% dos conídios viáveis), estimada em 303, 332, 348 e  $561 \mu\text{L L}^{-1}$ , respectivamente (Figura 2).

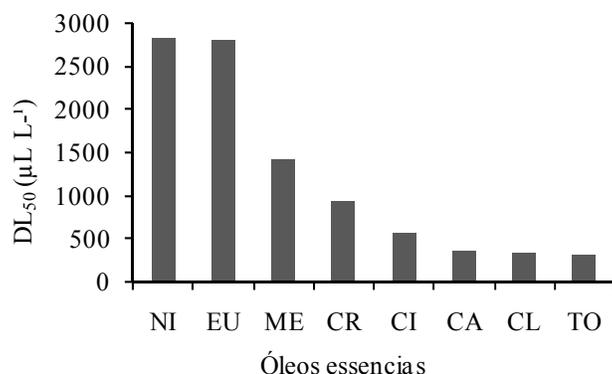
Os óleos essenciais de cravo-da-índia e árvore-de-chá promoveram 100% de inibição da germinação de conídios a partir das concentrações de  $1.500$  e  $2.000 \mu\text{L L}^{-1}$ , com  $DL_{50}$  estimadas em 937 e  $1416 \mu\text{L L}^{-1}$ , respectivamente. Os óleos essenciais de eucalipto e nim mostraram-se menos tóxicos que os demais, apresentando  $DL_{50}$  de 2804 e  $2816 \mu\text{L L}^{-1}$ , respectivamente.

Os óleos essenciais de canela e citronela inibiram totalmente o crescimento micelial de *C. coffeicola*, sem diferir do óleo de nim, o qual apresentou inibição de 95,13% em relação à testemunha (BDA) (Figura 3 e 4). Os óleos essenciais de tomilho e capim-limão reduziram o IVCM em 56,14% e 13,78%, respectivamente, enquanto os demais tratamentos não diferiram da testemunha, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

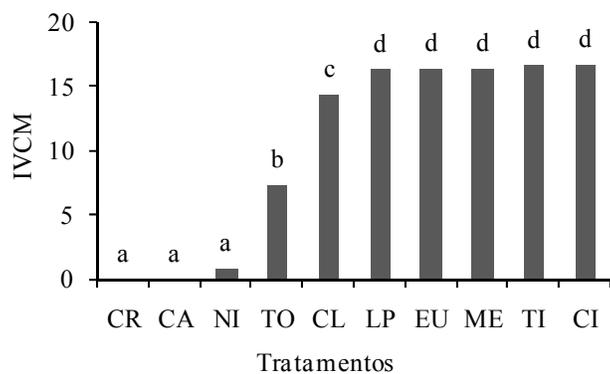
Diversos trabalhos relatam o efeito antimicrobiano de óleos essenciais sobre o desenvolvimento de patógenos. Wilson et al. (1997) e Rozwalka et al. (2008) verificaram a atividade fungitóxica do óleo essencial de capim-limão sobre a germinação de esporos de *Botrytis cinerea* Persoon ex Fries e sobre o desenvolvimento micelial de *Glomerella cingulata* (Stonemam) Spauld & Schrenk e *C. gloeosporioides*.



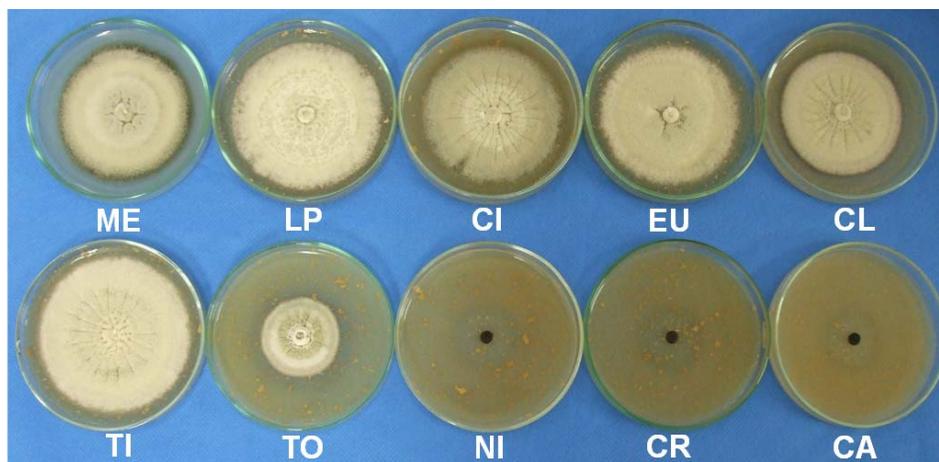
**FIGURA 1.** Porcentagem de germinação de conídios de *Cercospora coffeicola* submetidos a diferentes concentrações (0, 250, 500, 1.500 e 2.000 μL L<sup>-1</sup>) dos óleos essenciais de canela (A), citronela (B), capim-limão (C), cravo-da-índia (D), eucalipto (E), árvore-de-chá (F), nim (G) e tomilho (H). Dados transformados para  $\sqrt{x+1}$ .



**FIGURA 2.** DL<sub>50</sub> (concentração capaz de promover a inibição ou morte de 50% dos conídios viáveis de *Cercospora coffeicola* em µL L<sup>-1</sup>) dos óleos essenciais de nim (NI), eucalipto (EU), árvore-de-chá (ME), cravo-da-índia (CR), citronela (CI), canela (CA), capim-limão (CL) e tomilho (TO).



**FIGURA 3.** Índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM) de *Cercospora coffeicola* submetido aos óleos essenciais de cravo-da-índia (CR), canela (CA), nim (NI), tomilho (TO), capim-limão (CL), eucalipto (EU), árvore-de-chá (ME) e citronela (CI), na concentração de 1.000 µL L<sup>-1</sup>, leite em pó (LP) 10 g L<sup>-1</sup> e testemunha (TI). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).



**FIGURA 4.** Crescimento micelial de *Cercospora coffeicola* submetido aos óleos essenciais de árvore-de-chá (ME), citronela (CI), eucalipto (EU), capim-limão (CL), tomilho (TO), nim (NI), cravo-da-índia (CR) e canela, na concentração de  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$ , leite em pó (LP)  $10 \text{ g L}^{-1}$  e testemunha (TI).

Em outro trabalho, Souza et al. (2004) verificaram que os óleos essenciais de canela de ( $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), cravo-da-índia ( $600 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e tomilho ( $600 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) inibiram completamente o desenvolvimento micelial *in vitro* de *Rhizopus* sp., *Eurotium repens* de Bary e *Aspergillus niger*. Já Santos et al. (2001) relataram a eficiência do óleo essencial de citronela sobre a inibição do desenvolvimento micelial de *F. subglutinans* f. sp. *ananas*, causador da fusariose do abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merr.).

Óleos essenciais de citronela, tomilho e canela apresentam como constituintes alguns monoterpênicos como d-limoneno, cineol e b-mirceno (Wilson et al., 1997), anetol, pinaldeído, carvacrol, carvone, limoneno,  $\alpha$ -felandreno e  $\alpha$ -pineno em grandes quantidades que, segundo Caccioni & Guizzardi (1994), são responsáveis pela inibição da germinação de vários patógenos. Segundo Zambonelli et al. (2004), a inibição da germinação e do

crescimento micelial evidenciada pelo tomilho se deve à presença de compostos tóxicos, como timol e carvacrol, presentes em grandes quantidades no óleo, os quais apresentam propriedades bactericidas e fungicidas (Pinto et al., 2001).

Em outro trabalho, desenvolvido por Salgado et al. (2003), há o relato do efeito fungistático dos óleos essenciais de *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake, *E. camaldulensis* Dehn e *C. citriodora* sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Bipolaris sorokiniana* Shoemaker e *B. cinérea*, na concentração de 500 mg L<sup>-1</sup>. Segundo Charles & Simon (1990), os óleos essenciais de eucalipto são constituídos, de forma geral, de terpenos complexos, como o citronelal e o cineol. Ponce et al. (2003), analisando o poder antimicrobiano do óleo essencial de árvore-de-chá, constataram que a concentração de 500 a 800 µL L<sup>-1</sup> foi suficiente para a inibição do crescimento de bactérias pelo método mínimo de concentração.

Segundo Piper et al. (2001), as substâncias presentes nos óleos essenciais, quando em contato com os micro-organismos, afetam a integridade das membranas celulares, causando a extravasamento de seus constituintes. Este fato foi observado por Medice et al. (2007), em plantas de soja tratadas com óleo essencial de tomilho e inoculadas com *P. pachyrhizi*; por Pereira et al. (2008), em plantas de cafeeiro tratadas com óleo essencial de tomilho e inoculadas com *C. coffeicola* e por Bard et al. (1988), em *Candida* sp. e por Cox et al. (2000), em *Saccharomyces* sp. submetida ao óleo essencial de árvore-de-chá.

### **3.2 Óleos essenciais no controle da cercosporiose do cafeeiro em casa de vegetação**

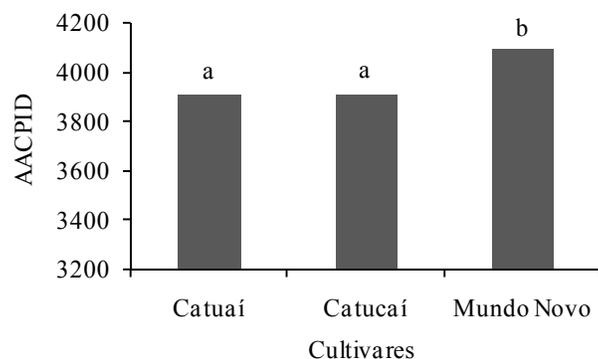
No experimento realizado em casa de vegetação com as três cultivares de cafeeiro, não foi observado nenhum sintoma de fitotoxidez em razão da aplicação dos óleos essenciais. Foi observada interação significativa para a área abaixo da curva de progresso da incidência da cercosporiose (AACPID) entre as

cultivares e os produtos utilizados. No entanto, para a área abaixo da curva de progresso da severidade da cercosporiose (AACPSD) esta foi significativa. As cultivares Catuaí IAC 62 e Catuaí 2SL apresentaram menores AACPID em relação à cultivar Mundo Novo 379/19 (Figura 5). O tratamento padrão acibenzolar-S-metil apresentou a maior redução da AACPID, 27,5%, seguido dos óleos essenciais de citronela e canela, com reduções de 12,0% e 10,0%, respectivamente (Figura 6). Os demais tratamentos não diferiram entre si e em relação à testemunha, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

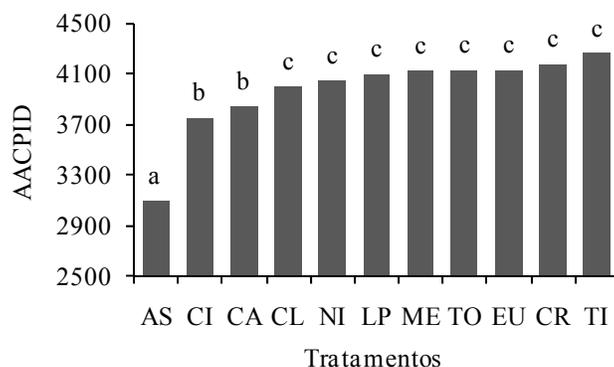
O tratamento padrão acibenzolar-S-metil reduziu a AACPSD na cultivar Catuaí 2SL em 64,94% em relação à testemunha, seguido do óleo essencial de citronela, com redução de 43,08% (Figura 7). Os óleos essenciais de eucalipto, canela e cravo-da-índia também reduziram significativamente a AACPSD em 21,08, 21,05% e 10,80%, respectivamente, sem diferirem entre si.

Na cultivar Catuaí IAC 62, acibenzolar-S-metil reduziu a AACPSD em 58,28% em relação à testemunha, seguido do óleo essencial de canela com redução de 38,25% (Figura 8). Os óleos essenciais de capim-limão, árvore-de-chá, tomilho, eucalipto, citronela e nim também reduziram a AACPSD em 27,68%, 20,36%, 18,39%, 18,03%, 16,95% e 15,43%, respectivamente, sem diferirem entre si.

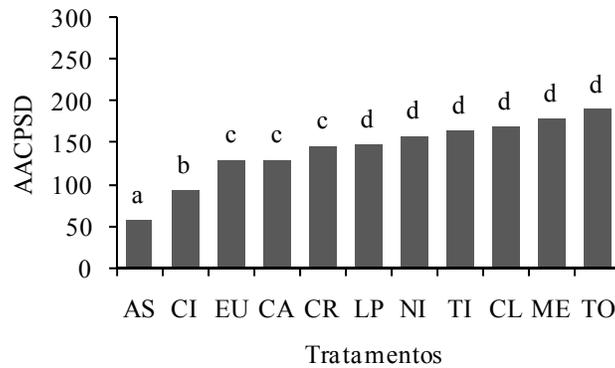
Na cultivar Mundo Novo 379/19, o acibenzolar-S-metil reduziu a AACPSD em 55,91%, seguido dos óleos essenciais de citronela e canela, os quais reduziram a AACPSD em 29,69% e 25,02%, respectivamente (Figura 9). Os demais tratamentos não diferiram em relação à testemunha pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).



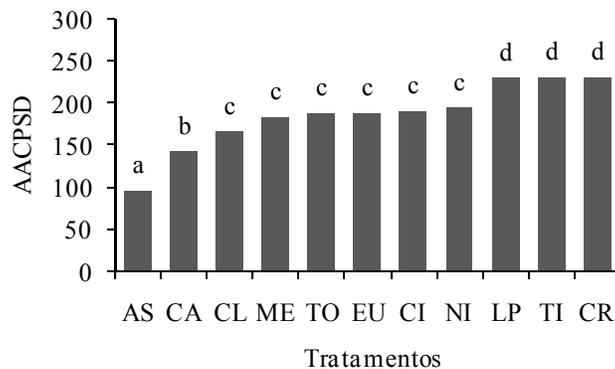
**FIGURA 5.** Área abaixo da curva de progresso da incidência da cercosporiose (AACPID) das diferentes cultivares de cafeeiro. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).



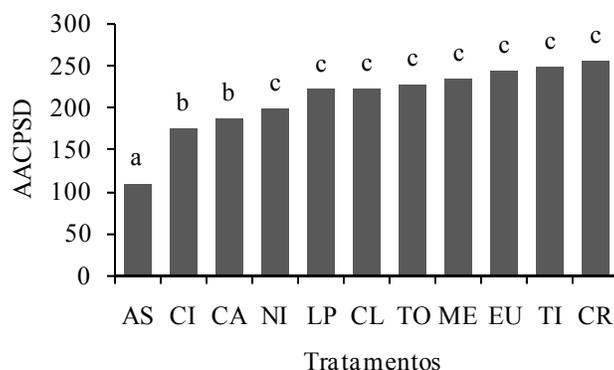
**FIGURA 6.** Área abaixo da curva de progresso da incidência da cercosporiose (AACPID) nas cultivares Catucaí 2SL, Catuaí IAC 62 e Mundo Novo 379/19 tratadas com óleos essenciais de citronela (CI), canela (CA), capim-limão (CL), nim (NI), árvore-de-chá (ME), tomilho (TO), eucalipto (EU) e cravo-da-índia (CR), na concentração de  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$ , acibenzolar-S-metil (AS)  $200 \text{ mg L}^{-1}$ , leite em pó (LP)  $10 \text{ g L}^{-1}$  e testemunha (TI). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).



**FIGURA 7.** Área abaixo da curva de progresso da severidade da cercosporiose (AACPSD) na cultivar Catucaí 2SL tratada com óleos essenciais de citronela (CI), eucalipto (EU), canela (CA), cravo-da-índia (CR), nim (NI), capim-limão (CL), árvore-de-chá (ME) e tomilho (TO), na concentração de  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$ , acibenzolar-S-metil (AS)  $200 \text{ mg L}^{-1}$ , leite em pó (LP)  $10 \text{ g L}^{-1}$  e testemunha (TI). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).



**FIGURA 8.** Área abaixo da curva de progresso da severidade da cercosporiose (AACPSD) na cultivar Catuaí IAC 62 tratada com óleos essenciais de canela (CA), capim-limão (CL), árvore-de-chá (ME), tomilho (TO), eucalipto (EU), citronela (CI), nim (NI) e cravo-da-índia (CR), na concentração de  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$ , acibenzolar-S-metil (AS)  $200 \text{ mg L}^{-1}$ , leite em pó (LP)  $10 \text{ g L}^{-1}$  e testemunha (TI). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).



**FIGURA 9.** Área abaixo da curva de progresso da severidade da cercosporiose (AACPSD) na cultivar Mundo Novo 379/19, tratadas com óleos essenciais de citronela (CI), canela (CA), nim (NI), capim-limão (CL), tomilho (TO), árvore-de-chá (ME), eucalipto (EU) e cravo-da-índia (CR), na concentração de  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$ , acibenzolar-S-metil (AS)  $200 \text{ mg L}^{-1}$ , leite em pó (LP)  $10 \text{ g L}^{-1}$  e testemunha (TI). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

Resultados semelhantes foram observados por Pereira et al. (2008), os quais verificaram reduções de 35,0% e 16,1% na área abaixo da curva de progresso do número de lesões (AACPNL), em plantas de cafeeiro tratadas com acibenzolar-S-metil e óleo essencial de tomilho, respectivamente, inoculadas com *C. coffeicola*, aos sete dias após a aplicação.

Ribeiro Júnior (2008) observou redução de 31% na AACPNL da cercosporiose em plantas de cafeeiro tratadas com acibenzolar-S-metil e inoculadas com *C. coffeicola*. Em cafeeiro, Patricio et al. (2008) relataram controle de até 55% da cercosporiose do cafeeiro em campo, utilizando acibenzolar-S-metil. Também trabalhando com cafeeiro, Guzzo et al. (2004) observaram incremento nas atividades de quitinase e  $\beta$ -1,3-glucanase, 24 horas após a aplicação foliar de acibenzolar-S-metil, as quais mantiveram-se altas até 35 dias após a aplicação, proporcionando redução na severidade da ferrugem de

60% a 80%.

O óleo de canela tem sido testado com sucesso por alguns autores para o controle de fitopatógenos. Abreu (2006) observou redução de 26%, 62% e 95% na incidência da pinta-preta do tomateiro, em plantas tratadas com o óleo essencial de canela, nas concentrações de 500, 750 e 5.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ , respectivamente. Já em campo, o autor observou redução de 12,5% e 32,8% na incidência da doença em folíolos de plantas de tomateiro tratadas com óleo essencial de canela nas concentrações de 3.000 e 5.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ . Segundo Abreu (2006), o aumento das concentrações do óleo essencial de canela e a diminuição dos intervalos de aplicação proporcionam um aumento na eficiência do óleo no controle da doença. Possivelmente, o controle parcial da doença, obtido pela aplicação do óleo essencial de canela, se deve à presença dos compostos como cinamaldeídos e eugenol que, segundo Montes-Belmont & Carvajal (1998), são os dois componentes de maiores propriedades antimicrobianas presentes no óleo.

Medice et al. (2007), trabalhando com ferrugem-asiática da soja em casa de vegetação, observaram reduções de 35% a 62% na severidade da doença em diferentes cultivares tratadas com os óleos essenciais de tomilho, citronela, eucalipto e nim, sete dias antes da inoculação. Almada et al. (1998) também observaram efeito fungitóxico do óleo essencial de tomilho em plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) inoculadas com *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. & Curt.) Rostov em casa de vegetação.

Rios et al. (2003) utilizaram o óleo essencial de citronela no controle de *C. acutatum*, agente causal da flor-preta-do-morangueiro e observaram que, nas concentrações de 5.000; 10.000 e 15.000  $\mu\text{L}^{-1}$ , houve redução parcial do crescimento micelial *in vivo*. Silva (2007) utilizou o óleo essencial de citronela no controle do mal-do-panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc)) em bananeira (*Musa* spp.) e verificou que o mesmo proporcionou proteção de 50% na incidência da doença em relação à testemunha.

Em experimento realizado em campo, Medice (2007) testou diferentes óleos essenciais no controle da ferrugem-asiática da soja e obteve resultados semelhantes aos observados neste trabalho. Segundo a autora, os óleos essenciais de nim, árvore-de-chá, eucalipto e citronela promoveram controles da doença semelhantes ao do fungicida tebuconazole utilizado como padrão, sem diferirem entre si, seguidos do óleo essencial de tomilho, com um controle significativo, porém, inferior aos demais.

Apesar dos óleos essenciais não oferecem um controle total da doença, busca-se um controle parcial da mesma para que, juntamente com outras estratégias, possa ser adotado o manejo integrado de doenças (MID). A promissora utilização desses óleos no controle de doenças se deve ao fato de que a sociedade tem se mostrado cada vez mais preocupada com o ambiente e com a utilização de produtos ecologicamente corretos. No caso específico da cercosporiose do cafeeiro, os óleos essenciais podem ser utilizados, principalmente na produção de mudas em viveiros e em campos de produção de café orgânico, na qual possui um conceito simplificado de que a cafeicultura orgânica é um modelo de agricultura sem o uso de agrotóxicos.

### **3.3 Avaliação do efeito sistêmico em cultivares de cafeeiro tratadas com óleos essenciais**

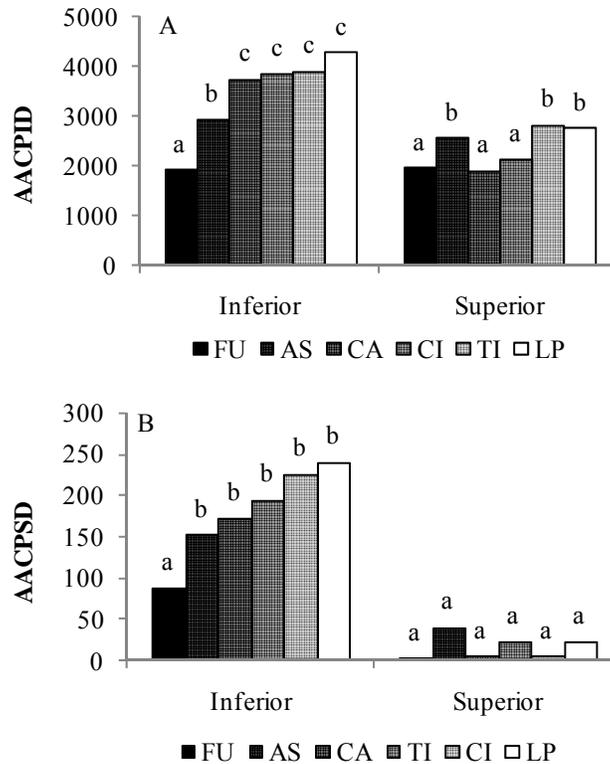
No experimento realizado em casa de vegetação com a cultivar Catucaí 2SL, o fungicida tebuconazole reduziu a AACPID na metade inferior (tratada) das plantas em 51,02%, seguido de acibenzolar-S-metil, com 24,87% (Figura 10A). Acibenzolar-S-metil e os óleos essenciais de canela e citronela reduziram a AACPID na metade superior (não tratada) das plantas em 30,94%, 32,47% e 24,85%, respectivamente, sem diferirem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) (Figura 10A). O fungicida tebuconazole reduziu a AACPSD na metade inferior das plantas em 53,15% e os demais tratamentos não diferiram da

testemunha somente inoculada e do leite em pó. Na metade inferior, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Figura 10B).

O fungicida tebuconazole promoveu a redução da incidência e da severidade da doença na metade inferior das plantas e reduziu somente a incidência da doença na metade superior das plantas. Os óleos essenciais de canela e citronela não promoveram redução significativa da incidência e da severidade da cercosporiose na metade inferior das plantas. No entanto, na metade superior, estes apresentaram controle semelhante ao do fungicida, indicando a presença de substâncias que, por sua vez, protegem os tecidos distantes do local de aplicação.

Resultados semelhantes foram observados por Itako et al. (2008), no qual extratos brutos aquosos de mil-folhas (*Achillea millefolium* L.), cânfora (*Artemisia camphorata* Vill), capim-limão e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) não promoveram proteção local em plantas de tomateiro inoculadas com *A. solani*. No entanto, estes promoveram controle superior ao da testemunha em folhas não tratadas, indicando uma translocação sistêmica dos extratos.

O acibenzolar-S-metil promoveu somente a redução da incidência da doença na metade inferior das plantas, não apresentando um bom efeito protetor, concordando com resultados de outros trabalhos (Cavalcanti et al., 2000; Marchi, 2002; Costa et al., 2007). Ruess et al. (1996) verificaram que o efeito protetor do acibenzolar-S-metil em plantas de trigo foi menos evidente contra os patógenos *Septoria* spp. e *Puccinia* spp.



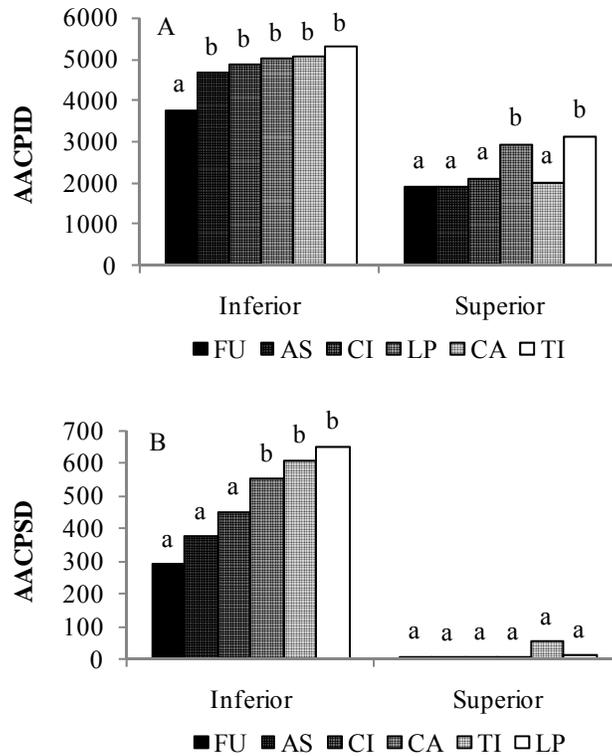
**FIGURA 10.** Área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPID) (A) e severidade da cercosporiose (AACPSD) (B) nas plantas de cafeeiro da cultivar Catucaí 2SL cuja metade inferior foi tratada com tebuconazole (FU) 200  $\mu\text{L L}^{-1}$ , acibenzolar-S-metil (AS) 200  $\text{mg L}^{-1}$ , óleos essenciais de canela (CA) e citronela (CI), na concentração de 1.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ , leite em pó (LP) 10  $\text{g L}^{-1}$  e testemunha (TI). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

No experimento realizado com a cultivar Catuaí IAC 62, somente o fungicida tebuconazole reduziu a AACPID na metade inferior (tratada) das plantas (28,79%) (Figura 11A). Na metade superior (não tratada), os tratamentos tebuconazole, acibenzolar-S-metil e os óleos essenciais de citronela e canela reduziram a AACPID em 38,65%, 38,82%, 32,11% e 35,07%, respectivamente, em relação à testemunha somente inoculada. Em relação à severidade da cercosporiose na metade inferior das plantas, o fungicida tebuconazole, acibenzolar-S-metil e o óleo essencial de citronela diferiram da testemunha somente inoculada, promovendo reduções de 51,15%, 38,45% e 25,94% na AACPSD (Figura 11B). Na metade superior não houve diferença significativa da AACPSD entre os tratamentos.

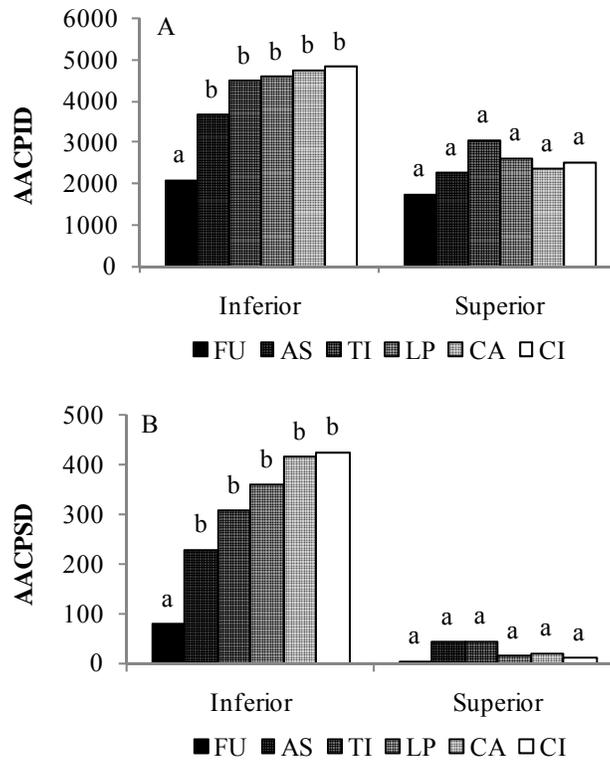
Os resultados apresentados neste experimento são similares aos apresentados no experimento anterior, no entanto, o acibenzolar-S-metil não reduziu de forma significativa a AACPID na metade inferior das plantas e, juntamente com o óleo de citronela, reduziu a AACPSD na metade inferior das mesmas.

Bonaldo et al. (2004), utilizando extratos aquosos de eucalipto em plantas de pepino contra *Colletotrichum lagenarium* (Pass.) Ells & Halst, agente causal da antracnose, verificaram que o mesmo, além de apresentar atividade antifúngica direta, promoveu uma indução local de resistência.

Em relação à cultivar Mundo Novo 379/19, somente foram observadas diferenças significativas na AACPID e na AACPSD da cercosporiose na metade inferior (tratada) das plantas, onde o fungicida tebuconazole promoveu reduções de 53,30% e 74,45%, respectivamente, em relação à testemunha (Figura 12A e B). Os óleos essenciais de canela, citronela e acibenzolar-S-metil não promoveram reduções significativas da incidência e da severidade da cercosporiose, em ambas as metades das plantas.



**FIGURA 11.** Área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPID) (A) e severidade da cercosporiose (AACPSD) (B) nas plantas de café da cultivar Catuaí IAC 62 cuja metade inferior foi tratada com tebuconazole (FU) 200  $\mu\text{L L}^{-1}$ , acibenzolar-S-metil (AS) 200  $\text{mg L}^{-1}$ , óleos essenciais de citronela (CI) e canela (CA) na concentração de 1.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ , leite em pó (LP) 10  $\text{g L}^{-1}$  e testemunha (TI). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).



**FIGURA 12.** Área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPID) (A) e severidade da cercosporiose (AACPSD) (B) nas plantas de cafeeiro da cultivar Mundo Novo 379/19 cuja metade inferior foi tratada com tebuconazole (FU) 200  $\mu\text{L L}^{-1}$ , acibenzolar-S-metil (AS) 200  $\text{mg L}^{-1}$ , óleos essenciais de citronela (CI) e canela (CA), na concentração de 1.000  $\mu\text{L L}^{-1}$ , leite em pó (LP) 10  $\text{g L}^{-1}$  e testemunha (TI). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

A diferença nos resultados observados entre as cultivares Catucaí 2SL, Catucaí IAC 62 e Mundo Novo pode ser explicada com base na capacidade e na magnitude das plantas em expressar genes de defesa, que alteram o estado de susceptibilidade para resistência, decorrido em um intervalo de tempo após o contato com o agente indutor. Este fenômeno, conhecido por resistência sistêmica induzida (RSI), pode ser ativado por vários agentes bióticos e abióticos (Kúc, 1995; Sticher et al., 1997). Tomando-se como base o experimento anterior realizado com as três cultivares, em que foi observada uma menor incidência da cercosporiose na cultivar Catucaí 2SL, postulando-se que esta possua maior capacidade ou velocidade em expressar genes relacionados à defesa, quando tratada com acibenzolar-S-metil e com os óleos essenciais de canela e citronela.

A proteção sistêmica pode ter ocorrido, em relação aos óleos essenciais de canela e citronela, devido à presença de substâncias que protegem tecidos distantes do local de aplicação dos óleos. É possível que tanto os compostos naturais (óleos essenciais) como os sintéticos (acibenzolar-S-metil), que reduziram eficientemente a incidência da cercosporiose, contenham substâncias que são mobilizadas para tecidos distantes, protegendo as folhas superiores, as quais foram inoculadas sete dias após a aplicação (Costa et al., 2007).

No que se refere à proteção sistêmica das plantas, deve-se separar o efeito fungitóxico das substâncias presentes nos óleos estudados da capacidade de servirem como indutores de resistência, ou seja, de atuarem em rotas metabólicas de defesa, porém, é bem possível que esses dois efeitos tenham ocorrido de maneira sinérgica.

#### **3.4 Estudo da germinação e do desenvolvimento micelial *in vivo***

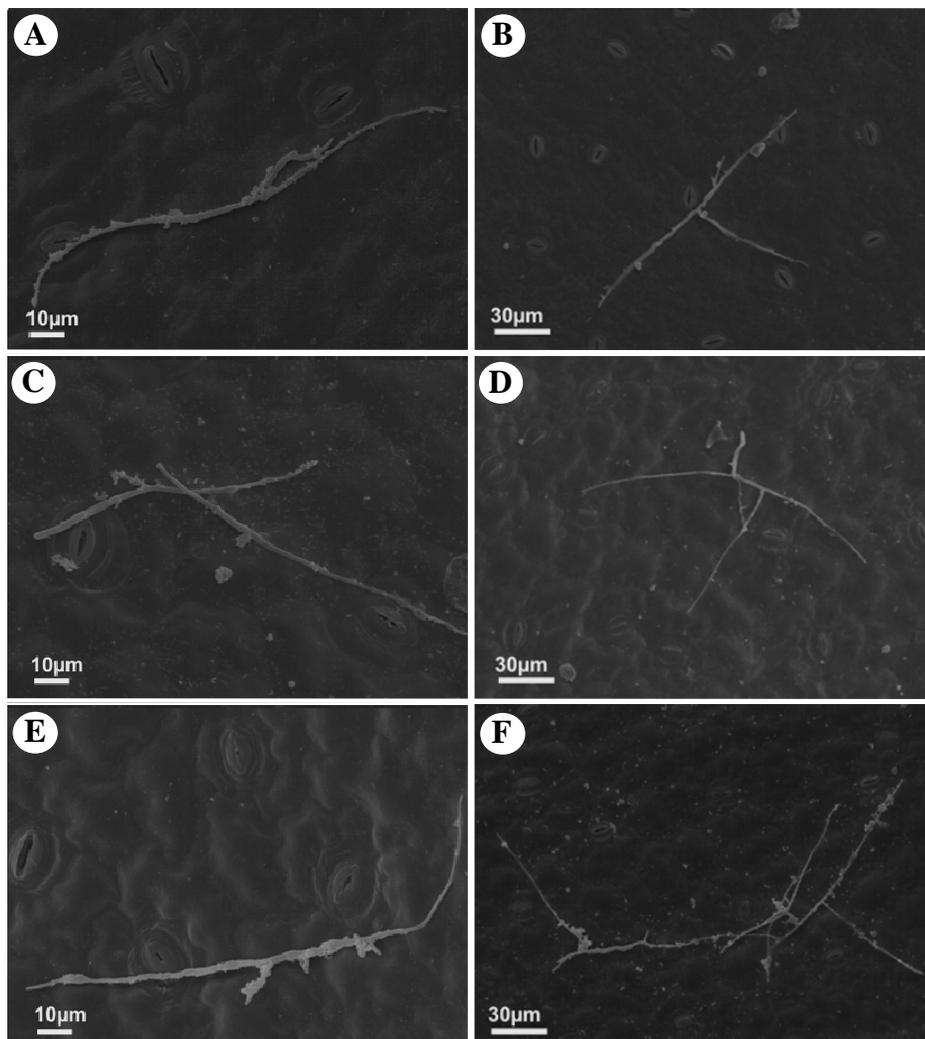
Em todas as cultivares testadas, observou-se que os conídios de *C. coffeicola* iniciaram a sua germinação aproximadamente quatro horas após inoculação, porém, diferenças foram visualizadas oito horas após a mesma.

Nas observações realizadas em folhas testemunhas da cultivar Catucaí 2SL, às oito horas após inoculação, verificou-se que os conídios de *C. coffeicola* já se apresentavam germinados (Figura 13C) e com pequeno desenvolvimento micelial (Figura 13F), enquanto que, nas folhas tratadas com óleos essenciais de canela e citronela, estes se apresentavam pouco germinados (Figura 13A e C) e com poucas ramificações laterais (Figura 13B e D).

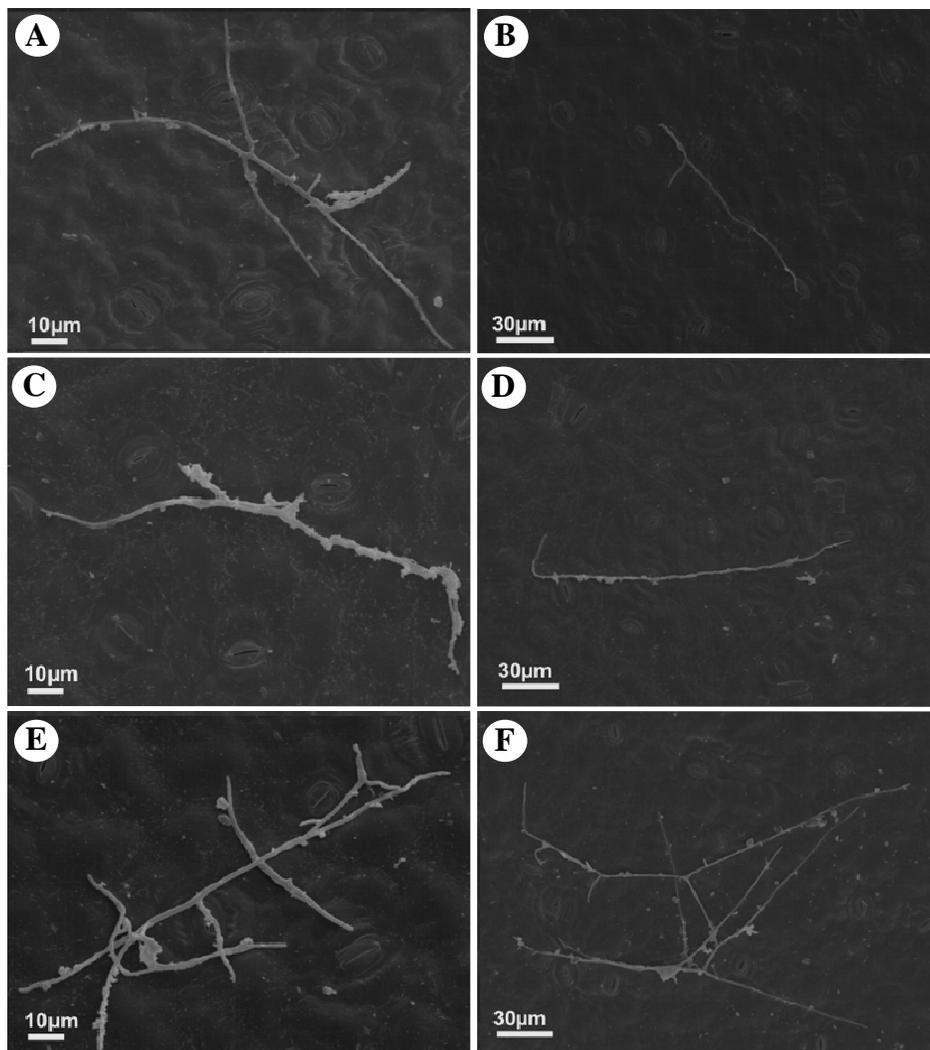
Em relação às observações realizadas em folhas testemunhas da cultivar Catucaí IAC 62, verificou-se que, oito horas após a inoculação, os conídios apresentavam-se germinados, com muitas ramificações laterais (Figura 14C). Já nas folhas tratadas com os óleos essenciais de canela e citronela estes se apresentavam pouco germinados e, em alguns casos, com extravasamento celular (Figura 14A e C).

Diferenças maiores puderam ser observadas nas folhas testemunhas 16 horas após a inoculação, quando foi detectado grande desenvolvimento micelial sobre a superfície foliar (Figura 14F). Já nas folhas tratadas com os óleos essenciais ocorreu desenvolvimento micelial (Figura 14B e D).

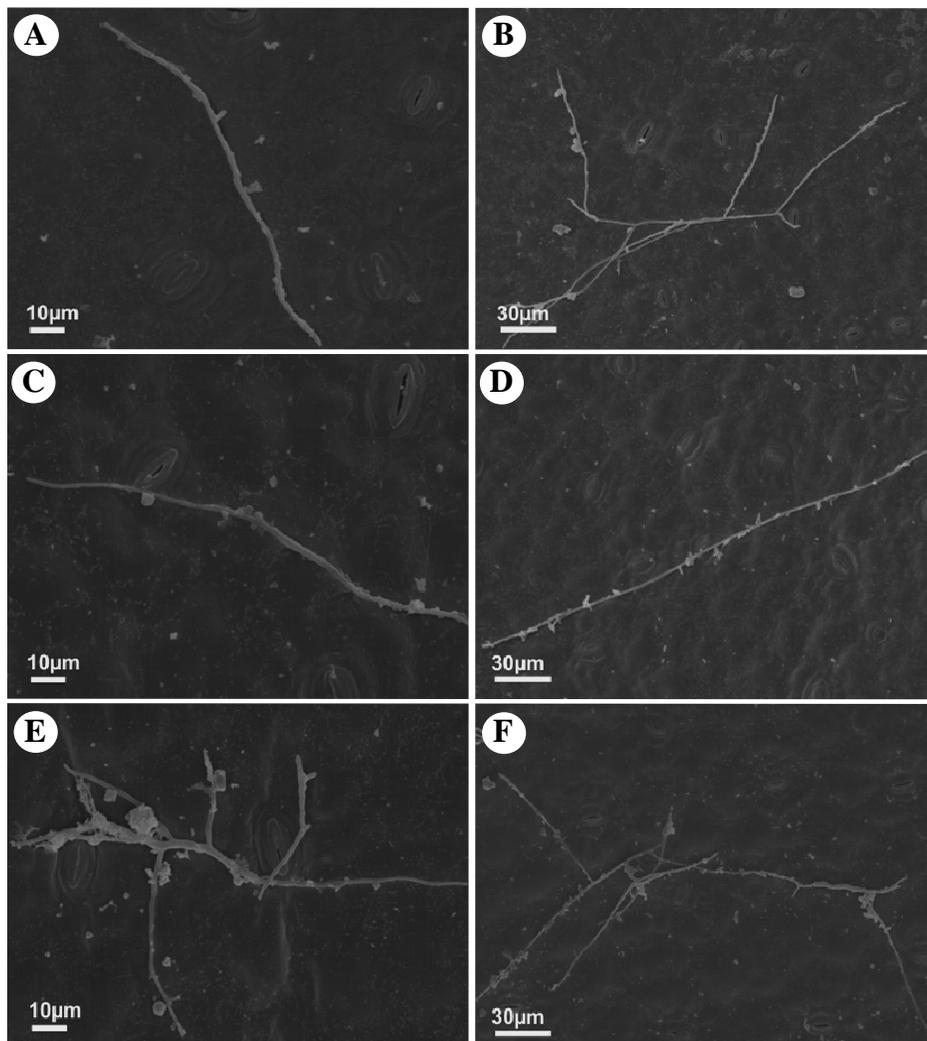
Nas folhas de cafeeiro da cultivar Mundo Novo 379/19, foram observados resultados semelhantes aos apresentados nas demais cultivares. Os óleos reduziram a germinação dos conídios de *C. coffeicola* e, em alguns casos, promoveram extravasamento celular dos conídios, às oito horas após a inoculação, em relação à testemunha (Figura 15A, C e E), além de reduzirem o desenvolvimento das hifas (Figura 15B, D e F).



**FIGURA 13.** Eletromicrografia de varredura de folhas de cafeeiro da cultivar Catucaí 2SL inoculada com *Cercospora coffeicola* às 8 (A, C e E) e às 16 (B, D e F) horas após inoculação. Plantas tratadas com óleos essenciais de canela  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$  (A e B) e citronela  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$  (C e D). Conídios na fase inicial de germinação (C e D) e redução do desenvolvimento micelial (B e D). Testemunha (água destilada) em processo avançado de germinação (E) e desenvolvimento micelial (F).



**FIGURA 14.** Eletromicrografia de varredura de folhas de café da cultivar Catuaí IAC 62 inoculadas com *Cercospora coffeicola* às 8 (A, C e E) e às 16 (B, D e F) horas após inoculação. Plantas tratadas com óleos essenciais de canela  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$  (A e B) e citronela  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$  (C e D). Conídios na fase inicial de germinação (C e D) e pequeno desenvolvimento micelial (B e D). Testemunha (água destilada) em processo avançado de germinação (E) e desenvolvimento micelial (F).



**FIGURA 15.** Eletromicrografia de varredura de folhas de cafeeiro da cultivar Mundo Novo 379/19 inoculadas com *Cercospora coffeicola*, às 8 (A, C e E) e às 16 (B, D e F) horas após inoculação. Plantas tratadas com óleo essencial de canela  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$  (A e B) e citronela  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$  (C e D), apresentando inibição do processo de germinação de conídios (A e C) e redução do desenvolvimento micelial (B e D). Testemunha (água destilada) em processo avançado de germinação (E) e desenvolvimento micelial (F).

Estes resultados corroboram os apresentados no experimento de germinação conídios, em que os óleos de canela e citronela inibiram totalmente a germinação dos conídios a partir da concentração de  $1.000 \mu\text{L L}^{-1}$ .

Resultados semelhantes foram observados por outros autores em outros patossistemas, utilizando a microscopia eletrônica de varredura. Medice et al. (2007) trataram folhas de soja com óleo essencial de tomilho  $3.000 \mu\text{L L}^{-1}$  e inocularam-nas com urediniósporos de *P. pachyrhizi* sete dias depois. Pelas observações, os autores relataram redução do tamanho das urédias em relação à testemunha e número reduzido de urediniósporos do patógeno, os quais também se apresentavam murchos, o que os torna inviáveis. Pereira et al. (2008) também verificaram tal efeito em plantas de cafeeiro tratadas com o óleo essencial de tomilho e inoculadas com *C. coffeicola*.

Segundo Amaral & Bara (2005), os óleos agem possivelmente na parede celular do fungo, provocando o extravasamento do conteúdo celular. Tal fato foi comprovado posteriormente por Rasooli et al. (2006), por meio da microscopia eletrônica de transmissão, em que os óleos essenciais de *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas e *T. x-porlock* provocaram danos severos às paredes, membranas e organelas celulares dos esporos de *A. niger*. Segundo os autores, a exposição do micélio aos óleos essenciais de *T.s eriocalyx* e *T. x-porlock* provocou alterações morfológicas nas hifas, ruptura da membrana plasmática e destruição mitocondrial.

Sugere-se, em trabalhos futuros, comprovar o efeito dos óleos essenciais como indutores de resistência, por meio da determinação da atividade de enzimas relacionadas à patogênese, além de elucidar como e quais compostos afetam o patógeno e o metabolismo da planta hospedeira. Os resultados desse trabalho mostraram que alguns óleos atuam direta e ou indiretamente no processo infeccioso de *C. coffeicola* em cafeeiro.

## 4 CONCLUSÕES

Os óleos essenciais de canela, citronela, capim-limão, cravo-da-índia, árvore-de-chá, tomilho, eucalipto e nim reduzem a germinação dos conídios de *Cercospora coffeicola*.

Os óleos essenciais de cravo-da-índia, canela, nim, tomilho e capim-limão inibem o crescimento micelial de *C. coffeicola*.

Os óleos essenciais promovem controle parcial da cercosporiose do cafeeiro em casa de vegetação, sendo os óleos de canela e citronela os mais promissores para o controle da doença nas cultivares de Catucaí 2SL, Catuaí IAC 62 e Mundo Novo 379/19.

Os óleos essenciais de canela e citronela promovem proteção sistêmica em plantas de cafeeiro das cultivares Catucaí 2SL e Catuaí IAC 62 contra *C. coffeicola*.

Os óleos essenciais de canela e citronela reduzem a germinação e o desenvolvimento micelial de *C. coffeicola in vivo*, promovendo, em alguns casos, o extravasamento do conteúdo celular.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C.L.M. **Controle de *Alternaria solani* em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com óleos essenciais**. 2006. 71 p. Tese (Doutorado em Agronomia - Horticultura) – Faculdade Paulista de Ciências Agrárias, Botucatu.

ALMADA, C.B.J.; LIMA, C.Z.R.L.Z.; POSSAMAI, C.J. Controle alternativo do míldio (*Pseudoperonospora cubensis* Berk & Curt) em pepino (*Cucumis sativus* L.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 294, ago. 1998. Suplemento.

ALVES, E.S.S.B.; PUPO, M.S.; MARQUES, S.S.; VILCHES, T.T.B.; SANTOS, R.B.; VENTURA, J.A.; FERNANDO, P.M.A. Avaliação de óleos essenciais na inibição do crescimento de fungos de fruteiras tropicais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 343, ago. 2003. Suplemento.

AMARAL, M.F.Z.J.; BARA, M.T.F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 2, p. 5-8, dez./jun. 2005. Disponível em: <[http://www.farmacia.ufg.br/revista/\\_pdf/vol2\\_2\\_supl/resumos/ref\\_v2\\_2\\_supl-2005\\_p5-8%20Amaral.pdf](http://www.farmacia.ufg.br/revista/_pdf/vol2_2_supl/resumos/ref_v2_2_supl-2005_p5-8%20Amaral.pdf)>. Acesso em: 10 dez. 2008.

BARD, M.; ALBRECHT, M.R.; GUPTA, N.; GUYNN, C.J.; STILLWELL, W. Geraniol interferes with membrane functions in strains of *Candida* and *Saccharomyces*. **Lipids**. Champaign, v. 23, n. 6, p. 534–538, June 1988.

BONALDO, S.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; TESSMANN, D.J.; SCAPIM, C.A. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 128-134, mar./abr. 2004.

BRASIL PORTRAIT. **Óleos essenciais**. Disponível em: <<http://www.brasilportrait.com.br>> Acesso em: 24 maio 2008.

CACCIONI, D.R.L.; GUIZZARDI, M. Inhibition of germination and growth of fruit and vegetable postharvest pathogenic fungi by essential oil components. **Journal of Essential Oil Research**, Camberra, v. 6, n. 2, p. 173-179, mar./abr. 1994.

CAVALCANTI, L.S. **Indução de resistência a *Verticillium dahliae* Kleb. em plântulas de cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.) cv. Theobahia, por benzotiadiazole (BTH).** 2000. 82 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CHARLES, D.J.; SIMON, J.E. Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil. **Journal of American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v. 115, n. 3, p. 458-462, maio 1990.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira café safra 2008, segunda estimativa, maio/2008.** Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/2\\_levantamento\\_2008.pdf](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/2_levantamento_2008.pdf)> Acesso em: 18 jun. 2008.

COSTA, M.J.N.; ZAMBOLIM, L.; RODRIGUES, F.A. Avaliação de produtos alternativos no controle da ferrugem do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 150-155. mar./abr. 2007.

COX, S. D.; MANN, C.M.; MARKHAM, J.L.; BELL, H.C.; GUSTAFSON, J.E.; WARMINGTON, J.R.; WYLLIE, S.G. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **Journal Applied Microbiology**, Oxford, v. 88, n. 1, p. 170-175, Jan. 2000.

FENG, W.; ZHENG, X. Essential oils to control *Alternaria alternata* *in vitro* and *in vivo*. **Food Control**, Reading, v. 18, n. 9, p. 1126-1130, Sept. 2007.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: Universidade Federal de São Carlos, 2000. p. 255-258.

GUIRALDO, N.; AMBROSANO, E.J.; MENDES, P.C.D.; ROSSI, F.; AVÉRALO, R.A. Medidas de controle de doenças em sistema agroecológicos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, n. 1, p. 153-156, jan./mar. 2004.

GUZZO, S. D.; HAKAWA, R.; LUCON C. M. M.; TSAI, S. M. Resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e indução local e sistêmica de quitinases e  $\beta$ -1,3-glucanases por acibenzolar-S-metil. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 30, n. 3, p. 376-381, jul./set. 2004.

ITAKO, A.T.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; TOLENTINO JÚNIOR, J.B.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Atividade antifúngica e proteção do tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 3, p. 241-244, maio/jun. 2008.

KÚC, J. Systemic induced resistance. In: WALTERS, D.R.; SCHOLLES, J.D.; BRYSON, R.J.; PAUL, N.D.; MCROBERTS, N. **Aspects of applied biology: physiological responses of plants to pathogens**. Dundee: Association of Applied Biologists, 1995. v. 42, p. 235-242.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Jan. 1962.

MARCHI, C.E.; BORGES, M.F.; RESENDE, M.L.V. Proteção induzida por benzotriazolone contra a ferrugem-alaranjada (*Hemileia vastatrix*) em cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 5, p. 1103-1106, set./out. 2002.

MEDICE, R. **Produtos alternativos no manejo da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) da soja**. 2007. 102 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R.T.; JÚNIOR, M.R.G.; LOPES, E.A.G.L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n. 1, p.83-90, jan./fev. 2007.

MONTES-BELMONT, R.; CARVAJAL, M. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 61, n. 5, p. 616–619, maio 1998.

OLIVEIRA, C. A.; POZZA, E.A.; OLIVEIRA, V. B.; SANTOS, E. C.; CHAVES, Z. M. Escala diagramática para avaliação da severidade de cercosporiose em folhas de cafeeiro. In: SIMPÓSIO DOS CAFÉS DO BRASIL, 3., 2001, Vitória. **Resumos...** Vitória: Embrapa Café, 2001. p. 80.

PATRÍCIO, F. R. A.; ALMEIDA, I. M. G.; BARROS, B. C.; SANTOS, A. S.; FRARE, P. M. Effectiveness of acibenzolar-S-methyl, fungicides and antibiotics for the control of brown eye spot, bacterial blight, brown leaf spot and coffee rust in coffee. **Annual Applied Biology**, Warks, v. 152, n. 1, p. 29–39, 2008.

PEREIRA, R.B.; ALVES, E.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; RESENDE, M.L.V.; LUCAS, G.C.; FERREIRA, J.B. Extrato de casca de café, óleo essencial de tomilho e acibenzolar-S-metil no manejo da cercosporiose-do-cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 10, p. 1287-1296, out. 2008.

PINTO, J.E.B.P.; LAMEIRA, O.L.; SANTIAGO, E.J.A. de; SILVA, F.G. **Cultivo de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 222 p.

PIPER, P.; CALDERON, C.O.; HATZIXANTHIS, K.; MOLLAPOUR, M. Weak acid adaptation: the stress response that confers resistance to organic acid food preservatives. **Microbiology**, Washington, v. 147, n. 10, p. 2635-2642, Oct. 2001.

PONCE, A.G.; FRITZ, R.; VALLE, C.; ROURA, S.I. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. **Lebensmittel-Wissenschaft-Technologie**, London, v. 36, n. 7, p. 679–684, July 2003.

POZZA, A. A. A.; MARTINEZ, H. E. P.; POZZA, E. A.; CAIXETA, S. L.; ZAMBOLIM, L. Intensidade da mancha de olho pardo em mudas de cafeeiro em função de doses de N e K em solução nutritiva. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 29-33, jan./mar. 2000.

POZZA, E.A. A importância das doenças foliares do cafeeiro, In: NÚCLEO DE ESTUDOS EM FITOPATOLOGIA. (Org.). **Manejo fitossanitário da cultura do cafeeiro**. Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2008. v. 1, p. 81-94.

RANASINGHE, L.; JAYAWARDENA, B.; ABEYWICKRAMA, K. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. **Letters in Applied Microbiology**, v. 35, n. 3, p. 208-211, Mar. 2002.

RASOOLI, I.; REZAEI, M.B.; ALLAMEH, A. Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-porlock*. **Food Control**, Reading, v. 17, p. 359-364, 2006.

RIBEIRO JÚNIOR, P.M. **Fosfitos na proteção e na indução de resistência do cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola***. 2008. 105 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ, V.V.H. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação.** Viçosa: CFSEMG, 1999. 359 p.

RIOS, S.S.; CANUTO, R.S.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; SOUSA, L.T.; SANTOS, L.O.; SILVA, J.J.C.; NORONHA, R.A.; PEREIRA, M.R.; DIAS, M.S.C. Inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum acutatum* Sî. Mmonds, agente causal da flor preta do morangueiro (*Fragaria x ananassa* Dulch) com óleo de citronela (*Cimbopogon* sp.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 360, ago. 2003. Suplemento.

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

RUESS, W.; MÜLLER, K.; KNAUF-BEITER, G.; KUNZ, W.; STAUB, T. Plant activator CGA 245704: an innovative approach for disease control in cereals and tobacco. In: BRIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCE-PEST AND DISEASES, 1996. p. 9.

SALGADO, A.P.S.P.; CARDOSO, M.G.; SOUZA, P.E.; ABREU, C.M.P.; PINTO, J.E.B.P. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 249-254, mar./abr. 2003.

SANTOS, M.P.; ALVES, E.S.S.; SANTOS, R.B.; VENTURA, J.A.; FERNANDES, P.M.B. Eficiência *in vitro* de óleos essenciais no controle de *Fusarium subglutinans* f. sp. *anas* agente etiológico da fusariose do abacaxizeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 335, ago. 2001. Suplemento.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Potencial de extrato e óleos essenciais de vegetais como indutores de resistência - plantas medicinais. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS CONTRA FITOPATÓGENOS, 1., 2003, São Pedro. **Anais...** São Pedro: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/USP, 2003.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Org.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005, v. 1, p. 125-138.

SHANER, G.; FINNEY, R.F. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, Sant Paul, v.67, n. 8, p.1051-1056, ago. 1977.

SILVA, J.C. **Uso de óleos essenciais, extratos vegetais e indutores de resistência no controle alternativo do mal-do-Panamá da bananeira**. 2007. 65 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Alagoas, Rio Largo.

SOUZA, S.M.C.; PEREIRA, M.C.; ANGÉLICO, C.L.; PIMENTA, C.J. Avaliação de óleos essenciais de condimentos sobre o desenvolvimento micelial de fungos associados a produtos de panificação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 3, p. 685-690, maio/jun. 2004.

STICHER, L.; MAUCH MANI, B.; METRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 35, p. 235-270, 1997.

WILSON, C.L.; SOLAR, J.M.; EL GHAOUTH, A.; WISNIEWFKI, M.E. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 81, n. 2, p. 204-210, Feb. 1997.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R. Estratégias múltiplas no manejo integrado de doenças do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 137-153, ago. 2003. Suplemento.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, E. M. Doenças do cafeeiro (*C. arabica* e *C. canephora* ), In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p.165-180.

ZAMBONELLI, A.; D'AURELIO, A.Z.; BIANCHI, A.; ALBASIN, A. Effects of essential oils on phytopathogenic fungi *in vitro*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 144, n. 3, p. 491-494, mar. 1996.

ZAMBONELLI, A.; D'AURELIO, A.Z.; SEVERI, A.; BENVENUTI, S.;  
MAGGI, L.; BIANCHI, A. Chemical composition and fungicidal activity of  
commercial essential oils of *Thymus vulgaris* L. **Journal of Essential Oil  
Research**, Jeor, v. 16, n. 1, p. 69-74, Jan./Feb. 2004.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A sociedade tem se mostrado cada vez mais preocupada com o ambiente e com a utilização de produtos ecologicamente corretos, porém, de baixo custo e com eficácia comprovada. Os óleos essenciais provenientes da flora medicinal representam um método alternativo no controle de doenças de plantas, uma vez que estes, além de apresentarem em sua composição substâncias com elevado poder antimicrobiano, podem induzir a síntese de fitoalexinas e de outros compostos de defesa.

A partir dos experimentos conduzidos neste trabalho, verificou-se que os óleos essenciais podem ser utilizados na proteção do cafeeiro contra a ferrugem e a cercosporiose, pois os mesmos reduziram a incidência e a severidade das doenças, quando aplicados sete dias antecedentes à inoculação e 21 dias após a mesma. Nas observações realizadas em microscopia eletrônica de varredura, observou-se que os óleos essenciais de canela e citronela promoveram a redução da germinação e do desenvolvimento micelial de *Cercospora coffeicola*, além do extravasamento do citoplasma celular dos conídios.

O óleo essencial de citronela é o mais indicado para o controle da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro, pois apresenta eficácia significativa para o controle de ambas as doenças. Além disso, a planta de citronela apresenta alto rendimento de extração do óleo essencial e é facilmente cultivada. É importante salientar que os óleos podem ser adquiridos ou, mesmo, produzidos pelos agricultores na própria propriedade, portanto, são considerados como produtos alternativos e de fácil utilização.

Como complemento a este trabalho, é necessária a realização de novos experimentos, a fim de se verificar quais os mecanismos de ação dos óleos essenciais sobre os patógenos e seus efeitos sobre o cafeeiro. Sugerem-se

realizar experimentos para elucidar quais os possíveis mecanismos de defesa do cafeeiro que podem estar sendo ativados pela aplicação dos óleos e a duração da mesma; definir doses e intervalos de aplicação, visando um controle da doença por um período mais prolongado e de maneira mais eficiente e, ainda, verificar a possibilidade de seu uso em mistura com micronutrientes, indutores de resistência, fungicidas e outros óleos.