

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS

GEORGIA DE SOUZA PEIXINHO

CARACTERIZAÇÃO DE *Colletotrichum* spp. ASSOCIADOS À ANTRACNOSE EM FLORES TROPICAIS NO NORDESTE DO BRASIL E USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE (*Colletotrichum tropicale*) EM BASTÃO DO IMPERADOR

RIO LARGO – AL

2022

GEORGIA DE SOUZA PEIXINHO

CARACTERIZAÇÃO DE *Colletotrichum* spp. ASSOCIADOS À ANTRACNOSE EM FLORES TROPICAIS NO NORDESTE DO BRASIL E USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE (*Colletotrichum tropicale*) EM BASTÃO DO IMPERADOR

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas como requisito para obtenção do grau de Doutor em Proteção de Plantas.

Orientadora: Profa. Dra. Edna Peixoto da Rocha Amorim

Coorientadora: Profa. Iraildes Pereira Assunção.

RIO LARGO – AL

2022

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias
Bibliotecária Responsável: Myrtes Vieira do Nascimento

P379c Peixinho, Georgia de Souza
Caracterização de *Colletotrichum spp.* associados à antracnose em flores tropicais no Nordeste do Brasil e uso de óleos essenciais no controle da antracnose (*Colletotrichum tropicale*) em bastão do imperador. / Georgia de Souza Peixinho – 2022.
125 f.; il.

Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) - Universidade Federal de Alagoas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias. Rio Largo, 2022.

Orientação: Prof^a. Dr^a. Edna Peixoto da Rocha
Coorientação: Prof^a. Dr^a. Iraíldes Pereira Assunção

Inclui bibliografia

1. Doenças fungicas. 2. Pós-colheita. 3. Inflorescência.
I. Título.

CDU: 632

GEORGIA DE SOUZA PEIXINHO

CARACTERIZAÇÃO DE *Colletotrichum* spp. ASSOCIADOS À ANTRACNOSE EM FLORES TROPICAIS NO NORDESTE DO BRASIL E USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE (*Colletotrichum tropicale*) EM BASTÃO DO IMPERADOR

Tese apresentada ao curso de Pós-graduação em Proteção de Plantas, do Centro de Ciências agrária da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

Documento assinado digitalmente

 EDNA PEIXOTO DA ROCHA AMORIM
Data: 29/08/2022 14:18:26-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dra. Edna Peixoto da Rocha Amorim
Universidade Federal de Alagoas (Orientadora)

Comissão Examinadora

Documento assinado digitalmente

 JULIANA PAIVA CARNAUBA
Data: 01/09/2022 18:09:04-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Profa, Dra Juliana Paiva Carnaúba
Intituto Federal de Educação

Documento assinado digitalmente

 SARAH JACQUELINE CAVALCANTI DA SILVA
Data: 19/09/2022 06:13:19-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Profa. Dra Sarah Jaqueline Cavalcante
Universidade Federal de Alagoas

Documento assinado digitalmente

 JAQUELINE FIGUEREDO DE OLIVEIRA COST.
Data: 19/09/2022 19:49:53-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dra. Jaqueline Figueredo de Oliveira Costa
Universidade Federal de Alagoas

AGRADECIMENTOS

À Deus, que me sustentou, levantou, protegeu e direcionou desde o primeiro até o último momento, não me deixando esquecer que tudo eu podia, nELE que me fortaleço;

À minha mãe, Maria da Penha de Souza, por não me permitir desistir de nenhum sonho, sonhar junto comigo e ser meu porto seguro;

Ao meu pai, Jorge Rodrigues Peixinho, por todo incentivo, apoio e conselhos sempre.

Ao meu irmão, George de Souza Peixinho, meu “herói sem capa”, o anjo que Deus colocou na vida para sempre lembrar do amor DELE pela minha vida;

Ao meu irmão, Dannicléo de Souza Teles, por todo companheirismo, todo incentivo durante toda a trajetória;

À toda minha família por sempre me incentivarem e acreditarem em mim.

À minha orientadora, EDNA PEIXOTO DA ROCHA AMORIM, palavras não são suficientes para expressar minha tamanha gratidão, mais que uma orientadora, uma amiga, confidente, minha MÃE DA PESQUISA, que muitas vezes acreditou em mim, quando nem eu mesma acreditava;

À Jaqueline Figueredo Oliveira e Jackeline Laurentino, por tamanha ajuda e amizade, por estarem sempre presentes, me ensinando e me mostrando que ainda vale a pena tentar, essa tese também é de vocês;

À todos os meus colegas de turma, laboratório, viagens, coorientados, em especial à Thiago Pimenta, Caroline Moraes, Yolanda Melo, Mayara Lima e Lívia Chaves, que tem me mostrado o verdadeiro valor de uma amizade e amor em Cristo Jesus, por todas as orações em um dos momentos mais difíceis da minha vida, minha eterna gratidão.

Aos meus Pastores, líderes e amigos da Igreja, que desde sempre estiveram junto comigo, orando, intercedendo e me dando todo suporte que eu tanto precisei.

**“Esperei com paciência no SENHOR, e ele se inclinou para mim, e ouviu o
meu clamor.
Tirou-me dum lago horrível, dum charco de lodo, pôs os meus pés sobre uma
rocha, firmou os meus passos.
E pôs um novo cântico na minha boca, um hino ao nosso Deus; muitos o verão, e
temerão, e confiarão no Senhor.
Bem-aventurado o homem que põe no Senhor a sua confiança, e que não respeita
os soberbos nem os que se desviam para a mentira.”**

[Salmos 40:1-4](#)

Ao meu irmão,

George de Souza Peixinho

“VOCÊ É A MINHA PESSOA, VOCÊ SEMPRE SERÁ A MINHA PESSOA”

Dedico

RESUMO GERAL

Os objetivos deste estudo foram identificar espécies do gênero *Colletotrichum*, através da caracterização molecular e morfocultural associadas a diferentes espécies de flores tropicais (Alpinia, Antúrio e Bastão do Imperador), avaliar a patogenicidade cruzada dessas espécies de *Colletotrichum* identificadas e testar diferentes óleos essenciais no controle da antracnose em bastão do imperador. Para a caracterização molecular, o DNA genômico dos isolados foram analisados pelo protocolo CTAB 2% com modificações. A sequência parcial do gene gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (*GAPDH*) foi amplificada usando os primers GDF/GDR, para uma identificação preliminar dos isolados e avaliação da diversidade haplotípica das espécies. Posteriormente, representantes de cada espécie, baseado nos haplótipos, foram amplificados com outro gene, β -tubulina (*TUB2*), Chitina synthase (*CHS-1*), Mating type locus MAT1-2-1 (APN2/MAT-IGS) e a região ITS-rDNA. e a região ITS-rDNA. A caracterização cultural consistiu na obtenção do crescimento micelial das colônias, através de mensuração diária em duas direções diametricamente opostas e observação da coloração das colônias avaliadas após sete dias. A caracterização morfológica foi baseada na forma e tamanho de 50 conídios e apressórios. As medidas de comprimento e largura foram obtidas através de imagens capturadas por câmera digital acoplada ao microscópio óptico com aumento de 400x, através do software Cellsenses Standard. Para avaliar o efeito de óleos essenciais, foi determinada a inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum tropicale* em placas de Petri contendo o meio BDA suplementado com os seguintes produtos químicos: mancozeb (240g); tiofanato metílico (45 g.L⁻¹) e óleos essenciais: capim-limão, citronela e menta (0,75; 1,5; 2,25 e 3%) e ADE para todas as testemunhas. Os tratamentos selecionados *in vitro* foram utilizados no experimento *in vivo*, aplicados 72 e 48 horas antes da inoculação do patógeno (indutor de resistência) e 72 e 48 horas após a inoculação (curativo), para o primeiro experimento. No segundo experimento foram utilizados os óleos de citronela e menta (0,25; 0,5; 0,75 e 1%) e tiofanato metílico (45 g.L⁻¹), 72 e 48 horas, separadamente, antes da inoculação (indutor de resistência) e 72 e 48 horas após a inoculação (curativo). As inflorescências foram submetidas à inoculação com o patógeno, através do método de pulverização (10⁶ con/mL). Após 4 dias, foi determinado o índice e severidade e incidência da doença utilizando escala de notas. As espécies *C. orchidearum*, *C. siamense*, *C. tropicale*, *C. fructicola* e *C. theobromicola* estão associadas à antracnose em flores de bastão do imperador, antúrio e alpinia no Nordeste brasileiro. Os óleos essenciais mostraram eficiência na redução da antracnose, causada por *C. tropicale* em Bastão do imperador.

Palavras - chave: flor de corte, inflorescência, pós-colheita, doença fúngica.

ABSTRACT

The objectives of this study were to identify species of the genus *Colletotrichum*, through molecular and morphocultural characterization associated with different species of tropical flowers, to evaluate the cross-pathogenicity of these identified *Colletotrichum* species and to test different essential oils in the control of the disease. For molecular characterization, the genomic DNA of the isolates were analyzed by the CTAB 2% protocol with modifications. The partial sequence of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) gene was amplified using the GDF/GDR primers, for a preliminary identification of the isolates and evaluation of the haplotypic diversity of the species. Subsequently, representatives of each species, based on haplotypes, were amplified with another gene, β -tubulin (TUB2), Chitin synthase (CHS-1), Mating type locus MAT1-2-1 (APN2/MAT-IGS) and the region ITS-rDNA. and the ITS-rDNA region. The cultural characterization consisted of obtaining the mycelial growth of the colonies, through daily measurement in two diametrically opposite directions and observation of the color of the colonies evaluated after seven days. Morphological characterization was based on the shape and size of 50 conidia and appressoria. Length and width measurements were obtained through images captured by a digital camera attached to an optical microscope with a 400x magnification, using Cellsenses Standard software. Mycelial growth of *Colletotrichum tropicale* was analyzed. in Petri dishes containing PDA medium supplemented with the following chemicals: mancozeb (240g); methyl thiophanate (45 g.L⁻¹) and essential oils: lemongrass, citronella and mint essential oil (0.75; 1.5; 2.25 and 3%) and ADE for all controls. The selected in vitro treatments were used in the in vivo experiment, applied 72 and 48 hours before inoculation of the pathogen (resistance inducer) and 72 and 48 hours after inoculation (dressing), for the first experiment. In the second experiment, citronella and mint oils (0.25; 0.5; 0.75 and 1%) and methyl thiophanate (45 g.L⁻¹) were used, separately, 72 and 48 hours before inoculation (inducing resistance) and 72 and 48 hours after inoculation (dressing). The inflorescences were submitted to inoculation with the pathogen, through the spraying method (106 con./mL). After 4 days, the index and severity and incidence of the disease were determined using a rating scale. The species *C. orchidearum*, *C. siamense*, *C. tropicale*, *C. fructicola* and *C. theobromicola* are associated with anthracnose in flowers of Emperor's Cane, Anthurium and Alpinia in Northeast Brazil. The essential oils showed efficiency in the reduction of anthracnose (*C. tropicale*) in Emperor's Bastion.

Keywords: cut flower, inflorescence, post-harvest, disease fungus.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1:** Teste de Patogenicidade Cruzada dos isolados provenientes de alpínia, antúrio e bastão do Imperador. A: ALCA4 e B: ALAN9, C: BAGU21, D: ALME4, E: ALGU11.p. 74
- Figura 2:** Árvore filogenética multi-locus inferida a partir da análise bayesiana utilizando *GAPDH*, *TUB2* e região ITS para espécies do complexo *Colletotrichum gloeosporioides*. Os valores da probabilidade posterior > 0,4 estão indicados acima dos nós. As culturas ex-tipo são marcadas com um asterisco. Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Colletotrichum boninense*.....p.77
- Figura 3:** Árvore filogenética de Inferência Bayesiana do complexo de espécies *Colletotrichum orchidearum* com base em sequências concatenadas dos genes *GAPDH*, *TUB2* e *CHS-1* e da região ITS. *Colletotrichum boninense* foi utilizado como grupo externo. Os isolados obtidos neste estudo estão destacados em negrito. As culturas tipo estão marcadas com um asterisco. A barra de escala (0,03) representa substituições de nucleotídeos por sítio.....p. 78
- Figura 4:** Características morfofoculturais das espécies de *Colletotrichum*. **A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M** - Aspectos das colônias. **a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l, m** – Conídios e apressorios de *Colletotrichum* spp.p.79

CAPÍTULO II

- Figura 1:** Sintoma de antracnose após a inoculação com *C. tropicale*. (A) e formação de conídios e apressórios característicos do gênero *Colletotrichum* (B). Fonte: Elaborado pelo autorp. 100
- Figura 2:** Efeitos de óleos essenciais e fungicidas, para variável incidência, no controle curativo de *C. tropicale* em hastes de bastão do imperador.....p.102
- Figura 3:** Efeito de óleos essenciais e fungicidas, para variável severidade, no controle curativo de *C. tropicale* em hastes de bastão do imperador.p.103
- Figura 4:** Efeito de óleos essenciais e fungicidas, para a variável incidência, no controle preventivo de *C. tropicale* em hastes de bastão do imperador.....p.103
- Figura 5:** Efeito de óleos essenciais e fungicidas, para variável severidade, no controle preventivo de *C. tropicale* em hastes de bastão do imperador.....p.104

CAPÍTULO III

- Figura 1:** Incidência de antracnose (preventivamente) em hastes de bastão do imperador submetidas à diferentes tratamentos e inoculação após 48horasp.116
- Figura 2:** Incidência de antracnose (preventivamente) em hastes de bastão do imperador submetidas à diferentes tratamentos e inoculação após 72horasp.116
- Figura 3:** Severidade da antracnose (preventivamente) em hastes de bastão do imperador submetidas à diferentes tratamentos e inoculação após 48horasp.117
- Figura 4:** Severidade da antracnose (preventivamente) em hastes de bastão do imperador submetidas à diferentes tratamentos e inoculação após 72horasp.117
- Figura 5:** Incidência de antracnose (curativamente) em hastes de bastão do imperador submetidas à diferentes tratamentos e inoculação após 48 horasp.118

Figura 6: Incidência de antracnose (curativamente) em hastes de bastão do imperador submetidas à diferentes tratamentos e inoculação após 72 horasp.119

Figura 7: Severidade da antracnose (curativamente) em hastes de bastão do imperador submetidas à diferentes tratamentos e inoculação após 48 horasp.120

Figura 8: Severidade da antracnose (curativamente) em hastes de bastão do imperador submetidas à diferentes tratamentos e inoculação após 72 horasp.120

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

- Tabela 1:** Primers utilizados para identificação das espécies do gênero *Colletotrichum*.....p. 70
- Tabela 2:** Espécies de *Colletotrichum* e número de acesso das culturas e do GenBank utilizados para a análise filogenética neste estudo.....p. 73
- Tabela 3:** Isolados e seus respectivos hospedeiros de origem dos Estados do Ceará, Pernambuco e Alagoas.....p.75
- Tabela 4:** Resumo dos dados morfoculturais das espécies de *Colletotrichum*.....p. 79
- Tabela suplementar** Espécies de *Colletotrichum* e número de acesso das culturas e do GenBank utilizados para a análise filogenética neste estudo.....p.89

CAPÍTULO II

- Tabela 1:** Crescimento Micelial de fungo *Colletotrichum* sp. em presença de diferentes concentrações de óleos essenciais e fungicidasp.101

Sumário

INTRODUÇÃO GERAL	17
REVISÃO DE LITERATURA.....	20
RESUMO	20
PRODUÇÃO DE FLORES TROPICAIS	20
CARACTERÍSTICAS DAS ESPÉCIES DE FLORES TROPICAIS CULTIVADAS NO NORDESTE BRASILEIRO	22
O GÊNERO <i>Colletotrichum</i>	23
ANTRACNOSE EM FLORES TROPICAIS.....	26
CONTROLE ALTERNATIVO	28
ÓLEOS ESSENCIAIS.....	32
INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA E A PRODUÇÃO DE ENZIMAS DE DEFESA	34
CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
CAPÍTULO 1: IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Colletotrichum</i> ASSOCIADAS À ANTRACNOSE EM FLORES TROPICAIS, NO NORDESTE BRASILEIRO, ATRAVÉS DA CARACTERIZAÇÃO MORFOCULTURAL E MOLECULAR.....	55
RESUMO	56
1. INTRODUÇÃO.....	57
2. MATERIAL E MÉTODOS	58
2.1 Obtenção dos isolados	58
2.2 Teste de Patogenicidade em diferentes hospedeiros.....	59
2.3 Sequenciamento e análises filogenéticas.....	60
2.4 Caracterização Morfocultural	62
3. RESULTADOS	63
3.1 Obtenção dos isolados e patogenicidade em diferentes hospedeiros.....	63

O aparecimento dos sintomas e o reisolamento do fungo em meio BDA sintético confirmaram a patogenicidade do isolado, de acordo com os postulados de Kock.	67
3.2 Análises filogenéticas	67
3.3 Caracterização Morfocultural	69
4. DISCUSSÃO.....	72
5. CONCLUSÃO	74
REFERÊNCIAS.....	74
ANEXOS	81
Óleos essenciais de <i>Mentha</i> sp., <i>Cymbopogon nardus</i> L. e <i>Cymbopogon citratus</i> no controle da antracnose (<i>Colletotrichum</i> sp.) em bastão do imperador (<i>Etilingera elatior</i>)¹	90
INTRODUÇÃO	93
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	95
RESULTADOS E DISCUSSÃO	97
CONCLUSÃO	106
Referências.....	106
ARTIGO 2.....	112
INTRODUÇÃO	115
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	116
ESULTADOS E DISCUSSÃO	117
CONCLUSÃO	122
Referências.....	123

INTRODUÇÃO GERAL

O setor de flores e plantas ornamentais, no Brasil, vem crescendo ao longo dos anos, tornando-se um dos segmentos do agronegócio que mais cresce na atualidade. O país possui em torno de 8.300 produtores, além dos 60 centros de atacado, dos quais pertencem os 680 atacadistas, distribuídos em cerca de 20 mil comércios de varejo. A área de cultivo é em torno de 15.600 ha, colocando-nos na oitava posição, dentre os maiores produtores mundiais, de plantas ornamentais. Chega a 210 mil postos de trabalho no ramo, dentre os quais 54% são vagas de varejo, 39% das vagas são da produção, 4% destinadas ao atacado e 3% ocupam outras funções (IBRAFLOR, 2020).

O Nordeste brasileiro é conhecido como o principal produtor de plantas ornamentais tropicais, contribuindo para a elevação de empregos para a agricultura familiar, o que tende a favorecer o desenvolvimento social, assim como a economia local (ALMEIDA et al., 2012). Dentre as espécies produzidas no país estão a Alpínia (*Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum), Antúrio (*Anthurium andraeanum* Linden) e Bastão do Imperador (*Etilingera elatior* (Jack) R. M. Smith). As predominantes condições edafoclimáticas do Nordeste favorece a produção de diversas espécies de plantas tropicais no decorrer do ano inteiro (SÁ JÚNIOR, 2019).

Flores e plantas ornamentais frequentemente são infectadas por fungos, responsáveis por lesões foliares e podridões pós-colheita, inviabilizando o comércio (SARDINHA et al., 2012). Entre esses fungos pode-se destacar o gênero *Colletotrichum*, onde estão inclusas espécies patogênicas e não patogênicas (HYDE et al. 2009; PRIHASTUTI et al. 2009; CANNON et al. 2012; VIEIRA et al. 2014). Entre as espécies patogênicas se encontram aquelas que desenvolvem doenças de importância econômica, conhecidas como antracnose, em diversas leguminosas, cereais, ornamentais, hortaliças, assim como em culturas perenes, incluindo diversas frutíferas (BERGAMIN FILHO et al., 1995; SERRA et al., 2008). JAYAWARDENA et al., 2016).

A antracnose se destaca entre as doenças causadas por fungos que acometem as flores tropicais, tendo como agente causal espécies do gênero *Colletotrichum*, que ocorre de modo cosmopolita, causando grandes perdas. Os sintomas podem ser observados nas brácteas, onde lesões encharcadas evoluem para necroses escuras que seguem evoluindo para a generalização da podridão, podendo atingir amplas áreas do

tecido floral, como descritos, por Furtado et al. (2012), nas inflorescências de *Tapeinochilus* (*Tapeinochilus ananassae* (Hassk.) K. Schum).

Em estudo realizado por Paixão et al. (2020), foi relatado *C. theobromicola* causando antracnose em *Anthurium* sp.

Para identificar as espécies de *Colletotrichum*, inicialmente eram levados em consideração os aspectos morfológicos, culturais e hospedeiro (MUÑOZ et al., 2000), que demonstraram elevada ambiguidade na taxonomia entre as espécies do gênero, devido a sobreposição de características morfológicas e a pequena divergência genética encontradas nos diferentes complexos de espécies (CANNON et al., 2012). A utilização de informações moleculares, assim como a análise sequencial multigênica tem resultado em diversas mudanças na taxonomia do gênero *Colletotrichum*, assim como de *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. (CAI et al., 2011 ; JAYAWARDENA et al., 2020), fazendo-se necessário uma precisão na identificação das espécies deste gênero para que se possa ter uma melhor compreensão etiológica da doença, e assim determinar o manejo correto das doenças causadas por esse gênero.

O manejo de doenças fúngicas em plantas ornamentais deve ser baseado na adoção de medidas conjuntas que promovam a sustentabilidade da produção, respeito ao meio ambiente e qualidade de vida aos produtores e consumidores. Entre os métodos destacam-se o controle genético, que é o mais eficaz e abrangente, porém, muito restrito em plantas ornamentais; o cultural, através da adoção de práticas que otimizem o desenvolvimento e reduzam o estresse da planta, além de cuidados na pós-colheita, e controle químico, cujo uso em plantas ornamentais é bastante limitado no Brasil, em virtude do número inexpressivo de produtos registrados para esse fim, além do grande custo e contaminação por resíduos (ALEXANDRE et al., 2016). Para tanto, se faz necessário a procura por métodos de controle que respondam às deficiências encontradas pelo produtor, diminuindo assim os danos causados pela antracnose.

Nos relatos científicos há registros da eficiência de óleos essenciais obtidos de uma enorme gama de espécies botânicas em promover a inibição do desenvolvimento de vários fitopatógenos de natureza fúngica (KNAAK; FIÚZA, 2010). Esses óleos apresentam uma variada composição química, sendo classificada como fontes de substâncias biologicamente ativas, em especial contra microrganismos (OLIVEIRA, et al., 2011).

Diante disso, o objetivo do trabalho foi identificar a variabilidade multi-locus de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em Flores Tropicais, assim como verificar o efeito dos óleos essenciais de menta (*Mentha* sp.), citronela (*Cymbopogon nardus* L.) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf), na eficiência direta sobre *Colletotrichum tropicale* e sobre o controle da antracnose em hastes de Bastão do Imperador.

REVISÃO DE LITERATURA

RESUMO

O Brasil apresenta grande escala na produção de flores tropicais devido suas condições edafoclimáticas, apresentando as maiores produções nas regiões do Nordeste, Centro-Oeste e Norte, principalmente quando produzida em associação à irrigação. A antracnose é considerada uma doença limitante para o desenvolvimento da cultura. Esta revisão bibliográfica teve como objetivo agregar conhecimentos que estão relacionados à antracnose em Flores Tropicais, como a identificação da diversidade das espécies do gênero *Colletotrichum*, como também o uso de óleos essenciais no controle alternativo da doença. Assim, foi elaborada uma listagem bibliográfica apresentando dados Scielo, Google Acadêmico, Web of Science, portal da Capes (teses e dissertações), periódicos e livros. Obtendo assim referências sobre antracnose em flores tropicais e óleos essenciais como controle alternativo.

Palavras – Chave: Análise multi-locus; controle alternativo; indução de resistência.

PRODUÇÃO DE FLORES TROPICAIS

O Brasil apresenta grande escala na produção de flores tropicais devido suas condições edafoclimáticas (ALMEIDA et al., 2012), apresentando as maiores produções nas regiões do Nordeste, Centro- Oeste e Norte, principalmente quando produzida em associação à irrigação (LAMAS, 2004). Segundo alguns autores, o cultivo dessas espécies foi iniciado em Pernambuco, produzindo comercialmente em 1993 (AKI; PEROSA, 2002).

Em 2015, no país, o setor de floricultura faturou cerca de R\$ 6,0 bilhões (ALENCAR; GALERA, 2016), ainda que, em torno de 96,5% da produção total, seja destinada à abastecer o mercado interno (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014). Em 2017 foi possível observar um crescimento de 9% gerando um faturamento de 7,2 bilhões, aproximadamente. O comércio de flores é considerado uma das sugestões para os empreendedores brasileiros, uma vez que, tem gerado em torno de 200 mil empregos diretos, onde, estima-se que 78.700 (39,53%) estão relacionados à produção, 8.400 (4,22%) direcionados à distribuição, 5.500 (53,00%) estão inseridos no varejo e 6.500

(3,26%) em cargos como o apoio, por exemplo, de acordo com informações do Instituto Brasileiro de Floricultura (AGÊNCIA BRASIL, 2018).

O Brasil apresenta em torno de 8.300 produtores, além dos 60 centros de atacado, dos quais pertencem os 680 atacadistas, distribuídos em cerca de 20 mil comércios de varejo. A área de cultivo é em torno de 15.600 ha, colocando o país na oitava posição dentre os maiores produtores mundialmente, de plantas ornamentais. Chega a 210 mil postos de trabalho no ramo, dentre os quais 54% são vagas de varejo, 39% das vagas são da produção, 4% destinadas ao atacado e 3% ocupam outras funções (IBRAFLOR, 2020).

Em pesquisas realizadas em 2020, foi observado que o setor passa por prejuízos, ocasionadas pelo confinamento decretado visando não propagar o coronavírus, onde R\$ 297,7 milhões foi o valor que deixou de ser faturado até o mês de março. Já os prejuízos para o mês de abril foram calculados em torno de R\$ 669,8 milhões, reunindo produtores e vendedores. Segundo dados apresentados pelo IBRAFLOR, a continuidade da quarentena, mostrou uma provável falência de quase todos os produtores de flores e folhagens de corte, que tem a participação na geração de empregos em torno de 50% e 30% do comércio (IBRAFLOR 2020).

Ainda de acordo com os autores, a preocupação com os resultados da paralização do comércio de flores e plantas ornamentais, justificado pelo cancelamento de diversos eventos, assim como os pontos de revenda foram fechados, o Instituto Brasileiro de Floricultura (IBRAFLOR) tem buscado o Governo Federal, através do Ministério da Agricultura, assim como aos governos dos estados visando uma flexibilização das normas para o setor, que mobiliza em torno de R\$ 8,67 bilhões, gerando cerca de 210.000 empregos direto e os indiretos chegando a mais de 800.000 em toda cadeia.

Com o cenário em que se encontram o comércio de plantas ornamentais, um dos lugares de procura do produto são os supermercados, mesmo assim, a busca apresentou uma queda em torno de 70%, e diversas campanhas estão sendo desenvolvidas visando estimular a aquisição individual. Só em Holambra, região produtora de flores e plantas ornamentais, foi registrado uma diminuição das vendas em torno de 70% e os prejuízos foram cerca de R\$ 50 milhões. (CANAL RURAL, 2020).

CARACTERÍSTICAS DAS ESPÉCIES DE FLORES TROPICAIS CULTIVADAS NO NORDESTE BRASILEIRO

O Nordeste brasileiro é conhecido como o principal produtor, contribuindo para a elevação de empregos para a agricultura familiar, o que tende a favorecer o desenvolvimento social, assim como a economia local (ALMEIDA et al., 2012). Dentre as espécies produzidas no país estão a Alpinia, Antúrio e Bastão do Imperador. As predominantes condições edafoclimáticas do Nordeste favorece a produção de diversas espécies de plantas tropicais no decorrer do ano inteiro (PITTA et al., 1990).

O gênero *Anthurium* Schot, é pertencente à família Araceae, ordem Alismatales, classe Liliopsida, ao qual caracteriza-se por ter espécies com inflorescências em espádice, protegidas por uma espata. O que é popularmente conhecida como flor é o conjunto formado por uma folha modificada e colorida, denominada espata, e uma inflorescência em espiga, denominada espádice, composta por inúmeras pequenas flores hermafroditas dispostas em espiral (CASTRO et al., 2012). Esse gênero compreende aproximadamente 117 gêneros (MIRANDA et al., 2015; BORA et al., 2016; SILVA et al., 2016), o maior representante da família, o gênero *Anthurium*, possui cerca de 1.500 espécies (LIMA et al., 2016), das quais aproximadamente 130 ocorrem no Brasil (TORRES; CROAT, 2015).

As plantas deste gênero caracterizam-se por serem herbáceas, perenes (produz o ano todo) e comumente epífitas (cresce sobre outras plantas sem parasitismo), epilíticas (cresce sobre rochas) ou terrestre. Muitas são originárias de locais sombreados, onde tanto a temperatura quanto a umidade do ar são relativamente altas, e, de uma maneira geral, apresenta sensibilidade há diversos fatores climáticos (frio, vento, chuvas fortes, ao calor excessivo e à alta incidência solar) (CASTRO et al., 2012b). Apesar de característicos de regiões tropicais, os antúrios têm a sua produção e comercialização em estufas (ou telados) por todo o mundo, principalmente na Holanda (TOMBOLATO; CASTRO, 2005; CAMPOS, 2017).

Na família Zingiberaceae estão inclusas diversas espécies com utilidades na horticultura, principalmente na utilização medicinal, na culinária, assim como no paisagismo e nas ornamentações (SILVA al., 2017). Dentre as principais espécies o gênero *Alpinia* tem se destacado, devido a quantidade de espécies com inflorescências

atrativas, além da sua elevada capacidade produtiva, apresentando relevante valor na horticultura (SOUZA et al., 2016).

Alpinia purpurata (Viell.) K. Schum tem sua origem na Ásia, sendo bastante conhecida no Brasil e na Índia. Tais flores, não apresentam apenas valor ornamental, como também sua capacidade em utilizações na biotecnologia, desde a identificação da lectina, com funções imunomoduladoras, encontradas em suas inflorescências (SANTOS et al. al., 2012 e BRITO et al., 2017). As principais variedades produzidas são a Red Ginger (vermelha), Pink Ginger (rosa), Jungle King (vermelha), Jungle Queen (rosa) e Eileen MacDonald (rosa) (LAMAS, 2004).

Devido aos seus atributos, dentre eles a sua longevidade pós-colheita, o seu florescimento ser durante o ano inteiro, o uso para ornamentações, por ser uma flor de corte, a alpinia por sua relevância vem ocupando o segundo lugar na economia (CASTÁN-BAÑERAS, 1997; TEIXEIRA; LOGES, 2008; ALONSO; SILVA, 2010).

O bastão do imperador [*Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith] é classificado como uma planta herbácea ornamental, rizomatosa e robusta, pertencente à família Zingiberaceae. A vermelha, a rosa e a rosa claro são originárias da Malásia, apresentando grandes inflorescências vistosas de colorações variando entre coloração vermelha (cultivar Red Torch), rosa (cultivares Pink Torch e Porcelana) e branco, com origem na Malásia. Sua produção ocorre durante o ano inteiro, com os picos apresentados no intervalo entre novembro e fevereiro (FERRARI, 2008; UNEMOTO, 2010).

A produção do bastão do imperador, dentre as diversas flores tropicais, em regiões de clima úmido e quente, é favorecida pelo desenvolvimento de várias doenças ocasionando perdas significativas no campo e na pós-colheita, o que tende a comprometer a qualidade das flores. É importante mencionar que o manejo aplicado de maneira incorreta, favorece a elevação tanto da incidência, quanto da severidade da doença, fazendo com que haja uma redução da produtividade, assim como a perda do valor para o comércio das flores (LINS; COELHO, 2004).

O GÊNERO *Colletotrichum*

O gênero *Colletotrichum*, Corda (1831), está incluso no grupo de fungos considerados anamórficos, pertencente à classe-forma Celomicetos (AMORIM;

REZENDE; BERGAMIN FILHO, 2011). Quando se conhece a fase telemórfica das espécies desse gênero, é conferida ao gênero *Glomerella*, inserido no filo Ascomycota. Com base em pesquisas filogenéticas, as duas classes pertencem a classe Sordariomycetes, à ordem Glomerellales e a família Glomerellaceae (RÉBLOVÁ et al., 2011).

As características especiais relacionadas à morfologia do gênero *Colletotrichum* são: o micélio septado, apresentando conidioma acervular, geralmente com pouco desenvolvimento, com frequências de setas escuras com bom desenvolvimento; conidióforos com pouca evolução, mostrando pequenas células conidiogênicas agrupadas com formato de frasco, demonstrando conidiogênese enteroblástica; e conídios cilíndricos, fusiformes ou semilunares, hialinos, com paredes finas e unicelulares, onde sua germinação origina apressórios de coloração marrom-escuros de aspectos circulares a irregulares (PUTZKE, J.; PUTZKE, M., 2002; LINS; ABREU; ALVES, 2007; CANNON; KIRK, 2007).

Esse gênero compreende um fungo fitopatogênico cosmopolita, em que estão inclusas espécies patogênicas e não patogênicas (HYDE et al. 2009; PRIHASTUTI et al. 2009; CANNON et al. 2012; VIEIRA et al. 2014). Nele estão presentes espécies que desenvolvem doenças de importância econômica em diversas leguminosas, cereais, hortaliças, assim como em culturas perenes, incluindo diversas frutíferas (BERGAMIN FILHO et al., 1995; SERRA et al., 2008). Estas espécies são pesquisadas com grande frequência, devido às perdas causadas na economia como patógenos de plantas, agindo como hemibriotróficos, saprofíticos e endofíticos (DEAN et al., 2012; GAN et al., 2013; JAYAWARDENA et al., 2016).

Foi determinado em associação em torno de 2.200 espécies de plantas (FARR e ROSSMAN, 2015), representando assim um agente de relevada importância para as doenças de plantas, mundialmente (DEAN et al. 2012). Diversas espécies do gênero foram identificadas em órgãos que não apresentavam sintomas, tanto em plantas nativas, quanto em cultivadas, principalmente nos trópicos, onde se tornou rotineiro (ROJAS et al. 2010; GAZIS et al. 2011; LIMA et al. 2013; VIEIRA et al. 2014; BRAGANÇA et al. 2015). Estudos em florestas tropicais úmidas mostraram que plantas de modo individual e folhas simples podem acomodar uma diversidade de

espécies de fungos endofíticos, assim como espécies do gênero *Colletotrichum* (ARNOLD et al. 2000; ARNOLD e LUTZONI 2007).

Para uma melhor compreensão etiológica da doença, se faz necessário uma precisão na identificação das espécies deste gênero, podendo assim determinar o manejo de modo correto. Entretanto, em diversos estudos no decorrer dos anos, a taxonomia deste gênero foi tida como confusa (VON ARX, 1957; SUTTON, 1980; HYDE et al., 2009; CANNON et al., 2012; JAYAWARDENA et al., 2016).

A partir dos anos 90, foram mostradas as aplicações iniciais do DNA para diferenciar as espécies do gênero *Colletotrichum*, onde, a quantidade de artigos científicos aplicando as técnicas moleculares para explicar as relações encontradas inclusas no gênero elevaram aceleradamente (CANNON et al., 2012). No início, grande parte das pesquisas eram fundamentadas em observações por meio de análises da região ITS-rDNA, porém, diferentes regiões genômicas foram introduzidas nas análises filogenéticas multi-locus (SREENIVASAPRASAD; BROWN; MILLS, 1992; SHERRIFF et al., 1994; JOHNSTON; JONES, 1997; TALHINHAS et al., 2002; GUERBER et al., 2003; DU et al., 2005).

Diversas pesquisas demonstram a insuficiência dos caracteres morfológicos e culturais, assim como a utilização de uma única região genômica para a determinação das espécies do gênero *Colletotrichum*, em especial a região ITS-rDNA (HYDE et al., 2009; CAI et al., 2009; DAMM et al., 2009; CANNON et al., 2012; SHARMA; PINNAKA; SHENOY, 2013). De acordo com Hyde et al. (2009), demonstraram o quão é necessário a epitificação das espécies, bem como a utilização de estudos filogenéticos multi-locus, com genes que apresentem maiores informações. Estudos de Cai et al. (2009), afirmaram a utilização de uma análise polifásica, incluindo o uso de informações moleculares, morfológicos, fisiológicos, assim como as relacionadas à patogenicidade para, de modo preciso, identificar com confiabilidade as espécies, uma vez que o modo antigo de classificar, apresentou limites para a separação entre as espécies.

Com isso, os estudos filogenéticos multi-locus tornaram-se um padrão, onde as regiões genômicas mais usadas são o gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), a actina (ACT), a quitina sintetase (CHS-1), a β -tubulina (TUB2), a calmodulina (CAL), a histona (HIS3), a glutamina sintetase (GS), o superóxido-dismutase de manganês

(SOD) e a região do espaçador interno transcrito (ITS) (CANNON et al., 2012; WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012). O gene GAPDH é tido como inicial e específico, um gene “chave” para identificar as espécies do gênero *Colletotrichum*, uma vez que associado à outros genes possibilitando diferenciar com confiabilidade grande parte dos 14 táxons (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012), sendo assim usado como padrão inicial de distinção em pesquisas que buscam identificar espécies inclusas no gênero que possuem associação exclusiva a um determinado hospedeiro (LIMA et al., 2013; SHARMA; SHENOY, 2014; LIU et al., 2016; SILVA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2018; WACULICZ-ANDRADE et al., 2018).

Baseados neste questionamento, foi iniciado uma reavaliação do gênero, ainda continuada, onde diversas espécies foram reanalisadas e tipificadas em que, diversos complexos de espécies foram determinados. O gênero *Colletotrichum* abrange atualmente 280 espécies aceitas com dados moleculares, dentre elas, 15 são espécies isoladas (*singleton*) e as outras 265 espécies estão agrupadas em um dos 16 complexos reconhecidos: *C. gloeosporioides*, *C. gigasporum*, *C. boninense*, *C. acutatum*, *C. graminicola*, *C. caudatum*, *C. spaethianum*, *C. destructivum*, *C. dematium*, *C. truncatum*, *C. orbiculare*, *C. dracaenophilum*, *C. magnum*, *C. orchidearum*, *C. agaves* e *C. bambusicola* (DAMM et al., 2009; WEIR; JOHNSTON; CROUCH; INGUAGIATO, 2009; CANNON et al., 2012; DAMM, 2012; DAMM et al., 2012a; DAMM et al., 2012b; DAMM et al., 2013; DAMM et al., 2014; CROUCH, 2014, HYDE et al., 2014, LIU et al., 2014; LIU et al., 2015; JAYAWARDENA et al., 2016; HOU et al., 2016; DAMM et al., 2019).

Os variados ciclos de vida de muitas espécies de *Colletotrichum*, sua alta capacidade de infectar uma variada gama de hospedeiros, mudando até seu modo de vida, gera diversas dificuldades na determinação da doença causada. As referências de hábito destas espécies são modificadas de forma elevada por famílias de genes com especificidade, assim como as interações bioquímicas que acontecem por meio de específicas enzimas e metabólitos secundários que são produzidos na relação patógeno – hospedeiro (PHOULIVONG et al., 2012; DE SILVA et al., 2016b).

ANTRACNOSE EM FLORES TROPICAIS

Flores e plantas ornamentais frequentemente são acometidas por fungos, que apresentam maior frequência em tempos de chuva. Tais agentes são responsáveis pelas

manchas foliares, que reduzem a área fotossintética, reduzindo assim a produtividade. Nos casos em que a severidade da doença é mais elevada, este patógeno pode acometer o que será comercializado da cultura, acarretando na inviabilização do comércio (SARDINHA et al., 2012).

A antracnose se destaca entre as doenças causadas por fungos que acometem as flores tropicais, tendo como agente causal espécies do gênero *Colletotrichum*, ocorre de modo corriqueiro causando grandes perdas. Os sintomas podem ser observados nas brácteas, apresentando lesões encharcadas que evoluem para necroses escuras que se ligam evoluindo para a generalização da podridão, que pode atingir amplas áreas do tecido floral. Segundo Furtado et al., (2012), em pesquisa realizada, foi descrita em Alagoas, pela primeira vez, infecções em inflorescência de *Tapeinochilos* causadas por *C. gloesporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

As lesões são observadas principalmente nas folhas de plantas acometidas. As espécies desse gênero possuem a capacidade de sobrevivência no hospedeiro, assim como em restos culturais, onde a disseminação é facilmente realizada pelos seus propágulos, por meio dos respingos da água. A antracnose é tida como uma doença com características policíclica, englobando as etapas de deposição do conídio na superfície do vegetal, adesão e germinação do conídio, alongação do tubo germinativo e formação do apressório, seguindo do desenvolvimento do peg de penetração e penetração nas células epidérmicas, evoluindo para o crescimento do patógeno e a colonização do tecido vegetal finalizando com a produção de acérvulos, que originarão os conídios (MORAES, 2009).

A inespecificidade desse gênero foi descrito em várias pesquisas, por meio da inoculação artificial (ALAHAKOON; BROWN; SREENIVASAPRASAD, 1994; BERNSTEIN et al., 1995; PERES et al., 2002, SANDERS; KORSTEN, 2003). Assim, se torna fundamental estudos buscando comprovar de fato as espécies hospedeiras, já que algumas pesquisas demonstram a existência de espécies com especificidade inclusas dentro do gênero *Colletotrichum* (FREEMAN; KATAN, 1997; FREEMAN; KATAN; SHABI, 1998).

No Brasil, a antracnose é uma das doenças de pós-colheita mais pesquisada, devido suas elevadas perdas ocasionadas na produção de diversas culturas agrícolas. Para a cultura do Bastão do imperador (SILVA et al. 2015), apresenta danos nas

brácteas florais, tendo o início pelo surgimento de manchas escuras, evoluindo para uma podridão encharcada terminando com a necrose e o secamento das brácteas, fazendo com que o material não seja comercializado (FERRARI, 2008).

Para as plantas ornamentais de grande importância comercial como *Anthurium andraeanum*, *Etilingera elatior* e *Alpinia*, a doença fúngica causada por *Colletotrichum* é tida como a mais importante e causadora de maiores danos (PITTA; CARDOSO; CARDOSO, 1990 e LINS; COELHO, 2004).

Para Neto e Fancelli (2000), em sua pesquisa, o *Colletotrichum* apresenta uma permanência no solo, em restos de cultura, de até dois anos, com isso, para o controle da doença estão inclusas as práticas culturais, a aplicação de fungicidas e o uso de variedades resistentes. A exigência em qualidade pelo comércio de flores ornamentais é evidente, diante disso, o controle de doenças tem apresentado elevada importância para o desenvolvimento crescente desta atividade (SOLOGUREN; JULIATTI, 2007).

CONTROLE ALTERNATIVO

As doenças de plantas são responsáveis por 14% das perdas na produção agrícola a nível mundial, sendo estas maiores em países em desenvolvimento onde 56,8% da população se dedicam à produção agrícola (AGRIOS, 2005). Os fungos são responsáveis por 70% das doenças que causam danos em várias culturas, diminuindo a sua produtividade (POZZA, et al. 2006).

O uso de variedades resistentes é considerado o modo de maior praticidade para os produtores, além da economia para o controle, entretanto, em razão da variabilidade que o patógeno apresenta e a ocorrência do organismo, em casos específicos, ser polífago, tem dificultado o alcance, através dos programas de melhoramento genético, dessas variedades resistentes e conseqüentemente os produtores têm apenas a opção de usar variedades que apresentam suscetibilidade ou baixa tolerância. E na grande maioria das vezes é necessário o uso de produtos químicos para o controle das doenças (RAVA 2002).

A utilização de produtos fitossanitários é limitada em razão da contaminação provocada pelos resíduos químicos, além do grande custo, justificando a resistência genética como a alternativa mais indicada para o controle (NEGREIROS et. al., 2013),

se fazendo necessário a procura por métodos de controle que respondam às deficiências encontradas pelo produtor, diminuindo assim os danos causados pela antracnose.

Para o controle da maioria das doenças de plantas é utilizado, principalmente, o tratamento químico sintético, que visa reduzir ou erradicar o inóculo no campo. Porém, o uso contínuo e indiscriminado de agrotóxicos causa uma série de problemas ambientais e à saúde humana, tais como a interrupção do controle biológico natural, uma vez que organismos não alvo podem ser afetados (SOYLU, et al., 2010), resistência pelos patógenos, ocasionando surtos de doenças (LEE, et al., 2008) e contaminação de águas subterrâneas e superficiais (FERNANDES NETO; SARCINELLI, 2009), contaminação do solo, dos alimentos e dos ecossistemas (CAMPANHOLA, 2003).

Segundo Ribas e Matsumura (2009) os agrotóxicos podem ser definidos como substâncias químicas naturais ou sintéticas, utilizadas para matar, controlar ou combater de algum modo as pragas, doenças e ervas invasoras das lavouras, constituindo um importante meio de controle do homem sobre os agroecossistemas.

De acordo com Ghini e Kimati (2000), o controle químico é considerado um modo que apresenta eficiência para uma diversidade de doenças fitossanitárias, assim como a antracnose. Tais produtos demonstram respostas rápidas, uma aplicação facilitada, com isso seu uso tem se espalhado. No entanto, o surgimento de estirpes de fungos resistentes a estes produtos vem gerando grandes problemas para o controle dos mesmos.

A transmissão da antracnose pode ocorrer tanto por sementes quanto por resíduos culturais, chegando assim a uma rápida evolução sendo sua disseminação e introdução ocorrida de modo rápido. Com as condições edafoclimáticas em favorecimento ao desenvolvimento da doença, a utilização de fungicidas tornou-se a alternativa de maior viabilidade. No entanto a seleção que as moléculas dos fungicidas constante nos cultivos tem originado diversos problemas de sensibilidade ao produto químico (GHINI e KIMATI, 2000).

As mutações, assim como a reprodução sexual têm sido ativadas por alguns fungos, pela manifestação de genes que irão intensificar os mecanismos de falta de sensibilidade, assim como a resistência aos fungicidas. A separação das linhagens e as

populações resistentes são favorecidas pela habilidade de multiplicação e das diferenças que os fungos apresentam, podendo surgir de modo aleatório ou induzido (TOZZE et al., 2004).

A aplicação indiscriminada de tais compostos tem trazido uma série de transtornos e modificações para o ambiente, tanto pela contaminação das comunidades de seres vivos que o compõe, quanto pela sua acumulação nos segmentos bióticos e abióticos do ecossistema (BONALDO, et al., 2007).

Visando a diminuição dos efeitos residuais dos agrotóxicos, a diminuição e até mesmo a substituição da utilização de fungicidas, o controle alternativo de fitopatógenos vem sendo alvo de novos estudos ao longo dos anos. Um dos focos de estudo são os chamados metabólitos secundários. As plantas produzem diversos compostos orgânicos, muitos dos quais não participam diretamente de seu desenvolvimento. Essas substâncias referidas como metabólitos secundários ou produtos naturais desempenham um papel fundamental nas suas interações de defesa contra predadores e patógenos. Muitos destes metabólitos secundários apresentam atividades biológicas e têm sido utilizados na indústria farmacêutica e agroquímica (ANDRADE, 2006).

Assim, a restrição ao uso de fungicidas e a crescente exigência por produtos livres de contaminação tem elevado a busca de métodos alternativos de controle (CELOTO, et al., 2011).

Na busca de novos métodos de controle de doenças, os extratos de plantas com propriedades terapêuticas surgem como opção. O uso de extratos vegetais e óleos essenciais, por exemplo, têm sido fonte de inúmeras pesquisas que validam sua eficácia (SOUZA, et al., 2007).

As plantas medicinais são frequentemente apresentadas como uma grande potencialidade para a origem de novos fármacos, sendo uma fonte de novas substâncias bioativas (FAUSTINO, et al., 2010).

As propriedades antimicrobianas de extratos e óleos essenciais obtidos de plantas medicinais reconhecidas empiricamente durante séculos, mas suas confirmações científicas ocorreram apenas recentemente. Muitos pesquisadores estudam a atividade biológica de plantas medicinais originárias de diversas regiões do mundo, orientados

pelo uso popular das espécies nativas, mostram que seus extratos e óleos essenciais são eficientes no controle do crescimento e desenvolvimento de uma ampla variedade de microrganismos, incluindo fungos filamentosos, leveduras e bactérias (JANSEN, et al., 1987).

A utilização de fungicidas de origem vegetal poderá constituir um método alternativo e promissor no controle de doenças, pois, além de serem de fácil obtenção e baixo custo, minimizam os problemas de toxicidade apresentados pelos produtos químicos sintéticos (ROMERO et al., 2009). A utilização de produtos naturais no controle de doenças de plantas representa um meio eficiente para a redução do uso de defensivos agrícolas (KIMATI, et al. 1997).

Nesse contexto, muitos estudos têm explorado produtos vegetais como pesticidas botânicos, pois são mais biodegradáveis que pesticidas sintéticos (DAN, et al., 2010). A identificação de compostos químicos a partir de plantas medicinais, por exemplo, possibilita a obtenção de substâncias que podem controlar ou inibir o desenvolvimento de fitopatógenos (SILVA, et al., 2009).

Assim, o controle alternativo, entendido como a integração de medidas não poluentes, aplicadas preventivamente, visando à redução da intensidade de doença e ao aumento da produção, da produtividade e da qualidade dos produtos agrícolas, enfatiza o emprego de táticas e métodos sejam eles culturais, mecânicos, físicos, legislativos, biológicos, de resistência genética entre outros, com vistas à prevenção e à redução da intensidade das doenças (PAULA JÚNIOR et al., 2005).

O emprego de indutores de resistência tanto bióticos quanto abióticos é considerado um instrumento no manejo das doenças, uma vez que sua comprovação já foi relatada em diversos patossistemas pesquisados. A indução de resistência é efetivada por compostos que não implicam em efeitos sobre o microrganismo e sim ativando genes relacionados à defesa da planta. Tais genes irão codificar os recursos de defesa, tanto os pré-existentes, como ceras, cutículas, substâncias químicas, entre outros, quanto os induzidos, como dentre eles estão a formação de papilas, de Pr-proteínas e a produção de fitoalexinas (GURGEL et al., 2014; JESUS, 2009; AMARAL, 2005; CAVALCANTI, 2000).

ÓLEOS ESSENCIAIS

Muitos pesquisadores têm se dedicado à procura de produtos de origem natural com ação tóxica aos fungos e sua aplicação no controle de fungos fitopatógenos que causam grandes prejuízos para culturas de interesse econômico. Entre outros produtos, os óleos essenciais, possuem características que os incluem como metabólitos secundários de plantas e de baixa toxicidade a mamíferos, sendo largamente testados visando controlar pragas agrícolas (SILVIA e BASTOS, 2007).

Nos vegetais, os óleos essenciais são capazes de desenvolver funções relacionadas com sua volatilidade, agir na atração de polinizadores, na proteção contra predadores, patógenos, perda de água, elevação da temperatura assim como o desempenho das funções ecológicas, em especial na inibição da germinação. Tais características enquadram essas plantas nos grupos das fontes de elementos biocidas, fato que é largamente estudado na agricultura, principalmente em vista das atividades bactericida, fungicida e inseticida (HARBONE, 1993).

Os óleos essenciais possuem o potencial útil para manejar doenças em plantas (ISMAN, 2000; SALGADO, et al., 2003). Com origem no metabolismo das plantas, apresentam uma variada composição química sendo classificada como fontes de substâncias biologicamente ativas, em especial contra microrganismos (OLIVEIRA, et al., 2011).

Os compostos presentes nos óleos essenciais são capazes de atuar diretamente sobre o patógeno ou induzirem a resistência, neste caso envolvendo a ativação de mecanismos de defesa latentes das plantas (HAMMERSCHMIDT e DANN, 1997; SCHWAN-ESTRADA, et al., 2003). Segundo Campos (2001), em conclusões de trabalhos experimentais onde encontrou evidências que os mecanismos de resistência induzidos internamente estão envolvidos com uma alteração geral na planta causada pelo parasita.

Essa indução da resistência, também conhecida como resistência induzida em plantas ou imunidade adquirida, envolve a ativação dos mecanismos latentes de resistência em uma planta por meio de tratamentos com agentes bióticos ou abióticos. Tais mecanismos de resistência podem ser estruturais, como papila, lignificação e tilose, ou bioquímicos, como o acúmulo de fitoalexinas e proteínas relacionadas à patogênese (PASCHOLATI ; LEITE, 1995).

Trabalhos desenvolvidos com extrato bruto ou óleos essenciais, obtidos a partir de plantas medicinais, têm indicado o potencial destas no controle de fitopatógenos, tanto por ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de compostos com características de elicitores (STANGARLIN, et al., 1999).

As fitoalexinas são metabólitos secundários, antimicrobianos, de baixo peso molecular produzidos pelas plantas em resposta a estresses físicos, químicos ou biológicos, impedindo a atividade de agentes patogênicos (PURKAYASTHA, 1995). De forma geral, o modo de ação das fitoalexinas sobre fungos inclui granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas fúngicas. Tais efeitos refletem-se na inibição da germinação e alongação do tubo germinativo e são capazes de reduzir ou inibir o crescimento micelial dos fungos (LO et al., 1996).

A citronela é uma planta aromática parecida com o capim-cidreira, onde é extraído de suas folhagens um óleo que apresenta propriedades repelentes, tendo em sua constituição principal mais de 80 componentes, entre eles: citronelal, geraniol, limoneno. Na matéria seca e fresca, é possível encontrar um teor de óleo essencial de 1,4% e 0,84%, respectivamente. Segundo Ketoh et al. (2002), o óleo essencial de *C. martinii* contém 70 a 90% de geraniol.

De acordo com Castro et al. (2010), o óleo essencial extraído do capim citronela (*Cymbopogon nardus*) apresenta atividade repelente a insetos, ação fungicida e bactericida, devido a composição quantitativa e qualitativa dos metabólitos secundários das plantas.

A adição de óleos em específicas concentrações em meios de cultura com presença de fungos fitopatógenos resultou na demonstração da eficiência da *Mentha arvensis* L. na inibição do desenvolvimento de organismos fitopatogênicos (SOUZA et al., 2004). Dessa forma, as características do óleo essencial de tal vegetal vem sendo avaliadas pelo seu efeito inibidor no crescimento e desenvolvimento de microrganismos fitopatogênicos (DINIZ et al., 2003). Alguns trabalhos mostraram efeito ao controlar fungos do gênero *Fusarium* demonstrados por Singh, Prasad e Sinha (1993), quando foi verificado o efeito fungicida e fungistático do óleo de menta (*Mentha* sp.) em 23

espécies de fitopatógenos, atuando no impedimento total do crescimento micelial, a partir de 2.000 mg/mL.

Algumas plantas apresentam diversas substâncias químicas em sua composição, muitas destas com potencial fungicida ou fungistático, que precisam ser avaliadas quanto ao uso direto pelo produtor rural, bem como para servir de matéria-prima na formulação de novos produtos (GARCIA et al., 2012).

INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA E A PRODUÇÃO DE ENZIMAS DE DEFESA

A indução de resistência é um evento que apresenta características como a elevação da resistência das plantas em luta contra doenças, quando as mesmas são devidamente produzidas. A severidade da doença, em plantas que passam por uma inoculação com o patógeno, é reduzida pela condição de indução (LOON et al., 1998). De acordo com Diaz et al. (2001), a exposição de plantas a um agente gerador de resistência, demonstra uma elevação no funcionamento de rotas metabólicas, que envolve a assimilação da existência de fitopatógenos aptos, na indicação bioquímica a locais afastado do sítio onde o sinal foi gerado e, conseqüentemente, ocorre uma elevação na ação de enzimas vinculada na formação de compostos antimicrobianos, assim como as fitoalexinas e as PR proteínas, dentre outros.

A expressão da RSA sistêmica e local, em resultado à patógenos causadores de danos necróticos. Essa resistência tem associação à elevação do funcionamento de proteínas com relação à patogênese (PR) que é regulada por um método que depende do ácido salicílico. Diferentes métodos de defesa podem estar inclusos, como o aumento das fitoalexinas, a explosão oxidativa e a lignificação, dentre outros (DURRANT e DONG, 2004).

A produção de compostos secundários pelas plantas apresenta uma ampla variedade, conhecidos como compostos fenólicos, que apresentam ação de compostos relacionados à defesa para o ataque de fitopatógenos, radiação UV dentre outros (TAIZ e ZEIGER, 2004). De acordo com Zhao et al. (2005), em estudos realizados, relataram que as plantas que adquiriram estímulo de estresse, demonstraram uma elevada ação das enzimas peroxidase e fenilalanina amônia-liase, quando comparadas com as plantas que não adquiriram o estímulo.

Para Chakraborty et al. (2001), a ação da fenilalanina amônia-liase, eleva variados tipos de estresse, principalmente o térmico, por isso é conhecida por alguns pesquisadores como a “proteína do estresse”, o que está relacionado ao andamento de mecanismos de proteção, assim como a habituação das plantas em momentos adversos.

Sendo assim, a resistência induzida eleva a ação algumas rotas do metabolismo em específico, a condição de indução de plantas mantidas em exposição à indutores, tende a ser comprovado através da análise da ação de enzimas específicas, que tem envolvimento coma ativação da resistência de plantas à patógenos. Com isso, dentre as enzimas que são conhecidas por serem indicadoras da condição de indução nas plantas, estão as líticas quitinases e B-1,3-glucanases, estando inclusas dentre as proteínas de plantas que apresentaram indução em condições de patogênese ou correlatas, comumente conhecidas como PR proteínas (FERRAZ et al., 2008). Tais enzimas têm demonstrado, especialmente, como inibidoras do crescimento de fungos (VAN LOON e VAN STRIEN, 1999).

Ainda que as PR proteínas encontrem-se inclusas na defesa de plantas, sua identificação não só ocorre pela atividade patogênica e sim pelo acúmulo em plantas que passaram por situações de patogênese (VAN LOON, 1997).

As Peroxidases (PO) correspondem a um grupo superior a 20 enzimas, que apresentam a capacidade de catalisar a oxidação de diversos substratos, como as substâncias odoríferas, o ácido ascórbico, assim como os compostos fenólicos na existência de peróxido de hidrogênio. Os elementos originados das POs estão inclusos no desenvolvimento da parede celular da planta, na suberização e na lignificação. A ação das POs em vegetais contaminados por fitopatógenos, assim como em plantas induzidas, também estão relacionadas à oxidação de compostos fenólicos, que apresentam toxicidade aos fitopatógenos (RODRIGUES et al., 2013).

Uma enzima de relevada importância relacionada a defesa de plantas, inclusas nas reações de oxidação é a polifenoloxidasas (PPOs). Da mesma maneira que as POs, as PPOs oxidam compostos como o ácido ascórbico e os fenóis, só que pela utilização do oxigênio (SUTIC e SINCLAIR, 1991).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As doenças de plantas são consideradas fatores limitantes para a produção de flores tropicais, fazendo com que o produto se torne inviável para comercialização. Dentre as principais doenças estão as fúngicas, em especial a antracnose. Para uma melhor compreensão etiológica da doença, se faz necessário uma precisão na identificação das espécies deste gênero, podendo assim determinar o manejo de modo correto.

De modo geral, o controle químico é o mais utilizado mundialmente, mas as limitações posteriores ao seu uso indiscriminado, como poluição do meio ambiente e indução da resistência de patógenos à tais produtos, ocasionando dentre outras coisas, mutações e o aparecimento de novas espécies, é um dos principais motivos para a busca de uma alternativa de controle.

Dentre tantas pesquisas abordando este assunto, a utilização de óleos essenciais no controle de tais doenças, assim como na indução de resistência tem aumentado no decorrer dos anos. E assim, espera-se conseguir reduzir os prejuízos causados pelos produtos químicos aplicados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA BRASIL. Mesmo com crise produção de flores deve crescer 7%. 2018. <http://agenciabrasil.ebc.com.br/economia/noticia/2018-09/mesmo-com-crise-producao-de-flores-deve-crescer-7-neste-ano>. Acesso em: 20 novembro de 2021

AGRIOS, G. N. Plant Pathology. 5th. ed. San Diego: Elsevier, 948 p. 2005.

AKI, A; PEROSA, J.M.Y. Aspectos da produção e consumo de flores e plantas ornamentais no Brasil. Revista Brasileira de Horticultura Ornamental, Campinas, v.8, n.1/2, p.13-23, 2002.

ALAHAKOON, P.W.; BROWN, A.E.; SREENIVASAPRASAD, S. Cross-infection potential of genetic groups of *Colletotrichum gloeosporioides* on tropical fruits. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, London, v. 44, n. 2, p. 93-103, 1994.

ALENCAR, B. de; GALERA V. Mercado de flores atinge faturamento esperado para este ano, 2016. Disponível em:
<http://revistagloborural.globo.com/Noticias/Agricultura/noticia/2016/06/mercado-de-flores-atinge-expectativa-de-faturamento-para-o-ano.html> Acesso em: 16 de Maio de 2021.

ALMEIDA, E. F. A., et al. Flores Tropicais em Minas Gerais. Circular Técnica, n. 176, p. 1–5, novembro, 2012.

ALONSO, A. M.; SILVA, J. C. S. *Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum.: Planta ornamental para cultivo no Cerrado. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010.

AMARAL, D.R. Indução de resistência em cafeeiro contra *Cercospora coffeicola* por eliciadores abióticos e extratos vegetais. (Dissertação de Mestrado em Fitopatologia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG., 2005.

AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos. 4 ed. v.1. Piracicaba: Agronômica Ceres, 704p. 2011.

ANDRADE, S. P. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de *Cassia fistula* (Leguminosae). Osasco, SP: Revista PIBIC, v.3, n.2, p. 151-158. 2006.

ARNOLD, A.E.; LUTZONI, F. Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots? *Ecology* 88:541-549. 2007.

ARNOLD, A.E.; MAYNARD, Z.; GILBERT, G.S.; COLEY, P.D.; KURSAR, T.A. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? *Ecology Letters* 3:267–274. 2000.

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos. 3a Ed, Vol. I, Editora Agronômica Ceres Ltda, São Paulo SP. 1995

BERNSTEIN, B.; ZEHR, E.I.; DEAN, R.A.; SHABI, E. Characteristics of *Colletotrichum* from peach, apple, pecan, and other hosts. *Plant Disease*, Saint Paul, v. 79, n. 5, p. 478-482, 1995.

BONALDO, S. M., et al. Contribuição ao estudo das atividades antifúngica e elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja por eucalipto (*Eucalyptus citriodora*). *Summa Phytopathol.*, v.33, n.4, p.383-387. 2007.

BORA, D. et al. Credibility of medico-ethnobotanical uses of members of Aroid family in Assam. *International Journal of Herbal Medicine*, v. 4, n. 3, p. 09-14, 2016.

BRITO, J.S; FERREIRA, G.R.S.; KLIMCZAK, E.; GRYSHUK, L.; DE LIMA SANTOS, N.D.; DE SIQUEIRA PATRIOTA, L.L.; MOREIRA, LR; SOARES, A.K.A.; BARBOZA, B.R.; PAIVA, P.M.G.; DO AMARAL FERRAZ NAVARRO, D.M.; DE LORENA, V.M.B.; DE MELO, C.M.L.; CORIOLANO, M.C.; NAPOLEAO, T.H. Lectin from inflorescences of ornamental crop *Alpinia purpurata* acts on immune cells to promote Th1 and Th17 responses, nitric oxide release, and lymphocyte activation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v.94, p.865-872, 2017.

CAI, L.; HYDE, K.D.; TAYLOR, P.W.J.; WEIER, B.S.; WALLER, J.M.; ABANG, M.M.; ZHANG, J.Z.; YANG, Y.L.; PHOULIVONG, S.; LIU, Z.Y.; PRIHASTUTI, H.; SHIVAS, R.G.; MCKENZIE, E.H.C.; JOHNSTON, P.R. A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. Fungal Divers. 39, 183e204. 2009.

CAMPANHOLA, C. Métodos alternativos de controle fitossanitário. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, 279p. 2003.

CAMPOS, A.D. Indução do metabolismo de resistência à antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). (Tese de doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 88 p. 2001.

CAMPOS, A. S. Lâmina e frequência de irrigação, substrato e adubação na aclimatização de mudas micropropagadas de antúrio (*Anthurium maricense*). (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Ceará, Centro de ciências agrárias, departmanento de engenharia agrícola. 99p. 2017.

CANNON, P. F., DAMM, U., JOHNSTON, P. R., WEIR, B. S. *Colletotrichum* current status and future directions. Studies in Mycology, Utrecht, v.73, p.181-213, 2012.

CASTÁN BAÑERAS, J. Tecnologia em Floricultura Tropical. Revista Brasileira de Horticultura Ornamental, Campinas, v. 3, n. 2, p. 5-9, 1997.

CASTRO, A. C. R. et al. Antúrio. 1. ed. Brasília: Embrapa. 163 p. 2012 a.

CASTRO, M. F. A. et al. Cultivo. In: CASTRO A. C. R; TERAÓ D.; CARVALHO A.

C. P. P.; LOGES V. (Ed.). Antúrio. Brasília: Embrapa, p. 69 a 81. 2012b.

CASTRO, M. F. et al. Nutrição. In: CASTRO, Ana Cecília Ribeiro de. Antúrio. Brasília: Embrapa, 2012. Cap. 6, p. 1-164.

CASTRO, A. C. R. et al. Ornamental foliage potential of *Anthurium* accessions. *Acta Horticulturae*, v. 855, p. 61-86, 2010.

CHAKRABORTY, U.; DUTTA, S.; CHAKRABORTY, B. Drought induced biochemical changes in Young tea leaves. *Indian Journal of Plant Physiology*, 6:103-106. 2001.

COUTINHO, W. M.; ARAÚJO, E.; MAGALHÃES, F. H. L. Efeito de extratos de plantas anacardiáceas e dos fungicidas químicos benomyl e captan sobre a micoflora e qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L). *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 23, n. 3, p. 560-5668, jul./set. 1999

CROUCH, J.A. *Colletotrichum caudatum* s.l. is a species complex. *IMA Fungus* 5, 17e30. 2014.

DAMM, U. et al. *Stud. Mycol.* 92:1. 2019

DAMM, U. et al. The *Colletotrichum boninense* species complex. *Studies in Mycology*, Utrecht, v. 73, p. 1-36, 2012a.

DAMM, U. et al. The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology*, Utrecht, v.73, p. 37– 113, 2012b.

DAMM, U. et al. The *Colletotrichum orbiculare* species complex: Important pathogens of field crops and weeds. *Fungal Diversity*, Kunming, v. 61, p. 29–59, 2013.

DAN, Y.; LIU, H. Y.; GAO, W. W.; CHEN, S. L. Activities of essential oils from *Asarum heterotropoides* var. *Mandshuricum* against five phytopathogens. *Crop Protection*, New York, v. 29, p. 295-299, 2010.

DEAN, R. et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*. v. 13, n. 4, p. 414–430, 2012.

DE SILVA, D.D.; ADES, P.K.; CROUS, P.W.; TAYLOR, P.W.J. *Colletotrichum* species associated with chili anthracnose in Australia. *Plant Pathol.* 66, 254e267. 2016a

DE SILVA, N.I.; LUMYONG, S.; HYDE, K.D.; BULGAKOV, T.; PHILLIPS, A.J.L.; YAN, J.Y. *Mycosphere* Essays 9: Defining biotrophs and hemibiotrophs. *Mycosphere* 7, 545-559. 2016b.

DINIZ, S.P.S.S. et al. Controle do fungo *Myrothecium verrucaria* por óleos essenciais. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.6, n.1, p.60-2, 2003.

DU, M. et al. Using mating-type gene sequences for improved phylogenetic resolution of *Colletotrichum* species complexes. *Mycologia*. v. 97, p. 641-658, 2005.

DURRANT, W.E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, v.42, p.185-209, 2004.

FARR, D.F., ROSSMAN, A.Y. Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. Disponível em: acessado em abril de 2021.

FERNANDES NETO, M.; SARCINELLI, P. N. Agrotóxicos em água para consumo humano: uma abordagem de avaliação de risco e contribuição ao processo de atualização da legislação brasileira. Revista Engenharia Sanitária e Ambiental, Rio de Janeiro, v. 14, n. 1, p. 69-78, jan./mar. 2009.

FERRARI, J.T. Antracnose em Bastão do Imperador. Documento Técnico 003, Instituto Biológico/APTA, São Paulo, p.1-6. 2008.

FERRAZ, S.; LOPES, E.A.; AMORA, D.X. Controle de fitonematoides com o uso de extratos e óleos essenciais de plantas. In: Poltronieri, L. S.; Ishida, A. K. N. (Ed). Métodos alternativos de controle de insetos-praga, doenças e plantas daninhas. Panorama atual e perspectivas na agricultura. Belém: EMBRAPA Amazônia Oriental 2008. p.153-186.

FREEMAN, S. KATAN, T. SHABI, E. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. Plant Disease 82: 596-605, 1998.

FURTADO, D. C. M.; GALVÃO, A. L. B.; AMORIM, E. P.R.; SOARES, L. P. R. Ocorrência de *Colletotrichum gloeosporioides* em *Tapeinochilus ananass* ae no estado de Alagoas. Summa Phytopathol., Botucatu, v. 38, n. 4, p. 343, 2012.

GAN, P.; IKEDA, K.; IRIEDA, H.; NARUSAKA, M.; O'CONNELL, R.J.; NARUSAKA, Y.; TAKANO, Y.; KUBO, Y.; SHIRASU, K. Comparative genomic and transcriptomic analyses reveal the hemibiotrophic stage shift of *Colletotrichum* fungi. New Phytol. 197, 1236e1249. 2013.

GARCIA, R. A. et al. Atividade antifúngica de óleos e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. Bioscience Journal, Uberlândia, v.28, n.1, p.48-57, Jan./Feb. 2012.

GAZIS, R.; REHNER, S.; CHAVERRI, P. Species delimitation in fungal endophyte diversity studies and its implications in ecological and biogeographic inferences. Molecular Ecology. 20:3001-3013. 2011.

GUERBER, J.C., LIU, B., CORREL, J.C., JOHNSTON, P.R. Characterization of diversity in *Colletotrichum acutatum* sensu lato by sequence analysis of two gene introns, mtDNA and intron RFLPs, and mating compatibility. Mycologia 95, 872–895.2003.

GURGEL, L.M.S.; COELHO, R.S.B.; SILVA, R.L.X.; OLIVEIRA, S.M.A.; ROSA, R.C.T.; ASSIS, T.C.; ANDRADE, D.E.G.T. Metodologia alternativa no manejo da antracnose póscolheita em *Heliconia rostrata*. Pesquisa Agropecuária Pernambucana, 19: 20-24, 2014.

HAMMERSCHMIDT, R. & E.K. DANN. Induced resistance to disease. In: RECHCIGL, N.A. & J.E. RECHCIGL. Environmentally Safe Approaches to Crop Disease Control. CRC - Lewis Publishers, Boca Raton (EUA), p. 177-199. 1997.

HAMMOND-KOSACK, K.E.; PARKER, J.E. Deciphering plantpathogen communication: fresh perspectives for molecular resistance breeding. Current Opinion in Biotechnology, v.14, p.177-193, 2003.

HARBORNE, J.B. The Flavonoids: advances in research since 1986. London, Chapman and Hall, 676 p.1993.

HOU, L. W.et al. *Colletotrichum aracearum* and *C. camelliae-japonicae*, two holomorphic new species from China and Japan. Mycosphere. v. 7, n. 8, p. 1111-1123, 2016.

HYDE; K.D.; CAI, L.; CANNON, P.F.; CROUCH, J.A.; CROUS, P.W.; DAMM, U.; GOODWIN, P.H.; CHEN, H.; JOHNSTON, P.R.; JONES, E.B.G.; LIU, Z.Y.; MCKENZIE, E.H.C.; MORIWAKI, J.; NOIREUNG, P.; PENNYCOOK, S.R.; PFENNING, L.H.; PRIHASTUTI, H.; SATO, T.; SHIVAS, R.G.; TAN, Y.P.; TAYLOR, P.W.J.; WEIR, B.S.; YANG, Y.L.; ZHANG, J.Z. *Colletotrichum* - names in current use. Fungal Diversity, Kunming, v. 39, p. 147-182, 2009.

HYDE, K.D.; CAI, L.; MCKENZIE, E.H.C.; YANG, Y.L.; ZHANG, J.Z., PRIHASTUTI, H. *Colletotrichum*: a catalogue of confusion. Fungal Divers. 39, 1e17. 2009.

HYDE, K.D.; NILSSON, R.H.; ALIAS, S.A.; ARIYAWANSA, H.A.; BLAIR, J.E.; CAI, L. One stop shop: backbone trees for important phytopathogenic genera: Fungal Divers. 67, 21e125. 2014.

IBRAFLOR. Instituto Brasileiro de Floricultura. Disponível em: <https://www.ibraflor.com.br/> acessado em novembro de 2020.

INDEX FUNGORUM. disponível em: <
<http://www.indexfungorum.org/Names/NamesRecord.asp?RecordID=170999>>
acessado em julho de 2021.

ISMAN, M.B. Plant essential oils for pest and diseases management. *Crop Protection*, 19: 603-608. 2000.

JANSEN A. M., et al. Antimicrobial activity of essential oils from Greek *Sideritis* species. *Pharmazie*, v.12, n.8. 1987.

JAYAWARDENA, R.S. et al. Notes on currently accepted species of *Colletotrichum*. *Mycosphere*, Guiyang, v. 7, n.8, p. 1192-1260, 2016.

JESUS, C.O. Genes envolvidos na indução de resistência de cafeeiro à *Hemileia vastatrix*. (Dissertação de Mestrado em Fitopatologia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG., 2009.

JOHNSTON, P. R.; JONES, D. Relationships among *Colletotrichum* isolates from fruit-rots assessed using rDNA sequences. *Mycologia*. v. 9, n.3, p. 420-430, 1997.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Balanço do comércio exterior da floricultura brasileira: 2013. [S. l.]: Hórtica Consultoria e Treinamento, 2014.

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*, v. 95, n. 1, p.174-184, 2002.

KIMATI, H. L. et al. Manual de Fitoatologia: doenças das plantas cultivadas. 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres. p.705, 1997.

KNAAK, N.; FIUZA, L. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. *Neotropical Biology and Conservation*, São Leopoldo, v. 5, n. 2, p. 120- 132. 2010.

LAMAS, A. M. Flores: produção, pós-colheita e mercado. Fortaleza: Instituto Frutal, 2004. 109p.

LEE, Y.; KIM, J.; SHIN, S.; LEE, S.; PARK, I. I. Antifungal activity of Myrtaceae essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. *Flavour Fragrance Journal*, Switzerland, v. 23, p. 23-28, jan. 2008.

LIMA, I. B. et al. Pimenteira ornamental submetida a tratamentos com daminozide em vasos com fibra de côco ou areia. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 34, n. 6, suplemento 1, p. 3597- 3610, 2013.

LIMA, J. D. et al. Growth and yield of *anthurium* in response to sawdust mulching. *Ciência Rural*, v. 46, n. 3, p. 440-446, 2016.

LINS, S. R. O.; COELHO, R. S. B. Ocorrência de doenças em plantas ornamentais tropicais no Estado de Pernambuco. *Fitopatologia Brasileira*, v. 29, n.3, p. 332-335. 2004.

LIMA, N. B.; BATISTA, M. V. A.; MORAIS JR, M. A.; BARBOSA, M. A. G.; MICHEREFF, S. J.; HYDE, K. D. CÂMARA, M. P. S. Five *Colletotrichum* species are responsible for mango anthracnose in northeastern Brazil. *Fungal Diversity*, v. 61:p.75–88, 2013.

LINS, S. R.O.; ABREU, M. S.; ALVES, E. Estudos histopatológicos de *Colletotrichum* spp. em plântulas de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira. v. 32, n. 6, p. 488-495, 2007.

LIU, F. et al. Molecular and phenotypic characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease in peppers from Sichuan Province, China. Nature, United Kingdom, v. 6, p. 32761, 2016.

LIU, F. et al. The *Colletotrichum gigasporum* species complex. Persoonia. v. 33, p. 83-97, 2014.

LIU, F.; WEIR, B.S.; DAMM, U.; CROUS, P.W.; WANG, Y.; LIU, B.; WANG, M.; ZHANG, M.; CAI, L. Unravelling *Colletotrichum* species associated with Camellia: employing ApMat and GS loci to resolve species in the *C. gloeosporioides* complex. Persoonia 35, 63-86. 2015.

LO, L.C.; WEIERGANC, I.; BONHAM, C.; HIPSKIND, J.; WOOD, K.; NICHOLSON, R.I. Phytoalexin accumulation in sorghum: identification of a methyl ether of luteolinidin. Physiological and Molecular Plant Pathology, 49:21-31. 1996.

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

LU, G.; CANNON, P.F.; REID, A.; SIMMONS, C.M. Diversity and molecular relationships of endophytic *Colletotrichum* isolates from the Iwokrama forest reserve, Guyana. Mycol. Res. 108, 53-63. 2004.

MIRANDA, J. A. L. et al. Atividade antibacteriana de extratos de folhas de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (Araceae). Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 17, n. 4, p. 1142-1149, 2015.

MORAES, S.R. Infecção e colonização de *Colletotrichum gloeosporioides* em goiaba e infecção de *Colletotrichum acutatum* em folhas de citros. 2009. 114 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2009.

NEGREIROS, R.J.Z.; SALOMÃO, L.C.C.; PEREIRA, O.L.; CECON, P.R.; SIQUEIRA, D.L. Controle da antracnose na pós-colheita de bananas-’prata’ com produtos alternativos aos agrotóxicos convencionais. Revista Brasileira de Fruticultura, 35: 51-58, 2013.

OLIVEIRA, L.F.M. et al. Identification of *Colletotrichum* species associated with brown spot of cactus prickly pear in Brazil. Tropical Plant Pathology. v.43, n. 3, p.247–253, 2018.

OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; CARDOSO, M. G.; GUIMARÃES, L. G. L.; PICCOLI, R. H. Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de *Cymbopogon*. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, v. 13, n. 1, p. 8-16, out. 2011.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In.: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (Eds.) Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos. São Paulo: Ceres, Cap. 22, p.417-452, 1995.

PERES, N.A.R.; KURAMAE, E.E.; DIAS, M.S.C.; SOUZA, N.L. Identification and characterization of *Colletotrichum* spp. affecting fruit after harvest in Brazil. *Journal of Phytopathology*, Berlin, v. 150, n. 3, p. 128-134, 2002.

PITTA, G. P. B.; CARDOSO, E. J. B. N.; CARDOSO, R. M. G. Doenças das plantas ornamentais. São Paulo: Instituto Brasileiro do Livro Científico, 174 p. 1990.

PRIHASTUTI, H. et al. Characterization of *Colletotrichum* species associated with coffee berries in northern Thailand. *Fungal Diversity*, Kunming, v. 39, p. 89-109, 2009.

PURKAYASTHA, R.P. Progress in phytoalexin research during the past 50 years. In: M. DANIEL; R.P. PURKAYASTHA (ed.), *Handbook of Phytoalexin Metabolism and Action*. New York, Marcel Dekker, p. 1- 39.1995.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. Os Reinos dos Fungos. 2. ed. Santa Cruz do Sul: Edunisc, 491 p. 2002.

RAVA, C.A. Eficiência de fungicidas no controle da antracnose e da mancha angular do feijoeiro comum. *Summa Phytopathologica*, 28 (1): 65-69, 2002.

RÉBLOVÁ, M.; GAMS, W.; SEIFERT, K. A. Monilochaetes and allied genera of the Glomerellales, and a reconsideration of families in the Microascales. *Studies in Mycology*. v. 68, p. 163-191, 2011.

RIBAS, P. P., MATSUMURA, A. T. S. A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente. *Revista Liberato*, v.10, n.14, p.149-158. 2009.

RODRIGUES, M.S.; JARDINETTI, V.A.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F; CRUZ, M.E.S. Uso de Moringa oleifera Lam. no controle de *Corynespora casiicola* em tomateiro. In: Silva, G. F.; Bergamasco, R.; Serafini, M. R.; Sant`Anna, M. C. S. Potencialidades da Moringa oleifera Lam. São Cristovão: Editora UFS. v. 3, cap. 33, p. 385-394. 2013.

ROJAS, E. I. et al. *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. associated with *Theobroma cacao* and other plants in Panamá: multilocus phylogenies distinguish host-associated pathogens from asymptomatic endophytes. *Mycology*, New York, v. 102, p. 1318–1338, 2010.

ROMERO, A. L. et al. Atividade do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) contra fungos fitopatogênicos. *UNOPAR Cientia Ciência Biologia Saúde*, v. 11, n. 4, p. 15-18, 2009.

SALGADO, S.M.L. & V.P. CAMPOS. Extratos naturais na patogenicidade e reprodução de *Meloidogyne exiguaem* cafeeiro e de *Meloidogyne incógnita* raça 3 em feijoeiro. *Nematologia Brasileira*, 27 (1): 41-48. 2003.

SANDERS, G.M.; KORSTEN, L. A comparative morphological study of South African avocado and mango isolates of *Colletotrichum gloeosporioides*. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v. 81, p. 877-885, 2003.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F., J.R. STANGARLIN & M.E. S. CRUZ. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. *Fitopatologia Brasileira*, 28: 54-56, Suplemento. 2003.

SERRA, I.M.R.S.; COELHO, R.S.B.; MENEZES, M.M. Caracterização fisiológica, patogênica e análise isoenzimática de isolados monospóricos e multiespóricos de

Colletotrichum gloeosporioides. Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Departamento de Agronomia / Fitossanidade. Summa Phytopathologica: Botucatu, 2008.

SILVA, A. C.; SALES, N. L. P.; ARAÚJO, A. V.; CALDEIRA JÚNIOR, C. F. Efeito in vitro de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. isolado do maracujazeiro. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 33, n. esp., p. 1853 - 1860, 2009.

SHARMA, G.; KUMAR, N.; WEIR, B.S.; HYDE, K.D.; SHENOY, D.B. The ApMat marker can resolve *Colletotrichum* species: a case study with *Mangifera indica*. Fungal Diversity 61:117–138. 2013.

SHARMA, G.; SHENOY, B.D. *Colletotrichum fruticola* and *C. siamense* are involved in chilli anthracnose in India. Arch. Phytopathol. Plant Prot. 47, 1179-1194. 2014.

SILVA, C. G. et al. Fitossanidade em plantas tropicais no estado de mato grosso, enciclopédia biosfera. Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 11, n. 22, p. 1290, 2015.

SILVA, J.R.A. et al. Molecular and morpho-cultural characterization of *Colletotrichum* spp. associated with anthracnose on *Capsicum* spp. in northeastern Brazil. Tropical Plant Pathology, Viçosa, v. 42, n. 4, p. 315-319, 2017.

SREENIVASAPRASAD, S.; TALHINHAS, P. Genotypic and phenotypic diversity in *Colletotrichum acutatum*, a cosmopolitan pathogen causing anthracnose on a wide range of hosts. Mol. Plant Pathol. 6, 361-378. 2005.

SOLOGUREN, F.J.; JULIATTI, F.C. Doenças fúngicas em plantas ornamentais em Uberlândia-MG. Bioscience Journal, Uberlândia, v. 23, n. 2, p. 42-52, 2007.

SOYLU, E. M.; KURT, S.; SOYLU, S. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 143, p. 183- 189, ago. 2010.

STANGARLIN, J. R., et al. Plantas medicinais e o controle alternativo de fitopatógenos. Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento, v.11, p.16-21. 1999.

SUTTON, B. C. The Coelomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew Surrey, England, 1980.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Plant physiology. 2. ed. Massachusetts: Sinauer Associates, 1998.

TALHINHAS, P. et al. Genetic and morphological characterization of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose of lupins. Phytopathology. v. 92, n. 9, p. 986-996, 2002.

TOMBOLATO, A. F. C.; CASTRO, A. C. R. Araceae. In: TERAPO, D.; CARVALHO, A. C. P. P.; BARROSO, T. C. S. F. Flores tropicais: tropical flowers. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. p. 42-57. 2005.

TOMBOLATO, A. F. C. Cultivo comercial de plantas ornamentais. Campinas, SP: Instituto Agrônomo, 2004.

TORRES, G. O. O.; CROAT, T. B. Tres nuevas especies de *Anthurium*, (Araceae), para Colombia, Tolima, Ibagué, Cañon del Combeima. *Rodriguésia*, v. 66, n. 3, p. 769-777, 2015.

TOZZE JÚNIOR, H. J.; FIRMINO, A. C.; FISCHER, I. H.; FURTADO, E. L., MASSOLA, N. S. Caracterização de isolados de *Colletotrichum* spp. associados às frutíferas no Estado de São Paulo. *Summa Phytopathology, Botucatu*, v. 41, n. 4, p. 270-280, 2015.

UNEMOTO, L. K. Cultivo de bastão do imperador [*Etilingera elatior* (Jack) R. M. Smith] em diferentes espaçamentos no Norte do Paraná. Londrina, 2010. 70 f. : il. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2010.

VAN LOON, L.C. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. *European Journal of Plant Pathology*, v.103, p.753-765, 1997.

VAN LOON, L.C.; VAN STRIEN, E.A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v.55, p.85-97, 1999.

ZHAO, H. et al. Stress stimulus induced resistance to *Cladosporium cucumerinum* in cucumber seeding. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 44:36-40. 2005.

VIEIRA, W.A.; MICHEREFF, S.J.; MORAIS, M.A.; HYDE, K.D.; CACMARA, M.P. Endophytic species of *Colletotrichum* associated with mango in northeastern Brazil. *Fungal Divers.* 67, 181e202. 2014.

VON ARX, J. A. Revision der zu Gloeosporium gestellten Pilze. Amsterdam: N. V.Noord-HollandscheUitgevers Maatschappij, 157p. 1957.

WEIR, B.S., JOHNSTON, P.R., and DAMM, U. 2012. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology* 73: 115-180p.

**CAPÍTULO 1: IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Colletotrichum*
ASSOCIADAS À ANTRACNOSE EM FLORES TROPICAIS, NO NORDESTE
BRASILEIRO, ATRAVÉS DA CARACTERIZAÇÃO MORFOCULTURAL E
MOLECULAR**

RESUMO

As plantas ornamentais apresentam características que atraem os consumidores, devido sua estética, além de favorecer um ambiente melhor, assim como atividades de lazer, como a jardinagem. Flores e plantas ornamentais frequentemente são acometidas por fungos, que apresentam maior frequência em tempos de chuva, causando doenças que reduzem a produtividade. A antracnose se destaca entre essas doenças, tendo como agente causal espécies do gênero *Colletotrichum*. Buscando contribuir para o aumento do conhecimento das espécies causadoras de antracnose em bastão do imperador, alpinia e antúrio, no Nordeste brasileiro, os objetivos deste trabalho foram identificar espécies do gênero *Colletotrichum* através da caracterização molecular e morfocultural obtidas a partir de flores tropicais, bem como avaliar a patogenicidade cruzada. Para a caracterização molecular o DNA genômico dos isolados, foi obtido pelo protocolo CTAB 2% com modificações. A sequência parcial do gene gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (*GAPDH*) foi amplificada usando os primers GDF/GDR, para uma identificação preliminar dos isolados e avaliação da diversidade haplotípica das espécies. Posteriormente, representantes de cada espécie, baseado nos haplótipos, foram amplificados com outros genes, β -tubulina (*TUB2*), Chitina synthase (*CHS-1*), Mating type locus MAT1-2-1 (APN2/MAT-IGS) e a região ITS-rDNA. A caracterização cultural consistiu na obtenção do crescimento micelial das colônias, através de mensuração diária em duas direções diametricamente opostas e observação da coloração das colônias avaliadas após sete dias. A caracterização morfológica foi baseada na forma e tamanho de 50 conídios e apressórios. As medidas de comprimento e largura foram obtidas através de imagens capturadas por câmera digital acoplada ao microscópio óptico com aumento de 400x, através do software Cellsenses Standard. As espécies *Colletotrichum* sp., *C. siamense*, *C. tropicale*, *C. fructicola* e *C. theobromicola* estão associadas à antracnose em flores de bastão do imperador, antúrio e alpinia no Nordeste brasileiro. Este é o primeiro relato de *C. fructicola* e *C. theobromicola* em *Alpinia purpurata* no mundo. As estruturas reprodutivas (conídios e apressórios) foram observadas em grande quantidade e os dados referentes ao comprimento e largura se assemelham aos aspectos das espécies do complexo *gloeosporioides* e do complexo *orchidearum*.

Palavras - chave: flor de corte, inflorescência, pós-colheita, doença, fungo.

1. INTRODUÇÃO

A beleza de suas flores, extremamente variadas em tamanho, forma, cor e fragrância e a possibilidade de seu uso em paisagismo, fazem da floricultura tropical uma das atividades agrícolas mais promissoras no Mercado internacional que encontra o Brasil, um fornecedor natural e privilegiado, pela sua rica biodiversidade, sustentada por climas e solos propícios dos seus variados ecossistemas (DE, 2017; KULIGOWSKA et al., 2016; SIVIERO et al., 2014; SU et al., 2019).

O Brasil apresenta em torno de 8.300 produtores, além dos 60 centros de atacado, dos quais pertencem os 680 atacadistas, distribuídos em cerca de 20 mil comércios de varejo. A área de cultivo é em torno de 15.600 ha, colocando o país na oitava posição dentre os maiores produtores mundiais, de plantas ornamentais. Chega a 210 mil postos de trabalho no ramo, dentre os quais 54% são vagas de varejo, 39% das vagas são da produção, 4% destinadas ao atacado e 3% ocupam outras funções (IBRAFLOR, 2020).

Em pesquisas realizadas em 2020, foi observado que o setor passa por prejuízos, ocasionadas pelo isolamento social decretado, visando não propagar o coronavírus, onde R\$ 297,7 milhões foi o valor que deixou de ser faturado até o mês de março. Já os prejuízos para o mês de abril foram calculados em torno de R\$ 669,8 milhões, reunindo produtores e vendedores. Segundo dados apresentados pelo IBRAFLOR (2020), a continuidade da quarentena, mostrou uma provável falência de quase todos os produtores de flores e folhagens de corte, devido ao cancelamento de diversos eventos, assim como pelo fechamento dos pontos de revenda. Tais fatos, levaram o IBRAFLOR a sensibilizar o Governo Federal, através do Ministério da Agricultura, e os governos estaduais, pela flexibilização das normas para o setor, que mobiliza em torno de R\$ 8,67 bilhões e que tem a participação na geração de empregos em torno de 50% e 30% do comércio.

Flores e plantas ornamentais frequentemente são acometidas por fungos, que apresentam maior frequência em tempos de chuva, causando doenças que reduzem a produtividade (SARDINHA et al., 2012). A antracnose se destaca entre essas doenças, tendo como agente causal espécies do gênero *Colletotrichum*, que ocorre de modo corriqueiro. Furtado et al., (2012), descreveu a ocorrência da antracnose em em

inflorescência de *Tapeinochilos* causadas por *C. gloesporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., em Alagoas.

Para identificar as espécies de *Colletotrichum*, inicialmente eram levados em consideração os aspectos morfológicos, culturais e hospedeiro (MUÑOZ et al., 2000), que demonstraram elevada ambiguidade na taxonomia entre as espécies do gênero, devido a sobreposição de características morfológicas e a pequena divergência genética encontradas nos diferentes complexos de espécies (CANNON et al., 2012). A utilização de informações moleculares, assim como a análise sequencial multigênica tem resultado em diversas mudanças na taxonomia do gênero *Colletotrichum*, assim como de *C. gloesporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. (CAI et al., 2011 ; JAYAWARDENA et al., 2020).

Buscando a contribuição para o aumento do conhecimento das espécies causadoras de antracnose em bastão do imperador, alpinia e antúrio, no Nordeste brasileiro, os objetivos deste trabalho foram identificar espécies do gênero *Colletotrichum* através da caracterização molecular e morfocultural obtidas a partir dessas flores tropicais, bem como avaliar a patogenicidade cruzada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

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

2.1 Obtenção dos isolados

Flores de Bastão do Imperador, Alpinia e Antúrio apresentando sintomas característicos de antracnose foram coletadas em plantios (um em cada estado) de Flores Tropicais nos Estados do Ceará (Guaramiranga e Pacoti), Alagoas (Maribondo) e Pernambuco (Cabo de Santo Agostinho). O material foi lavado em água corrente e seco em temperatura ambiente, onde fragmentos foram retirados da área de transição do tecido sadio/doente. Os fragmentos foram desinfestados com etanol 70% por 30s, para a quebra da tensão superficial, 1% de NaClO por 1 min, lavados em água destilada estéril

(ADE) por duas vezes e secos em papel filtro esterilizado. Posteriormente, os mesmos foram depositados em placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) e mantidos a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas, até o desenvolvimento do patógeno. Após a esporulação os isolados foram previamente identificados de acordo com suas características morfológicas, inseridos ao gênero *Colletotrichum* (SUTTON, 1980; WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012).

Para obtenção das culturas puras, isolados foram cultivados em placas de Petri contendo meio ágar-água (AA), e após 24 horas foi retirada um fragmento da extremidade da hifa, com o auxílio de um microscópio estereoscópico (lupa), e transferido para uma nova placa de Petri contendo meio BDA. Posteriormente, os isolados monospóricos foram preservados pelo método de armazenamento em Castellani (1967) e em tubos contendo BDA.

2.2 Teste de Patogenicidade em diferentes hospedeiros

Os isolados foram testados quanto à patogenicidade em seus hospedeiros de origem (bastão do imperador, alpínia e antúrio), além disso, foi realizada a patogenicidade cruzada, ou seja, isolados provenientes de bastão do imperador foram testados em alpínia e antúrio, assim como, os isolados de alpínia foram testados antúrio e bastão do imperador e, por fim, os isolados de antúrio foram testados em alpínia e bastão do imperador.

A inoculação foi realizada em flores assintomáticas, obtidas de uma área comercial, localizada no município de Maribondo, sendo essas flores lavadas em água corrente e secas em temperatura ambiente. Nas flores foram realizados ferimentos com auxílio de uma agulha estéril, onde foram depositados disco de 5 mm contendo crescimento fúngico. As flores foram mantidas em condições de câmara úmida por 48 horas, em frascos de erlenmeyer contendo uma solução de água e sulfato de cálcio (qual concentração), para manter a durabilidade das flores. Para cada isolado foram realizadas quatro repetições (cada repetição foi o que? Flores ou ferimentos?). A testemunha consistiu de disco contendo apenas BDA. Posteriormente, após a retirada da câmara úmida, as flores foram mantidas em condições ambientais à temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 h. As avaliações ocorreram quando os sintomas característicos da doença começaram a se desenvolver. O patógeno foi reisolado para comprovar a patogenicidade completando, assim, os postulados de Koch (KOCH, 1882).

2.3 Sequenciamento e análises filogenéticas

Culturas monospóricas foram cultivadas em meio de cultura L-asparagina (ZAUZA; ALFENAS; MAFIA, 2007), durante cinco dias à temperatura ambiente para obtenção da massa micelial. Posteriormente, o DNA total dos isolados foi extraído utilizando o protocolo de Doyle; Doyle (1987) e a qualidade foi estimada visualmente em gel de agarose a 0,8% e corados com brometo de etídio e observados sob luz UV. O material foi armazenado sob temperatura de -20°C. O DNA dos isolados foi utilizado como molde para a amplificação por PCR da sequência parcial do gene gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (*GAPDH*) usando o par de primers GDF1 e GDR1 (TEMPLETON et al., 1992). Isolados representativos das espécies de *Colletotrichum* identificadas com o gene *GAPDH* foram escolhidos como medida inicial para demonstrar a gama de diversidade de espécies e origem geográfica. Em seguida, foram amplificados por PCR as sequências parciais do gene β -tubulina (*TUB2*), Chitina synthase (*CHS-1*) e região rDNA Internal transcribed spacer (ITS) para as espécies do complexo *C. orchidearum*. No entanto, para as espécies do complexo *C. gloeosporioides* utilizou as sequências parciais do gene β -tubulina (*TUB2*), Mating type locus MAT1-2-1 (APN2/MAT-IGS) e região rDNA Internal transcribed spacer (ITS) (Tabela 1).

Tabela 1 – Primers utilizados para identificação das espécies do gênero *Colletotrichum*

Gene	Primer	Sequência (5' a 3')	Referências
<i>GAPDH</i>	GDR1	GGGTGGAGTCGTACTIONGAGCATG	Guerber et al. 2003
	GDF1	GCCGTCAACGACCCCTTCATTGA	
<i>TUB2</i>	T1	AACATGCGTGAGATTGTAAGT	O'Donnell e Cigelnik (1997)
	T2	TAGTGACCCTTGGCCCAGTTG	
	BT2b	ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC	Glass e Donaldson (1995)
	BT2a	GGTAACCAAATCGGTGCTGCTT TC	

MAT1-2-1	CgDLF6	AGTGGAGGGCGGGACGTT	
	CgMAT1F2	TGATGTATCCCGACTACCG	
ITS	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	White et al. 1990
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	
	CHS-79F	TGG GGC AAG GAT GCT TGG AAG AAG	
CHS-1	CHS-345R	TGG AAG AAC CAT CTG TGA GAG TTG	Carbone & Kohn 1999

As condições de ciclagem da PCR para o gene *GAPDH* foram compostas por desnaturação inicial a 95 °C por 4 min, seguido de 35 ciclos a 95 °C por 30 s, 60 °C por 30 s, 72 °C por 45 s e um ciclo final a 72 °C durante 7 min. A temperatura de anelamento para *TUB2* foi 55 °C e para *CHS-1* foi de 58 °C. Para a região ITS a condição de ciclagem da PCR consistiu de desnaturação inicial a 95 °C por 2 min, seguido de 38 ciclos a 95 °C por 1 s, 55 °C por 30 s, 72 °C por 45 s e um ciclo final a 72 °C durante 10 min. Já para o gene (*MAT1-2-1*) foi utilizado uma desnaturação inicial a 95 °C por 3 min, seguido por 35 ciclos de 30 s a 95 °C, 45 s a 62 °C e 1 min a 72 °C, com uma extensão final de 10 min a 72 °C. Cada mix das reações de PCR foi composto por: tampão 10X (3 µL), MgCl₂ 50 mM (0.9 µL), 10 mM DNTP's (2.4 µL), 10 µM de cada oligonucleotídeo (2 µL), 1U Taq DNA polimerase (0.2 µL) e DNA (1µL, 25ng/µL). O volume final da reação foi ajustado para 30 µL com água deionizada (Milli-Q) esterilizada. Produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1 %, corados em brometo de etídeo e examinados sob luz ultravioleta (UV). Amostras positivas para PCR foram enviadas para sequenciamento na empresa Macrogen Inc., Seoul, Coréia do Sul.

Sequências consenso foram montadas utilizando o software Staden Package. Estas foram primeiramente confrontadas com o banco de dados de sequências do GenBank usando o algoritmo BLASTn objetivando a determinação das espécies em que há um compartilhamento de uma elevada identidade de sequência. Fundamentado na resulta da análise BLASTn, sequências de isolados tipo e diferentes referências de

espécies de *Colletotrichum* disponibilizadas no GenBank para cada gene e região genômica, foram adquiridas para as análises filogenéticas (Tabela Suplementar 1). Alinhamentos múltiplos de sequências foram montadas usando o algoritmo MUSCLE (EDGAR, 2004), disponível no software MEGA v.7 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) (TAMURA et al., 2011) para os conjuntos de dados.

As análises de inferência bayesiana (BI) foram preparadas com todas as sequências para o gene *GAPDH* e multi-locus para os isolados representantes das espécies identificadas, usando os genes *GAPDH*, *CHS-1*, *TUB2* e região ITS para os isolados do complexo *C. orchidearum* e *GAPDH*, *MAT1-2-1*, *TUB2* e região ITS para os isolados do complexo *C. gloeosporioides*. Os modelos de substituição de nucleotídeos foram estimados separadamente para cada região gênica com Mr. Modeltest 2.3 (POSADA; BUCKLEY 2004) de acordo ao Akaike Information Criterion (AIC).

As filogenias fundamentadas em BI foram inferidas no MrBayes v. 3.0 b4 (RONQUIST; HUELSENBECK, 2003) empregado o método da Markov Chain Monte Carlo (MCMC) no CIPRES web portal (<http://www.phylo.org>). Quatro cadeias MCMC foram conduzidas de modo simultâneo, iniciando as árvores aleatoriamente até 10 milhões de gerações, para cada conjunto de dados. As árvores foram amostradas a cada 1.000 gerações resultando em 10.000 árvores. As primeiras 2.500 árvores foram excluídas da análise, como uma fase de *burn-in*. Os valores de probabilidade posterior (RANNALA; YANG, 1996) foram definidos a partir de uma árvore consenso *majority-rule* gerada com as 7.500 árvores remanescentes. As árvores foram visualizadas no programa FigTree v. 1.4 (ztree.bio.ed.ac.uk/software/figtree) e editadas no programa Inkscape 0.91 (<https://inkscape.org/pt-br/release/inkscape-0.91>). A espécie *Colletotrichum boninense* (CBS123755) foi utilizada como grupo externo (outgroup) nas análises do complexo *C. gloeosporioides* e *C. orchidearum*.

2.4 Caracterização Morfocultural

Isolados representativos de *Colletotrichum* spp. identificados com fundamentos nas análises filogenéticas multi-locus foram designados para caracterização morfológica e cultural.

O comprimento e largura de cinquenta conídios e apressórios das espécies de

Colletotrichum foram mensurados a partir da deposição de uma gota (40 µL) de ADE junto com os conídios em lâmina de vidro estéril mantidas em placa de Petri forrada com papel filtro umedecido com ADE, para manter o ambiente propício e permitir a germinação dos conídios e formação dos apressórios. Após 24 horas, as imagens dos conídios e apressórios foram obtidas em microscópio (Olympus CKX41SF, software de captura de imagem CellSens Standard – Olympus 2010).

A caracterização cultural foi determinada a partir do crescimento de um plug de micélio (5 mm) com 7 dias depositado em placa de Petri contendo meio BDA sintético e mantido em estufa incubadora BOD com temperatura de 25 °C ± 1°C e fotoperíodo de 12 h. Foram utilizados 5 repetições por isolado. A velocidade de crescimento micelial foi determinada através da mensuração do diâmetro das colônias (mm) diariamente por 7 dias. As características e cor das colônias também foram analisadas e registradas.

Os dados obtidos no crescimento micelial, comprimento e largura dos conídios e apressórios das espécies de *Colletotrichum* foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa Sistema de análise de variância para dados balanceados (SISVAR), desenvolvido por Ferreira (2000).

3. RESULTADOS

3.1 Obtenção dos isolados e patogenicidade em diferentes hospedeiros.

Trinta isolados foram obtidos de flores de bastão do imperador, alpinia e antúrio apresentando sintomas característicos de antracnose nas áreas de plantio, sendo 8 isolados obtidos de alpinia, 10 de antúrio e 12 de bastão do imperador (Tabela 2).

Tabela 2: Número de isolados de *Colletotrichum* sp. provenientes de alpinia, antúrio e bastão do imperador dos Estados do Ceará, Pernambuco e Alagoas.

ISOLADOS	ESTADOS		
	CEARÁ	PERNAMBUCO	ALAGOAS
TOTAL	1	9	10
	1		

ALPÍNIA		2	4	2
ANTÚRIO		2	3	5
BASTÃO	DO	7	2	3
IMPERADOR				

As amostras dos isolados apresentaram sintomas característicos de antracnose como, manchas necróticas e depressões, após 4 dias da inoculação, enquanto as testemunhas permaneceram sadias.

No teste de patogenicidade cruzada, as espécies de *Colletotrichum* induziram lesões necróticas deprimidas, encharcadas, marrom-escuro e com tamanhos variáveis, nas inflorescências de bastão do imperador, alpínia e antúrio, após 4 dias da inoculação, com exceção dos isolados ALAN101 (*C. siamense*) proveniente de antúrio que não foi patogênico as espécies de bastão do imperador e alpínia, e o isolado BAGU21 (*C. tropicale*) proveniente de bastão do imperador, que não apresentou patogenicidade em alpínia (Figura 1). As testemunhas não apresentaram sintomas. Os isolados com seus respectivos hospedeiros de origem estão descritos na Tabela 3.



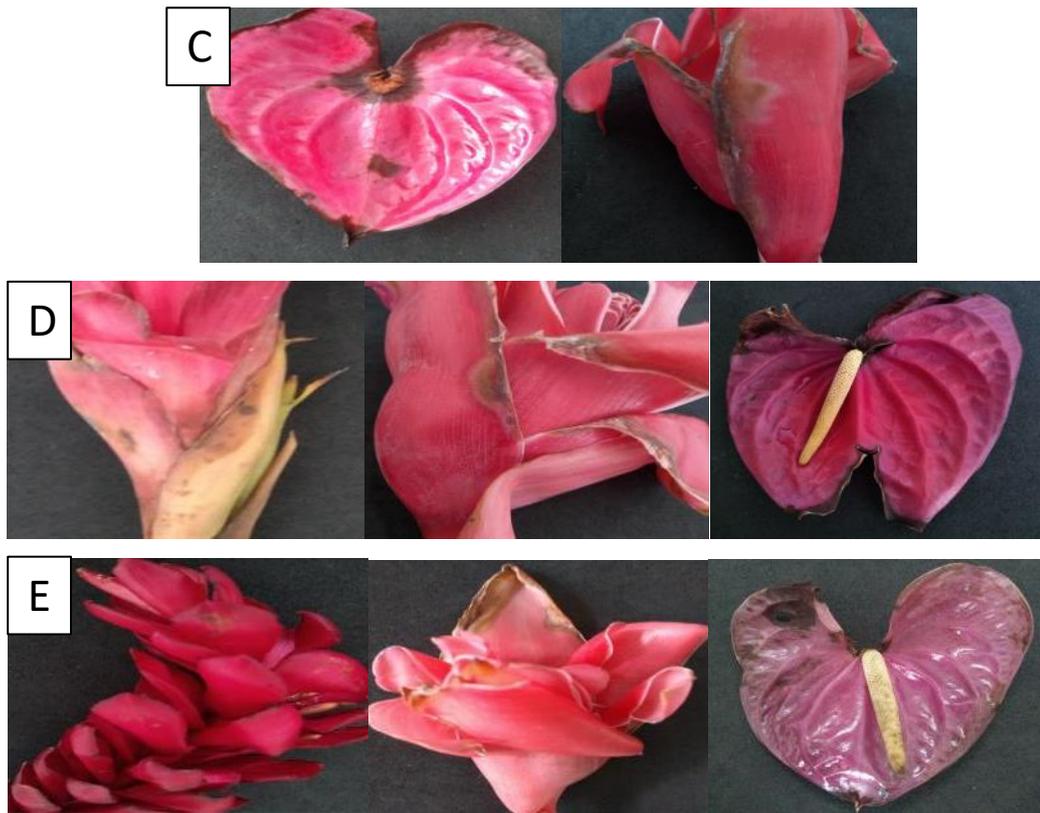


Figura 1: Teste de Patogenicidade Cruzada dos isolados provenientes de alpínia, antúrio e bastão do Imperador. A: ALCA4 e B: ALAN9, C: BAGU21, D: ALME4, E: ALGU11.

Tabela 3: Isolados e seus respectivos hospedeiros de origem dos Estados do Ceará, Pernambuco e Alagoas.

ISOLADOS	HOSPEDEIRO- ORIGEM
<i>C. orchidearum</i>	
ALAN12	ANTÚRIO
ALAN9	ANTÚRIO
<i>C. theobromicola</i>	
ALME4	ALPINIA
<i>C. siamense</i>	
BAGU17	BASTÃO DO IMPERADOR
ALBA16	ALPINIA
ALAN101	ANTÚRIO
ALGU11	ALPINIA
BAALPE2	BASTÃO DO IMPERADOR
<i>C. tropicale</i>	
BAGU21	BASTÃO DO IMPERADOR
BAGU1	BASTÃO DO IMPERADOR
<i>C. fructicola</i>	
ALCA4	ALPINIA
ALCAPE2	ALPINIA
ANGU71	ANTÚRIO

O aparecimento dos sintomas e o reisolamento do fungo em meio BDA sintético confirmaram a patogenicidade do isolado, de acordo com os postulados de Kock.

3.2 Análises filogenéticas

Inicialmente, a análise das sequências parciais do gene *GAPDH* foi realizada com trinta isolados, provenientes de flores de alpínia, antúrio e bastão do imperador, indicando a presença de dois complexos (*C. gloeosporioides* e *C. orchidearum*) pertencentes ao gênero *Colletotrichum*. Buscando a confirmação das espécies encontradas na análise com o gene *GAPDH*, treze isolados foram selecionados e submetidos a análises filogenéticas concatenadas com os genes *GAPDH*, *MAT1-2-1*, *TUB2* e região ITS para os isolados do complexo *C. gloeosporioides* e *GAPDH*, *CHS-1*, *TUB2* e região ITS do rDNA para o complexo *C. orchidearum*.

As filogenias multi-locus inferidas por BI permitiram à identificação de quatro espécies dentro de dois complexos do gênero *Colletotrichum*. Onze isolados foram atribuídos ao complexo *gloeosporioides* em clados bem suportados, sendo ALCAPE2, ANGU71 e ALCA4 com a espécie *C. fructicola*; ALME4 a espécie *C. theobromicola*; BAGU21 e BAGU1 a espécie *C. tropicale* e BAGU17, ALBA16, ALAN101, ALGU11, BAALPE2 a espécie *C. siamense* (Figura 2).

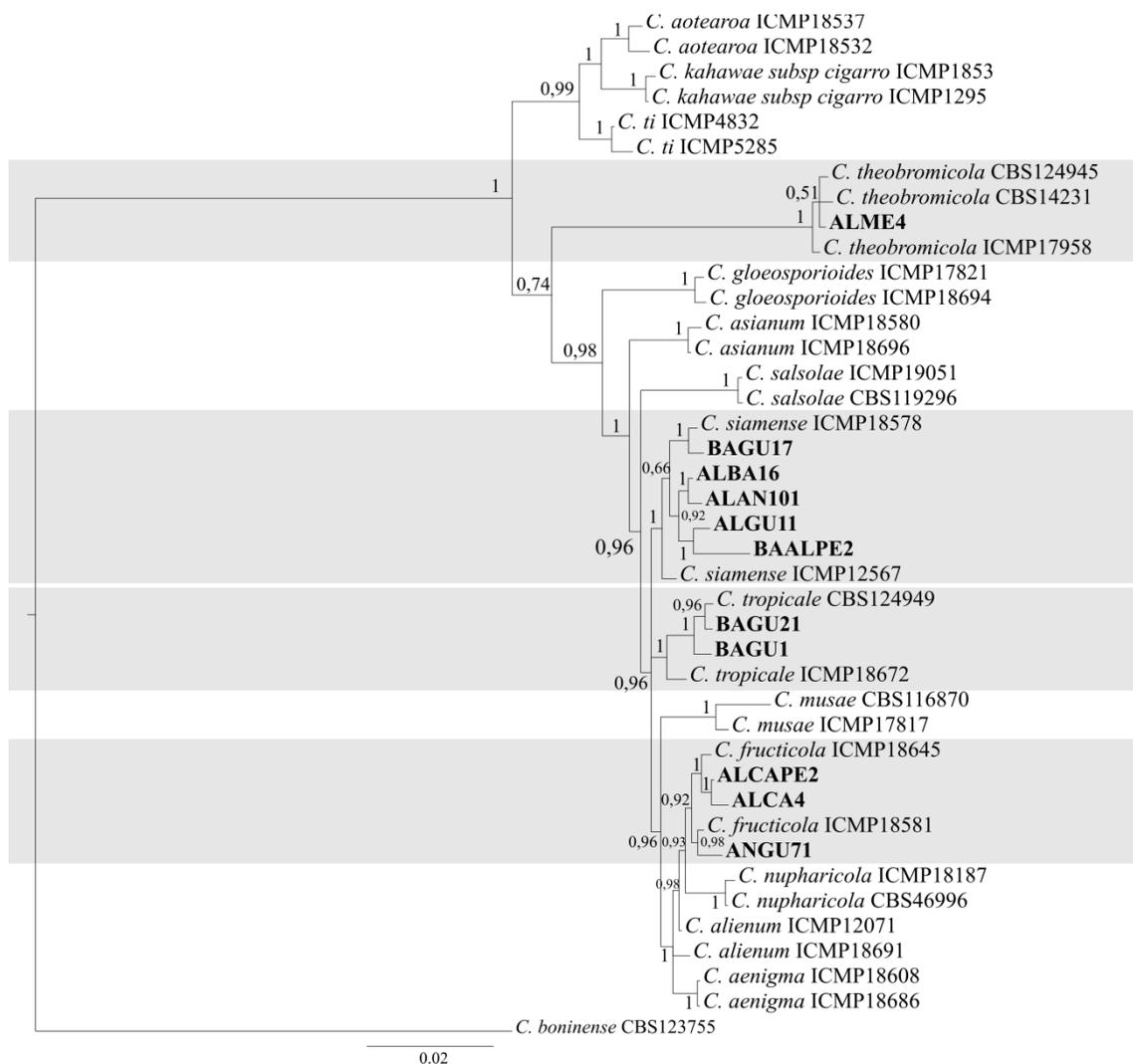


Figura 2: Árvore filogenética multi-locus inferida a partir da análise bayesiana utilizando *GAPDH*, *TUB2* e região ITS para espécies do complexo *Colletotrichum gloeosporioides*. Os valores da probabilidade posterior > 0,4 estão indicados acima dos nós. As culturas ex-tipo são marcadas com um asterisco. Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Colletotrichum boninense*

A filogenia das espécies dos complexos *C. orchidearum* incluíram dois isolados (ALAN9 e ALAN12), que foram agrupados em um clado com alto suporte de probabilidade posterior Bayesiana. Esses isolados foram provenientes do município de Maribondo e de acordo com estudos no algoritmo BLASTn observou valores de identidade 100 % com a espécie *C. orchidearum*, pertencente ao complexo *orchidearum* (Figura 3).

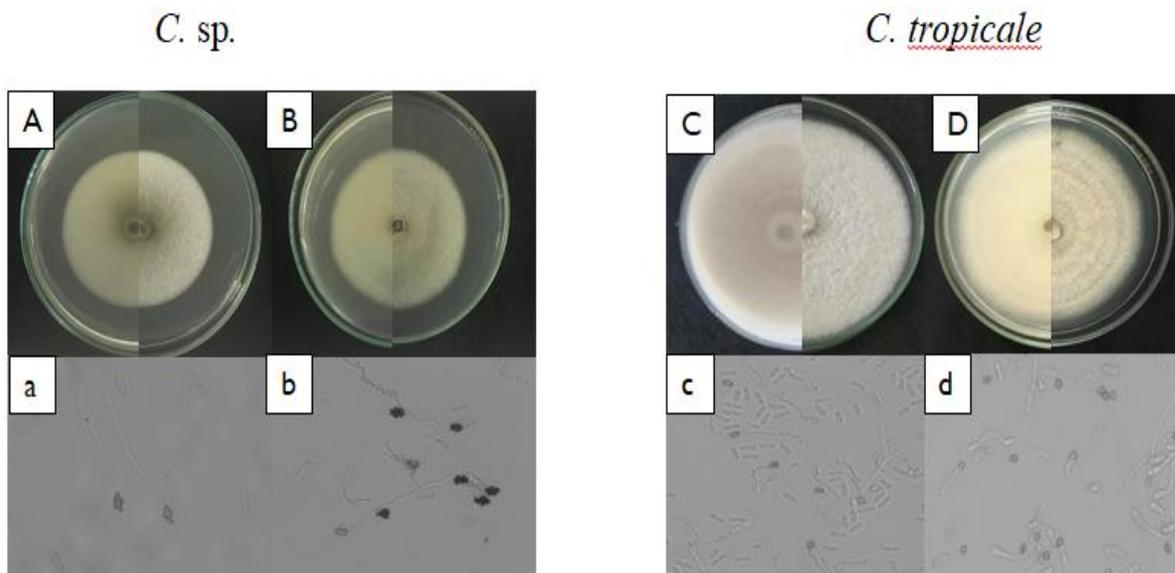


Figura 3- Árvore filogenética de Inferência Bayesiana do complexo de espécies *Colletotrichum orchidearum* com base em sequências concatenadas dos genes GAPDH, TUB2 e CHS-1 e da região ITS. *Colletotrichum boninense* foi utilizado como grupo externo. Os isolados obtidos neste estudo estão destacados em negrito. As culturas tipo estão marcadas com um asterisco. A barra de escala (0,03) representa substituições de nucleotídeos por sítio.

3.3 Caracterização Morfocultural

As espécies de *Colletotrichum* identificadas com base nas análises filogenéticas foram utilizadas para os estudos detalhados dos aspectos morfológicos e culturais (Tabela 4).

Os aspectos culturais das colônias relacionados com a coloração do micélio desenvolvido em meio BDA sintético demonstraram heterogeneidade, onde a cor principal foi branca, com modificações no centro da placa (Figura 4). Os isolados ALAN 12 e ALAN 9 (complexo *orchidearum*) apresentaram menor crescimento micelial (0,83 e 0,88 cm/dia, respectivamente), enquanto que os outros isolados não apresentaram diferença estatística entre si. Já os isolados do complexo *gloeosporioides*, mesmo não apresentando diferença estatísticas entre si, é possível observar que o isolado BAGU17, apresentou menor valor de crescimento micelial (0,96 cm/dia) e ALGU11 apresentou maior crescimento micelial (1,30 cm/dia), isolados provenientes de bastão do imperador e alpinia, respectivamente (Tabela 4).



C. siamense

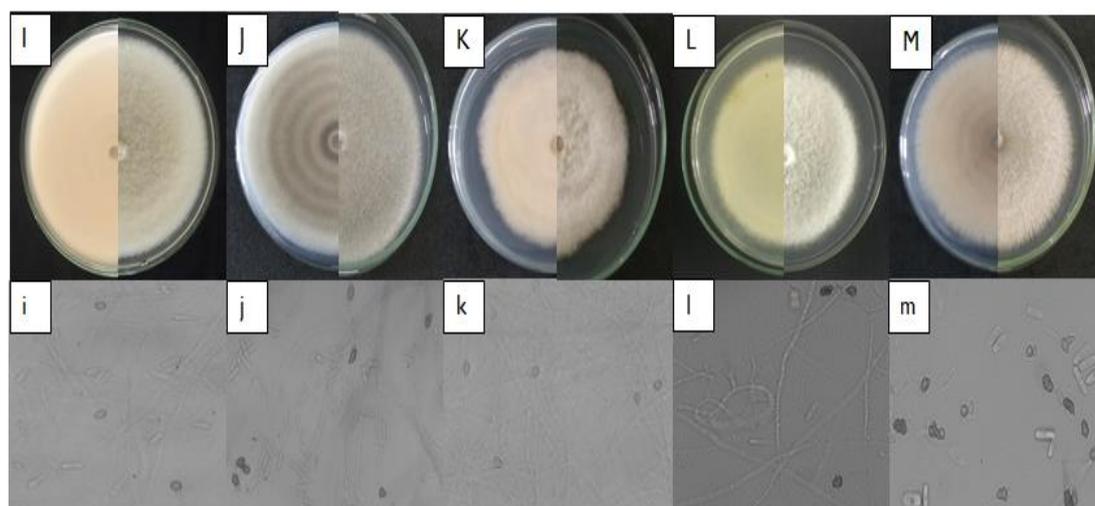


Figura 4 - Características morfo-culturais das espécies de *Colletotrichum*. **A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M** - Aspectos das colônias. **a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l, m** – Conídios e apressórios de *Colletotrichum* spp.

As estruturas reprodutivas (conídios e apressórios) foram observadas em grande quantidade (Figura 4), em que os dados referentes ao comprimento e largura se assemelham aos aspectos das espécies do complexo *gloeosporioides* (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012) e complexo *orchidearum* (DAMM et al., 2019).

Tabela 4 - Resumo dos dados morfo-culturais das espécies de *Colletotrichum*.

	<u>Conídios</u>				<u>Apressórios</u>		
	Cor*	IVCM(cm/dia)*	C*	L*	C*	L*	
Conídios							
<i>C. orchidearum</i>							
ALAN12	1	0,83a	20,98b	6,83e	13,44c	10,05d	Cilíndrico
ALAN9	1	0,88a	18,99b	5,51d	14,49d	14,16e	Cilíndrico
<i>C. theobromicola</i>							

ALME4	1	1,21b	16,87a	4,95b	9,91a	6,65a	Cilíndrico
<i>C. siamense</i>							
BAGU17	1	0,96b	13,55a	5,96a	7,86a	7,22c	Cilíndrico
ALBA16	2	1,09b	15,23a	6,30d	9,74b	7,06c	Cilíndrico
ALAN101	1	1,22b	14,65a	4,36a	10,21b	6,90b	Cilíndrico
ALGU11	1	1,30b	14,61b	6,08c	10,33b	7,55c	Cilíndrico
BAALPE2	2	1,03b	19,21b	5,89c	11,49c	6,91c	Cilíndrico
<i>C. tropicale</i>							
BAGU21	1	1,27b	17,08b	6,37d	9,85b	7,09c	Cilíndrico
BAGU1	1	1,15b	13,55a	5,96c	8,31a	6,60b	Cilíndrico
<i>C. fructicola</i>							
ALCA4	1	1,16b	17,07b	5,08b	10,27b	6,44b	Cilíndrico
ALCAPE2	1	1,22b	15,10a	5,99c	9,99b	7,27c	Cilíndrico
ANGU71	2	1,34b	14,84a	5,67c	10,73b	7,20c	Cilíndrico

Cor*: 1- branco com reverso branco/cinza/salmão e 2- cinza com reverso branco/cinza/salmão

4. DISCUSSÃO

No desenvolvimento desse estudo, foi possível identificar cinco espécies de *Colletotrichum* incluídas em dois complexos. *Colletotrichum tropicale*, *C. fructicola*, *C. siamense* e *C. theobromicola* incluídas no complexo *C. gloeosporioides* e o *C. orchidearum* no complexo *C. orchidearum*.

A espécie *C. orchidearum* está inserida no complexo *C. orchidearum* que foi descrito inicialmente por Allescher (1902) em três diferentes espécies de Orchidaceae (DAMM et al., 2019). Posteriormente, Xu et al., (2016) identificaram *C.*

orchidearum em *Arctium lappa* (Asteraceae) na China, apresentando sintomas inicialmente com pequenas manchas circulares, levemente deprimidas e encharcadas, que evoluíam para lesões maiores e marrons, irregulares e numerosas. Farr e Rossman (2017) relataram essa espécie em diversos hospedeiros de Orchidaceae na Ásia, África e países Latino-americanos. O isolamento de *C. orchidearum* foi confirmado em *Monstera deliciao* (Araceae) na China por YANG et al., 2011, essa espécie pertencente à família Araceae, à qual pertence o gênero *Anthurium*. No estudo descrito foi possível identificar dois isolados (ALAN9 e ALAN12) provenientes de antúrio como pertencentes a espécie *C. orchidearum*.

Colletotrichum fructicola e *C. siamense* foram primeiramente identificados a partir de grãos de café na região norte da Tailândia. Ambas as espécies são causadoras da doença antracnose em uma elevada gama de hospedeiros ((PRIHASTUTI et al., 2009). *Colletotrichum fructicola* foi relatado causando antracnose em duas plantas ornamentais, com propriedades medicinais, *Camélia crisantha*, com especialidade chinesa tradicional, conhecida como a "camélia dourada" (ZHAO et al., 2021) e *Crinum asiaticum*, produzida em regiões tropicais e regiões subtropicais da Ásia (QING et al., 2020).

De acordo com dados apresentados por Liu et al., (2021) Li et al., (2021) e Wickramasinghe et al., (2020) *Colletotrichum siamense* foi relatado causando antracnose em flores tropicais ornamentais como *Monstera deliciosa*, *Zinnia elegans*, *Erythrina crista-galli* e espécies de *Begonia*.

Segundo Chaves et al., (2020), através de um estudo molecular utilizando sequências parciais da região ITS e os genes GAPDH, CAL, CHS-1 e ACT, relataram pela primeira vez, *C. theobromicola* como o agente causal da antracnose na flor de antúrio, corroborando com os dados apresentados neste estudo.

Em estudos realizados por Komala Vithanage et al., (2021), foi possível identificar *C. siamense* como agente causal da antracnose em antúrio, sendo o primeiro relato mundial, corroborando com os resultados encontrados nesta pesquisa.

Em uma pesquisa realizada por Duarte (2021), foi identificado *C. fructicola*, *C. siamense*, *C. tropicale* e *C. theobromicola* causando antracnose em bastão do imperador (*Etilingera elatior*), sendo espécies consideradas bastante distribuídas em campos de produção produzidos mundialmente (ROJAS et al., 2010; WEIR et al., 2012; DOYLE et al., 2013; LIMA et al., 2013; VELOSO et al., 2018; VIEIRA et al., 2017).

Em estudos realizados por Chaves et al. (2018), foi relatada pela primeira vez no mundo *C. siamense* causando antracnose em *Alpinia purpurata*, corroborando com os dados obtidos neste trabalho. Outras duas espécies, *C. theobromicola* e *C. fructicola* foram identificadas também apresentando sintomas no mesmo hospedeiro onde ainda não foi observado a ocorrência no gênero *Alpinia*, com isso, este é o primeiro relato dessas espécies causando antracnose neste hospedeiro.

O presente trabalho apresentou uma diversidade de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em bastão do imperador, alpinia e antúrio no Nordeste do Brasil. Cinco espécies foram demonstradas como agentes causais da antracnose nestes hospedeiros, em sua grande parte encontrando-se no complexo *C. Gloeosporioides*, seguido do complexo *C. orchidearum*.

5. CONCLUSÃO

As espécies *Colletotrichum* sp., *C. siamense*, *C. tropicale*, *C. fructicola* e *C. theobromicola* estão associadas à antracnose em flores de bastão do imperador, antúrio e alpinia no Nordeste brasileiro.

Este é o primeiro relato de *C. fructicola* e *C. theobromicola* em *Alpinia purpurata* no mundo.

REFERÊNCIAS

ALLESCHER, R. *Colletotrichum orchidearum* Allesch. Rabenhorst's Kryptogamen-Flora, Pilze. **Fungi imperfecti**, 1(7), 563. 1902.

BRAINER, M.S.C.P. Quando nem tudo são flores a floricultura pode ser uma alternativa. Fortaleza: **Banco do Nordeste do Brasil**, 2018.

CAI, L.; UDAYANGA, D.; MANAMGODA, D. S.; MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; MCKENZIE, E. H. C.; GUO, L. D.; LIU, X. Z.; BAHKALI, A; HYDE, K. D. The need to carry out re-inventory of plant pathogenic fungi. **Tropical Plant Pathology**, 36(4), 205–213, 2011.

CANNON, P. F. et al. *Colletotrichum*- current status and future directions. **Studies in Mycology**. v. 73, p. 181-213, 2012.

CASTELLANI, A.A. Maintenance and cultivation of the common pathogenic fungi of man in sterile distilled water: further researches. **Journal of Tropical Medicine e Hygiene**, Mclean, v.70, p. 181-184, 1967.

CHAVES, T.P.; MIRANDA, A.R.G.S.; DA PAZ, L.C.; NETTO, M.S.B.; LIMA, G.S.A.; ASSUNÇÃO, I.P. First report of *Colletotrichum theobromicola* causing anthracnose on *Anthurium* sp. Australasian plant disease notes, 15-27, 2020. <https://doi.org/10.1007/s13314-020-00394-9>.

CHAVES, T.P.; MIRANDA, A.R.G.S.; DA PAZ, L.C.; NETTO, M.S.B.; LIMA, G.S.A.; ASSUNÇÃO, I.P. First detection of *Colletotrichum siamense* causing anthracnose on *Alpinia purpurata*. **Journal of Plant Pathology**. 2019.

COSTA, J. F. O. et al. Species diversity of *Colletotrichum* infecting *annona* in Brazil. **Eur. J. Plant Pathology**. v. 153, p. 69-180, 2019.

DAMM, U. The *Colletotrichum dracaenophilum*, *C. magnum* and *C. orchidearum* species complexes. **Studies in Mycology**. v. 92, p.1-46, 2019.

DE, L.C. Improvement of ornamental plants -a review. **International Journal of Horticulture**, v.7, n. 22, p.180–204, 2017.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**. v.19, p.11-15, 1987.

DOYLE, V.P.; OUDEMANS, P.V. Habitat and host indicate lineage identity in *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. from wild and agricultural landscapes in North America. **Plos One 8**: e 62394. 2013.

DUARTE, I. G. **Dissertação de Mestrado**. Espécies de *Colletotrichum* associadas a antracnose do bastão do imperador (*Etilingera elatior*). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 54p. 2021

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

FARR, D.F.; ROSSMAN, A.Y. (2017). **Fungal databases**. U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Retrieved June 14, 2019 from. <https://nt.ars-grin.gov/fungalatabases/>

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 5. 0. In: Reunião Anual Da Região Brasileira Da Sociedade Internacional De Biometria, 45. São Carlos. **Anais São Carlos**: UFSCar. p. 255-258. 2000.

FURTADO, D. C. M.; GALVÃO, A. L. B.; AMORIM, E. P.R.; SOARES, L. P. R. Ocorrência de *Colletotrichum gloeosporioides* em *Tapeinochilus ananassae* no estado de Alagoas. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 38, n. 4, p. 343, 2012.

GUAMARCIA, V.; MARTINO, I.; GILARDI, G.; GARIBALDI, A.; LODOVICA GULLINO, M. *Colletotrichum* spp. causing anthracnose on ornamental plants in northern Italy. **Journal of Plant Pathology**, 103, 127–137. 2021. <https://doi.org/10.1007/s42161-020-00684-2>.

IBRAFLOR. Instituto Brasileiro de Floricultura. Disponível em: <https://www.ibraflor.com.br/> acessado em novembro de 2020.

JAYAWARDENA, R. S.; HYDE, K. D.; CHEN, Y. J.; PAPP, V.; PALLA, B.; PAPP, P. One stop shop: IV: taxonomic update with molecular phylogeny for important phytopathogenic genera: 76–100. **Fungal Diversity**, 103(1), 87–218, 2020. <https://doi.org/10.1007/s13225-020-00460-8>.

KOLAMA VITHANAGE, I. S.; YAKANDAWALA, D. M. D.; MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; JAYASINGHE N. K. B. *Colletotrichum* species causing anthracnose disease in *A. andraeanum*, manifested as spathe rot also in addition to spadix rot and leaf spot. Running title: *Colletotrichum* spp. causing *anthurium* anthracnose. **European Journal of Plant Pathology**, v. 161, pg. 837–846, 2021.

LIMA, N. B. et al Five *Colletotrichum* species are responsible for mango anthracnose in northeastern Brazil. **Fungal Diversity**. v. 61, p. 75–88, 2013.

LI, W.; HE, Y.; FU, T.; LIN, L.; LIU, F.; WANG, Z.; WANG, G. *First report of Colletotrichum siamense* causing anthracnose on *Zinnia elegans* in China. **Plant Disease**, 105, 1226, 2021. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-20-0803-PDN>.

LIU, Y. L.; TANG, J. R.; ZHOU, Y. H. First report of *Colletotrichum siamense* causing anthracnose of *Monstera deliciosa* in Zhanjiang, China. **Plant disease**, 105(4), 1192–2021. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-20-1839-PDN>.

MUÑOZ, J. A. G.; SUAREZ, M. B.; GRODONA, I.; MONTE, E.; BUDDIE, A. G.; BRIDGE, P. D.; CANNON, P. F. A physiological and biochemical approach to the systemic of *Colletotrichum* species pathogenic to strawberry. **Mycologia**, 92(3), 488–498, 2000. <https://doi.org/10.1080/00275514.2000.12061184>

QING, Z.; XIAO, D.; CHEN, H.; SHEN, Y.; PAN, L.; WEN, R. First report of *Colletotrichum fruticola* causing anthracnose on *Crinum asiaticum* in Guangxi province, China. **Journal of Plant Pathology**, 102, 971. 2020.

RANNALA, B.; YANG, Z. Probability distribution of molecular evolutionary trees: a new method of phylogenetic inference. **Journal of Molecular Evolution**. v. 43, p. 304–311, 1996.

ROJAS, E. I. et al. *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. associated with *Theobroma cacao* and other plants in Panamá: multilocus phylogenies distinguish host-associated pathogens from asymptomatic endophytes. **Mycologia**. v. 102, p. 1318–1338, 2010.

PRIHAUSTUTI, H.; CAI, L.; CHEN, H.; MCKENZIE, E. H. C.; HYDE, K. D. Characterization of *Colletotrichum* species associated with coffee berries in northern Thailand. **Fungal Diversity**, 39, 89–109. 2009.

RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J.P. MrBayes3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, Oxford, v.19, p. 1572–1574, 2003.

SÃO JOSÉ, A. R. Controle fitossanitário do maracujá. **Revista campo & negócios**. 2015. Disponível em: <http://www.revistacampoenegocios.com.br/controle-fitossanitario-do-maracuja>. Acesso em: Setembro de 2021.

SARDINHA, D. H. S.; RODRIGUES, A. A. C.; DINIZ, N. B.; LEMOS, R. N. S. de; SILVA, G. S. da Fungos e nematóides fitopatogênicos associados ao cultivo de flores tropicais em São Luís – MA. **Summa Phytopathol**, v. 38, n. 2, p. 159-162, 2012.

SIVIERO, A.; DELUNARDO, T.A.; HAVERROTH, M.; OLIVEIRA, L.C. DE; ROMAN, A.L.C.; MENDONÇA, Â.M.S. Plantas ornamentais em quintais urbanos de Rio Branco, **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém**, v. 9, n. 3, p. 797-813, 2014.

SU, J.; JIANG, J.; ZHANG, F.; LIU, Y.; DING, L.; CHEN, S.; CHEN, F. Current achievements and future prospects in the genetic breeding of chrysanthemum: a review. **20 Horticulture Research**, v. 6, n. 109, 2019.

SUTTON, B.C. The Coelomycetes: Fungi imperfecti with pycnidia acervuli and stromata. Kew: **Commonwealth Mycological Institute**, 1980.696p.

TAMURA, K. et al. MEGA 5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. **Molecular Biology and Evolution**. v. 28, n. 10, p. 2731 – 2739, 2011.

TEMPLETON, M. D. et al. Cloning and molecular characterization of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-encoding gene and cDNA from the plant pathogenic fungus *Glomerella cingulata*. **Gene**. v. 122, n. 1, p. 225–230, 1992.

UN– UNITED NATIONS. International Trade Statistics Yearbook 2018. **New York; United Nations**, 2019.

VELOSO, J. S. et al. Why species delimitation matters for fungal ecology: *Colletotrichum* diversity on wild and cultivated cashew in Brazil. **Fungal Biology**. v. 122, p. 677-691, 2018.

VIEIRA, W.A.S.; LIMA, W.G. The impact of phenotypic and molecular data on the inference of *Colletotrichum* diversity associated with Musa. **Mycologia** 109:912-934. 2017.

VIEIRA, W.A.S.; MICHEREF, S.J. et al. Endophytic species of *Colletotrichum* associated with mango in northeastern Brazil. **Fungal Diversity** 67: 181–202. 2014.

WEIR, B. S.; JOHNSTON, P. R.; DAMM, U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. **Studies in Mycology**. v. 73, p. 115-180, 2012.

WICKRAMASINGHE, P.; ADIKARAM, N.; YAKANDAWALA, D. Molecular characterization of *Colletotrichum* species causing Begonia anthracnose in Sri Lanka. **Ceylon Journal of Science**, 49(5), 363–371. 2020. <https://doi.org/10.4038/cjs.v49i5.7803>.

XU, H. J.; ZHOU, R. J.; FU, J. F. Morphological and molecular identification of anthracnose on *Arctium lappa* caused by *C. simmondsii* in China. **Plant Disease**, 100, 1010. 2016.

YANG, Y.L.; CAI, L.; YU, Z.N.; HYDE, K.D.; YU, Z. *Colletotrichum* species on Orchidaceae in Southwest China. **Cryptogamie Mycologie**, 32(3), 229–253, 2011.

ZHAO, J.; LIU, T.; ZHANG, D.; WU, H.; PAN, L.; LIAO, N.; LIU, W. First report of anthracnose caused by *Colletotrichum siamense* and *C. fructicola* of *Camellia chrysantha* in China. **Plant disease**, 2021.

ANEXOS

Tabela suplementar 1 - Espécies de *Colletotrichum* e número de acesso das culturas e do GenBank utilizados para a análise filogenética neste estudo.

Espécies	Isolados	Número de acesso do GenBank		
		<i>GAPDH</i>	<i>ITS</i>	<i>TUB2</i>
<i>Colletotrichum aotearoa</i> *	ICMP 18573	JX01 0005	JX01 0205	JX010 420
<i>Colletotrichum aotearoa</i>	ICMP 18532	JX009 906	JX01 0220	JX0104 21
<i>Colletotrichum kahawae</i> subsp <i>cigarro</i>	ICMP 1853			
<i>Colletotrichum kahawae</i> subsp <i>cigarro</i>	ICMP 1295			
<i>Colletotrichum ti</i>	ICMP 4232	JX009 952	JX01 0269	JX0104 42
<i>Colletotrichum ti</i>	ICMP 5285	JX009	JX01	JX0104

		910	0267	41	
<i>Colletotrichum theobromicola</i> *	CBS 124945*/ICMP 18649	006	JX010 0294	JX01 47	JX0104
<i>Colletotrichum theobromicola</i>	CBS 14231	024	JX010 0286	JX01 73	JX0103
<i>Colletotrichum theobromicola</i>	ALME4				
<i>Colletotrichum theobromicola</i>	ICMP 17958	948	JX009 0291	JX01 81	JX0103
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> *	IMI 356878/ICMP 17821/CBS 112999	56	JX0100 0152	JX01 5	JX01044
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	ICMP 18694	80	JX0099 0155	JX01	-
<i>Colletotrichum asianum</i>	ICMP 18580	53	JX0100 612	FJ972 3	JX01040

Continuação...

<i>Colletotrichum asianum</i>	MTCC11680/ICMP 18696		JX0099	JX01	JX01038
-------------------------------	----------------------	--	--------	------	---------

		15	0192	4	
<i>Colletotrichum salsolae</i> *	ICMP 19051/C1314		JX0099	JX01	JX01040
		16	0242	3	
<i>Colletotrichum salsolae</i>	CBS119296		JX0099	JX01	-
		17	0241		
<i>Colletotrichum siamense</i>	ICMP 18578		JX0099	JX01	JX01040
		24	0171	4	
<i>Colletotrichum siamense</i>	BAGU17				
<i>Colletotrichum siamense</i>	ALBA16				
<i>Colletotrichum siamense</i>	ALAN101				
<i>Colletotrichum siamense</i>	ALGU11				
<i>Colletotrichum siamense</i>	BAALPE2				
<i>Colletotrichum siamense</i>	ICMP 12567		JX0099	JX01	JX01026
		40	0250	4	
<i>Colletotrichum tropicale</i> *	CBS 124949/ICMP 18653		JX0100	JX01	JX01040
		07	0264	7	

<i>Colletotrichum tropicale</i>	BAGU21				
<i>Colletotrichum tropicale</i>	BAGU1				
<i>Colletotrichum tropicale</i>	ICMP 18672	20	JX0100 0275	JX01 6	JX01039
<i>Colletotrichum musae</i>	CBS 116870	50	JX0100 0146	JX01 80	HQ5962
<i>Colletotrichum musae</i>	ICMP 17817	15	JX0100 0142	JX01 8	JX01040
<i>Colletotrichum fructicola</i> *	ICMP 18645	92	JX0099 0172	JX01 8	JX01040

Continuação...

Colletotrichum fructicola **ALCAPE2**

Colletotrichum fructicola

ALCA4

<i>Colletotrichum fructicola</i> *	ICMP 18581/CBS 130416	33	JX0100 0165	JX01 5	JX01040
------------------------------------	-----------------------	----	----------------	-----------	---------

Colletotrichum fructicola**ANGU71**

<i>Colletotrichum nupharicola</i> *	CBS 470.96/ICMP 18187	72	JX0099 0187	JX01 8	JX01039
-------------------------------------	-----------------------	----	----------------	-----------	---------

Colletotrichum nupharicola

CBS 46996

36	JX0099 0189	JX01 7	JX01039
----	----------------	-----------	---------

Colletotrichum alienum*

ICMP 12071

28	JX0100 0251	JX01 1	JX01041
----	----------------	-----------	---------

Colletotrichum alienum

ICMP 18691

18	JX0100 0217	JX01 5	JX01038
----	----------------	-----------	---------

Colletotrichum aenigma*

ICMP 18608

44	JX0100 0244	JX01 9	JX01038
----	----------------	-----------	---------

Colletotrichum aenigma

ICMP 18686

13	JX0099 0243	JX01 0	JX01039
----	----------------	-----------	---------

<i>Colletotrichum boninense</i>	CBS 123755	05	JX0099	JX01	-
			0292		
<i>Colletotrichum cattleyicola</i>	CBS 17049		-		
<i>Colletotrichum cattleyicola</i>	MAFF 238321		-	MG6	MG6010
			00759	26	
<i>Colletotrichum sojae</i>	LFN0009	295	KT696	KT69	KT6962
			6354	88	
<i>Colletotrichum sojae*</i>	ATCC 62257	810	MG600	MG6	MG6010
			00749	16	
<i>Colletotrichum vittalense*</i>	CBS 181.82	796	MG600	MG6	MG6010
			00734	01	
<i>Colletotrichum vittalense</i>	CBS 126.25	797	MG600	MG6	MG6010
			00735	02	

Continuação...

<i>Colletotrichum cliviicola*</i>	CBS 125375		MG600	MG60	MG60100
-----------------------------------	------------	--	-------	------	---------

		79	0733	0	
<i>Colletotrichum cliviicola</i>	CBS 133705		MG600	MG60	MG60099
		794	0732	9	
<i>Colletotrichum plurivorum</i>	CBS 132443		MG600	MG60	MG60098
		783	0720	7	
<i>Colletotrichum plurivorum*</i>	CBS 125474		MG600	MG60	MG60098
		781	0718	5	
<i>Colletotrichum musicola*</i>	CBS 132885		MG600	MG60	MG60100
		798	0736	3	
<i>Colletotrichum musicola</i>	CBS 127557		MG600	MG60	MG60100
		799	0737	4	
<i>Colletotrichum orchidearum*</i>	CBS 135131		MG600	MG60	MG60100
		800	0738	5	
<i>Colletotrichum orchidearum*</i>	CBS 136877				
<i>Colletotrichum orchidearum</i>	ALAN9				
<i>Colletotrichum orchidearum</i>	ALAN12				

Colletotrichum boninense

CBS 123755

JX009905

JX010292

-

ARTIGO 1

Óleos essenciais de *Mentha* sp., *Cymbopogon nardus* L. e *Cymbopogon citratus* no controle da antracnose (*Colletotrichum* sp.) em bastão do imperador (*Etilingera elatior*)¹

¹Trabalho elaborado conforme normas da Revista Valore, publicado em julho de 2022

ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Mentha* sp., *Cymbopogon nardus* L., *Cymbopogon citrus* NO CONTROLE DA ANTRACNOSE (*Colletotrichum* sp) EM BASTÃO DO IMPERADOR (*Etilingera elatior*)

ACEITES ESENCIALES DE *Mentha* SP., *Cymbopogon nardus* L., *Cymbopogon citrus* EN EL CONTROL DE LA ANTRACNOSIS (*Colletotrichum tropicale*) EN PALO IPERATOR (*Etilingera elatior*)

ESSENTIAL OILS OF *Mentha* sp., *Cymbopogon nardus* L. AND *Cymbopogon citratus* IN THE CONTROL OF ANTHRACNOSE (*Colletotrichum tropicale*) IN EMPEROR'S ROD (*Etilingera elatior*)

Resumo

O objetivo do trabalho foi verificar a capacidade dos óleos de menta (*Mentha* sp.), citronela (*Cymbopogon nardus* L.) e capim-limão (*Cymbopogon citratus*), e os fungicidas tiofanato metílico e mancozeb de apresentar ação curativa e preventiva sobre a antracnose (*Colletotrichum* sp.) em hastes de bastão do imperador. Foram determinadas a Percentagem de Inibição do Crescimento Micelial (PIC), a atividade fungistática e fungicida dos óleos essenciais. Posteriormente foram determinados os efeitos *in vivo* e em condições de pós-colheita (incidência e severidade). Com os resultados obtidos neste trabalho, conclui-se que, os óleos de menta, citronela e capim-limão foram eficientes na inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. O óleo de capim-limão em todas as concentrações e o óleo de citronela (0,75 e 1,5%) apresentaram efeito fungicida. Já em condições de pós-colheita, os fungicidas reduziram a incidência e a severidade no teste curativo e os óleos de menta (2,25 e 3%) e citronela (0,75%) apresentaram eficiência na redução da severidade da doença. Já para o teste preventivo, o tiofanato metílico e o óleo de menta reduziram a incidência e a severidade da doença, assim como óleo de capim-limão (0,75 e 1,5%) para incidência e o óleo de citronela (0,75%) para severidade.

PALAVRAS CHAVE: fungo, doença de planta, controle alternativo.

Resumen

El objetivo del trabajo fue verificar la capacidad de los aceites de menta (*Mentha* sp.), citronela (*Cymbopogon nardus* L) y hierba de limón (*Cymbopogon citratus*), y los fungicidas metil tiofanato y mancozeb para presentar acción curativa y preventiva sobre la antracnosis (*Colletotrichum* sp) en varas del emperador. Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (PIC), se determinó la actividad fungistática y fungicida de los aceites esenciales. Posteriormente, los efectos se determinaron in vitro y en condiciones posteriores a la cosecha (incidencia y gravedad). Con los resultados obtenidos en este trabajo, se concluye que los aceites de menta, citronela y hierba de limón fueron eficientes para inhibir el crecimiento micelial de *Colletotrichum* sp. El aceite de hierba de limón en todas las concentraciones y el aceite de citronela (0,75 y 1,5%) mostraron un efecto fungicida. En condiciones posteriores a la cosecha, los fungicidas redujeron la incidencia y la gravedad en la prueba curativa y los aceites de menta (2.25 y 3%) y citronela (0.75%) mostraron eficiencia en la reducción de la gravedad de la enfermedad. En cuanto a la prueba preventiva, el metil tiofanato y el aceite de menta redujeron la incidencia y la gravedad de la enfermedad, así como el aceite de hierba de limón (0,75 y 1,5%) para la incidencia y el aceite de citronela (0,75%) por gravedad.

PALABRAS CLAVE: hongos, enfermedades de las plantas, control alternativo.

Abstract

The objective of the work was to verify the capacity of the oils of mint (*Mentha* sp.), citronella (*Cymbopogon nardus* L) and lemongrass (*Cymbopogon citratus*), and the fungicides methyl thiophanate and mancozeb to present curative and preventive action on anthracnose (*Colletotrichum* sp) on rods of the emperor. The percentage of mycelial growth inhibition (PIC), the fungistatic and fungicidal activity of essential oils were determined. Subsequently, in vitro and post-harvest conditions (incidence and severity) were determined. With the results obtained in this work, it is concluded that the oils of mint, citronella and lemongrass were efficient in inhibiting the mycelial growth of *Colletotrichum* sp. Lemongrass oil in all concentrations and citronella oil (0.75 and 1.5%) had a fungicidal effect. In

post-harvest conditions, fungicides reduced the incidence and severity in the curative test and the oils of mint (2.25 and 3%) and citronella (0.75%) showed efficiency in reducing the severity of the disease. As for the preventive test, methyl thiophanate and peppermint oil reduced the incidence and severity of the disease, as well as lemongrass oil (0.75 and 1.5%) for incidence and citronella oil (0.75%) for severity.

KEYWORDS: fungus, plant disease, alternative control.

INTRODUÇÃO

Flores e plantas ornamentais frequentemente são acometidas por fungos, que apresentam maior frequência em tempos de chuva. Tais agentes são responsáveis pelas manchas foliares, que reduzem a área fotossintética, reduzindo assim a produtividade. Nos casos em que a severidade da doença é mais elevada, este patógeno pode acometer o que será comercializado da cultura, acarretando na inviabilização do comércio (SARDINHA et al., 2012).

O gengibre da tocha (*Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith) é uma planta da família Zingiberaceae, muito empregada medicinalmente, na alimentação, assim como em ornamentações, cosméticos e biopesticidas. O bastão do imperador, como é conhecido, é adquirido direto da natureza, e com isso sua produção tem se tornado limitada, incentivando assim a atividade de cultivo cada vez mais (CHAIDIR et al., 2019).

De modo convencional, a propagação é pelo rizoma, parte da planta que já se encontra inserida no solo. Tais mudas provenientes desta propagação apresentam proliferações inferiores, sendo bastante suscetíveis às infecções patogênicas, como apodrecimento do rizoma, tendo como agente causal de *Phyitium* e mancha foliar, causada por espécies de *Coletotrichum* sp. (ABDELMAGEED et al., 2011).

As espécies aromáticas apresentam diversos benefícios para o controle de doenças, por causa da atividade biopesticida, com destaque para os óleos essenciais (HUSSAIN et al., 2008; LIMA et al., 2008). A antracnose, principal doença, apesar de apresentar maior destruição em pós-colheita, tanto em regiões subtropicais quanto em tropicais, são capazes de provocarem perdas consideráveis na cultura ainda em campo (RAKESH e SINGH, 2017).

De modo geral, os tratamentos utilizados para o controle da antracnose são dependentes de fungicidas, sendo o método mais empregado (ZHANG, 2007). Dentre os fungicidas mais utilizados, que mostram alta eficiência no controle estão a azoxistrobina, clorotalonil, mancozeb e oxiclureto de cobre (THOMAS et al., 2018).

De acordo com Ervani-Raqeeb (2008), o uso indiscriminado, durante muitos anos, favoreceu o desenvolvimento de resistência a esses fungicidas, tornando uma das maiores preocupações com a segurança pública, justificados pelos efeitos adversos, onde alguns produtos tiveram seus registros cancelados, fazendo com que métodos alternativos de controle fossem buscados como a utilização do controle biológico e o emprego de biocidas no controle de doenças de plantas.

Visando a diminuição dos efeitos residuais dos agrotóxicos, a diminuição e até mesmo a substituição da utilização de fungicidas, o controle alternativo de fitopatógenos vem sendo alvo de novos estudos ao longo dos anos. Um dos focos de estudo são os chamados metabólitos secundários. As plantas produzem diversos compostos orgânicos, muitos dos quais não participam diretamente de seu desenvolvimento. Essas substâncias referidas como metabólitos secundários ou produtos naturais desempenham um papel fundamental nas suas interações de defesa contra predadores e patógenos. Muitos destes metabólitos secundários apresentam atividades biológicas e têm sido utilizados na indústria farmacêutica e agroquímica (ANDRADE, 2006).

As espécies aromáticas apresentam diversos benefícios para o controle de doenças, por causa da atividade biopesticida, em principal estando os óleos essenciais (HUSSAIN et al., 2008; LIMA et al., 2008). Tais óleos são constituídos principalmente por terpenos e terpenóides, substâncias voláteis com baixo peso molecular que apresentam estruturas diferentes, sendo acumuladas em todas as partes das plantas e apresentando diversas funções, a depender dos compostos majoritários bioativos do óleo, dentre elas fungicidas (MELO et al., 2013; O'BRYAN et al., 2015).

Dentre as plantas utilizadas, para a obtenção dos óleos essenciais, *Cymbopogon citratus* (capim-limão) apresenta forte potencial de agentes antimicrobianos controlando patógenos vegetais, tais como *C. gloeosporioides* (ADONGBEDE e EGBODUKU, 2018).

De acordo com Silva et al. (2018), são encontrados na literatura resultados de estudos que demonstram o controle de *Colletotrichum* sp. com o uso de óleos

essenciais, entretanto, grande parte se limita aos testes *in vitro*. Rozwalka et al. (2008) informaram atividade antifúngica com óleo de capim-limão (*Cymbopogon citratus* [DC.] Stapf) contra *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* em goiabeira.

Sousa Júnior et al. (2009) ao testarem diferentes óleos essenciais para controlar *C. gloeosporioides* em maracujá (*Passiflora edulis* Sims) observaram inibição total com *Ocimum gratissimum* (alfavaca), *Lippia sidoides* Cham (alecrim-pimenta) e *Cymbopogon citratus* (capim-limão) a 1 µL por mililitro em ensaios *in vitro*.

Os óleos essenciais apresentam uma menor ameaça ao ambiente, assim como aos produtores e consumidores, e não tendem a favorecer a evolução de patógenos resistentes (DERBALAH et al., 2012).

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi verificar a capacidade dos óleos de menta (*Mentha* sp.), citronela (*Cymbopogon nardus*) e capim-limão (*Cymbopogon citratus*), e os fungicidas tiofanato metílico e mancozeb de apresentar ação curativa e preventiva sobre a antracnose (*Colletotrichum* sp.) em hastes de bastão do imperador.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Fitopatologia, Centro de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), e em um plantio comercial de Flores Tropicais em Rio Largo-AL.

Para obtenção dos isolados foram realizadas visitas a propriedades produtoras de flores tropicais em Maribondo, Alagoas, onde foram feitas coletas de materiais vegetais com sintomas característicos da antracnose. Fragmentos de inflorescências doentes foram desinfestados em hipoclorito de sódio a 1,5% e água destilada, colocados em placas de Petri contendo o meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e incubados por cinco dias sob alternância luminosa de 12 horas, sob condições ambientais (28 °C) até o surgimento das colônias características do fungo. Após a confirmação do agente causal, pela observação microscópica, os isolados foram transferidos para tubos de ensaio contendo BDA e em água destilada (CASTELANI, 1967).

O teste de patogenicidade foi realizado em inflorescências de bastão do imperador, através de aspersão de suspensão de conídio (10^6 conídios por mililitro), utilizando cultura monospórica do microrganismo, cultivado em meio BDA sintético por sete dias, sobre as inflorescências, sem fermento. Para a testemunha, foi aspergido

apenas Água Destilada Esterilizada (ADE). Posteriormente, as mesmas foram colocadas em Erlenmeyers contendo solução de sulfato de cálcio e mantidas sob câmara úmida por 48h. As hastes foram mantidas em condições ambientais (25 ± 1 °C) e fotoperíodo de 12 horas, sendo avaliadas após quatro dias, até a observação dos sintomas.

Com o objetivo de avaliar, *in vitro*, a inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum* sp., os óleos essenciais (adquiridos comercialmente) e fungicidas foram adicionados ao meio de cultura BDA, fundente (45-50 °C) e vertido em placas de Petri. Foram utilizados os tratamentos: óleo de citronela, capim-limão e menta, nas concentrações (0,75; 1,5; 2,25 e 3%), mancozeb (240 g. por litro) e tiofanato metílico (45 g. por litro) e 0% para a testemunha.

Todos os tratamentos foram esterilizados em luz UV por 30 minutos antes de serem adicionados ao meio autoclavado (BARGUIL et al., 2005). No centro de cada placa foi depositado um disco de meio BDA, de 0,6 cm de diâmetro, com o crescimento micelial fúngico, retirado das bordas da colônia do patógeno. Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado com 15 tratamentos e 5 repetições. Após a incubação por cinco dias à temperatura de 25 ± 1 °C e fotoperíodo de 12 horas, foi determinado o diâmetro médio da colônia tomado no reverso das placas de Petri, através da medição em dois sentidos diametralmente opostos, e por comparação com o crescimento das colônias nas placas testemunhas, que receberam o meio de cultura sem os tratamentos (ensaio 1), foi calculada a percentagem de inibição do crescimento micelial (P.I.C.) (EDINGTON et al., 1971), expressa pela fórmula: $P.I.C. = \frac{(\text{crescimento testemunha} - \text{crescimento tratamento})}{\text{crescimento testemunha}} * 100$

$$\text{crescimento testemunha}$$

Para a avaliação das atividades fungistática ou fungicida dos óleos essenciais, discos de crescimento micelial resultantes da inibição do crescimento fúngico foram depositados em placas de Petri contendo meio de cultura, Ágar Água (AA), incubadas em BOD por 48 horas, fotoperíodo de 12 horas e para a avaliação foi considerado a atividade fungicida do produto, quando não havia crescimento micelial, e fungistática quando apresentava crescimento (ensaio 2).

Na avaliação do efeito curativo dos óleos essenciais e dos fungicidas sobre o desenvolvimento da doença, hastes de bastão do imperador foram inoculados com o patógeno, direcionando-se, em seguida, jatos de suspensão de conídios (10^6 conídios por mililitro) para cada haste, e, após 48 e 72 horas, foram tratados com os mesmos

produtos e concentrações citado *in vitro* diluídos em ADE (ensaio 3). Posteriormente, com o objetivo de avaliar o potencial dos óleos essenciais e fungicidas como indutores de resistência, as hastes ainda no campo, foram aspergidas com solução de óleos e fungicidas, nas mesmas concentrações e testemunha, e após 48 e 72 horas foram colhidas e inoculadas com o fungo *Colletotrichum* sp., já no laboratório (ensaio 4). As pulverizações foram realizadas com jatos direcionados às hastes, aplicando-se 10 mL da solução em cada, adicionado 0,1 µL de Tween 20/100 mililitros de solução, utilizando-se a mesma metodologia para todos os tratamentos e posteriormente acondicionados em sacos plásticos e mantidos a 25 ± 1 °C/80-90 % UR, por 48 horas (ambiente de câmara úmida). Todas as hastes foram mantidas em Erlenmeyers contendo solução de sulfato de cálcio e avaliadas após um período de cinco dias quanto à incidência e severidade perante escala de notas (BARGUIL et al., 2008).

A escala de notas adotada para avaliação da severidade da doença variou de 1 a 9, com base na área da lesão, correspondendo aproximadamente a 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 82 e 92 % da área da inflorescência lesionada, respectivamente. Os resultados foram expressos em índice de doença calculado através da fórmula: $ID (\%) = \frac{[(n_1*1)+\dots+(n_9*9)] * (9*N) - 1}{(9*N) - 1} * 100$, onde, $n_1\dots n_9$ = número de bagas infectadas com a respectiva nota e N = número total de bagas inoculadas.

O delineamento experimental utilizado para todos os ensaios foi o inteiramente casualizado, com quinze tratamentos e cinco repetições, sendo cada parcela representada por 1 haste. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O isolado de *Colletotrichum tropicale* apresentou patogenicidade nas inflorescências de bastão do imperador, após 4 dias da inoculação, onde todas as hastes apresentaram sintomas característicos de antracnose como, manchas necróticas e depressões com acérvulos subepidérmicos (Figura 1A), enquanto as testemunhas permaneceram sadias. O aparecimento dos sintomas e o reisolamento do fungo em meio BDA sintético confirmaram a patogenicidade do isolado.

A identificação do patógeno foi realizada, respectivamente, através de observações na morfologia, dimensão das estruturas reprodutivas, obtidas por meio de observações microscópicas: conídios hialinos, unicelulares, de forma cilíndrica a

elipsoidal, com as extremidades arredondadas, numerosos e aglutinados, formando uma massa gelatinosa de coloração rósea, medindo de 15,93 μm x 6,22 μm e presença de apressórios com medições de 11,39 μm x 6,45 μm (Figura 1B), características para o gênero *Colletotrichum*.

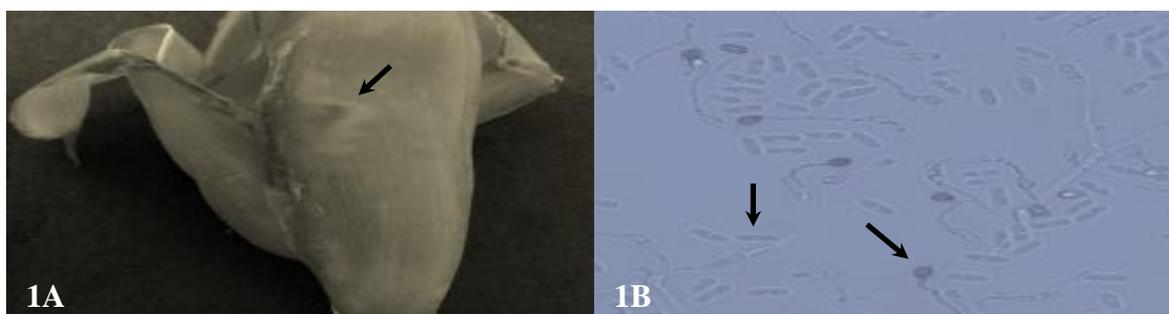


Figura 1: Sintoma de antracnose após a inoculação com *Colletotrichum* sp. (A) e formação de conídios e apressórios característicos do gênero *Colletotrichum* (B). Fonte: Elaborado pelo autor

O efeito dos óleos essenciais e fungicidas sob diferentes concentrações, na inibição do crescimento micelial *in vitro* de *Colletotrichum* sp, mostrou-se significativo ($p < 0,05$). Todos os tratamentos inibiram o crescimento micelial *in vitro* em 100%, diferindo significativamente ao nível de 5% de probabilidade por meio do teste de Scott-Knott em relação à testemunha (Tabela 1).

Tabela 1: Crescimento Micelial de fungo *Colletotrichum* sp. em presença de diferentes concentrações de óleos essenciais e fungicidas.

Crescimento Micelial (cm)		
Tratamentos	Concentração	P.I.C.
	0,75%	100a
Menta	1,5%	100a
	2,25%	100a
	3,0%	100a
Citronela	0,75%	100a
	1,5%	100a

	2,25%	100a
	3,0%	100a
Capim – limão	0,75%	100a
	1,5%	100a
	2,25%	100a
	3,0%	100a
Mancozeb	240g.L ⁻¹	100a
Tiofanato metílico	45g.L ⁻¹	100a
Testemunha	0%	68,55b

Fonte: Autor, 2019

O efeito fungistático e fungicida dos óleos essenciais estão demonstrados na Tabela 2. O óleo de citronela (0,75 e 1,5%) e o óleo de capim-limão, em todas as concentrações testadas, apresentaram efeito fungicida após 48 horas de incubação, o óleo de menta (0,75 e 2,25%) e de citronela (2,25 e 3%) mostraram efeito fungistático, onde o microrganismo retomou o crescimento após 24 horas, enquanto que o crescimento na presença do óleo de menta (1,5 e 3%) foi retomado após as 48 horas de incubação.

Tabela 2: Efeito fungistático e fungicida dos óleos essenciais sobre o desenvolvimento de *Colletotrichum* sp.

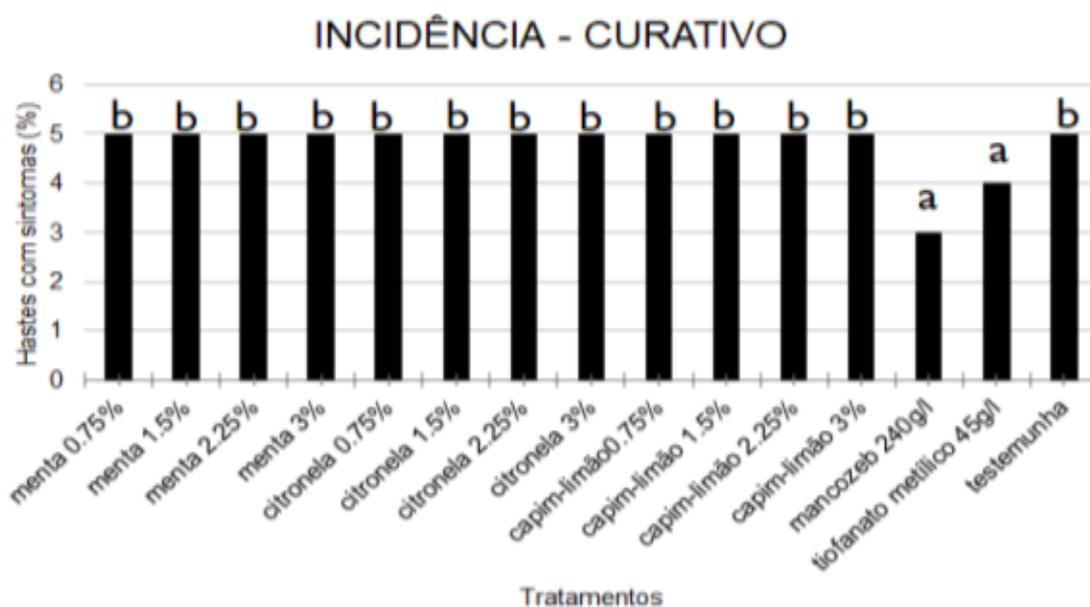
Tratamento	Fungistático 24hs	Fungistático 48hs
Fungicida		
Menta 0,75%	X	
Menta 1,5%		X
Menta 2,25%	X	
Menta 3,0%		X

Citronela 0,75%		X
Citronela 1,5%		X
Citronela 2,25%	X	
Citronela 3,0%	X	
Capim – limão 0,75%		X
Capim – limão 1,5%		X
Capim – limão 2,25%		X
Capim – limão 3,0%		X

Fonte: Autor, 2019

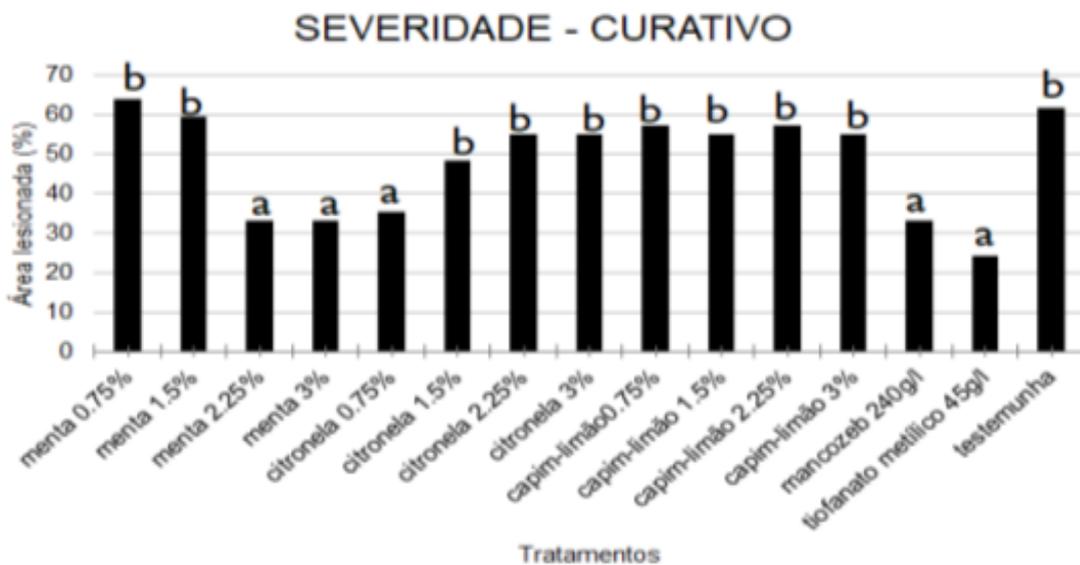
Com relação à incidência da doença no tratamento curativo pode-se observar que apenas os fungicidas mancozeb e tiofanato metílico diferiram estatisticamente de todos os tratamentos, apresentando redução de 40 e 20% das hastes infectadas, respectivamente; os demais apresentaram 100% de sintomas nas hastes (Figura 2).

Figura 2: Efeitos de óleos essenciais e fungicidas, para variável incidência, no controle curativo da antracnose (*Colletotrichum* sp.) em hastes de bastão do imperador.



Já para variável severidade, os óleos essenciais de citronela (0,75%), menta (2,25 e 3%), os fungicidas mancozeb e tiofanato metílico apresentaram diferença estatística quando comparados aos demais tratamentos e à testemunha, não apresentando diferença estatística entre si, reduzindo a doença em 64,8%; 77%; 77%; 77% e 75,8% respectivamente (Figura 3).

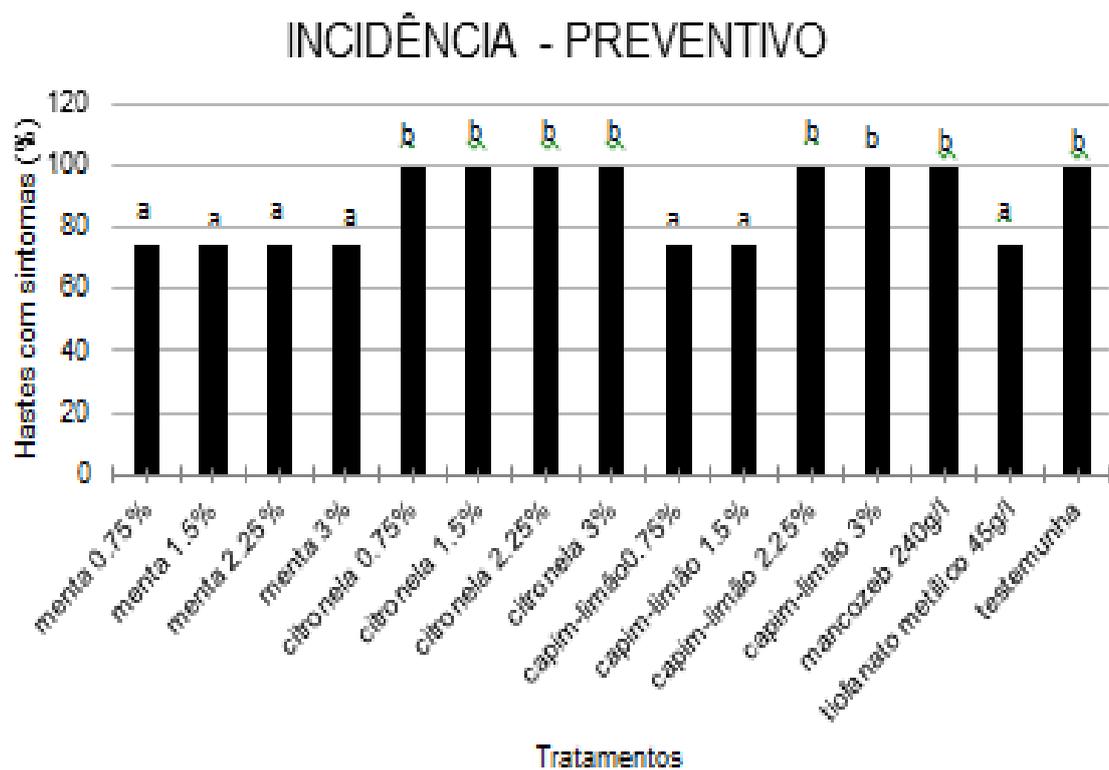
Figura 3: Efeito de óleos essenciais e fungicidas, para variável severidade, no controle curativo da antracnose (*Colletotrichum* sp.) em hastes de bastão do imperador.



Fonte: Autor, 2019

Para a incidência da doença no tratamento preventivo foi possível observar que o óleo de menta, em todas as concentrações, o óleo de capim-limão (0,75 e 1,5%) e o fungicida tiofanato metílico apresentaram redução em 25% diferindo estatisticamente da testemunha e dos demais tratamentos que apresentaram 100% (Figura 4).

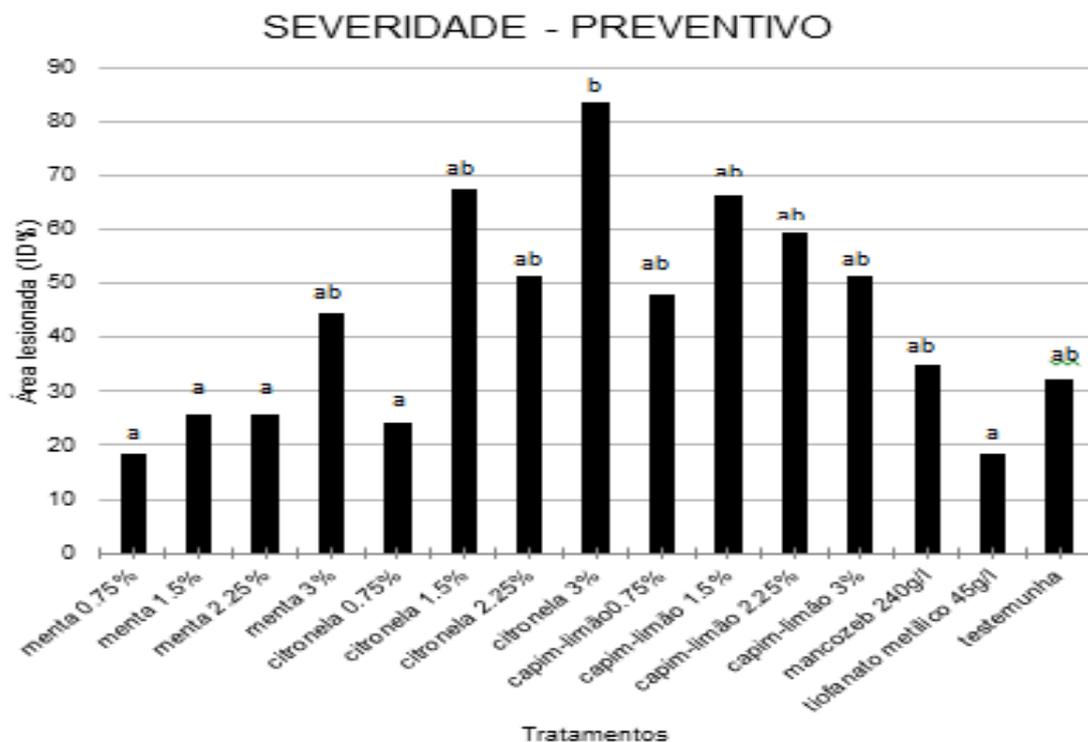
Figura 4: Efeito de óleos essenciais e fungicidas, para a variável incidência, no controle preventivo da antracnose (*Colletotrichum* sp.) em hastes de bastão do imperador.



Fonte: Autor, 2019

Enquanto que, para a variável severidade, a Figura 5 mostra que os óleos de menta (0,75; 1,5 e 2,25%) e citronela (0,75%), e o fungicida tiofanato metílico apresentaram diferença estatística quando comparados à testemunha e aos demais tratamentos, apresentando como os melhores tratamentos. O óleo de citronela (3%) demonstrou ineficiência na redução da doença, apresentando infecção superior à testemunha. Os demais tratamentos não apresentaram diferença estatística quando comparados à testemunha.

Figura 5: Efeito de óleos essenciais e fungicidas, para variável severidade, no controle preventivo da antracnose (*Colletotrichum* sp.) em hastes de bastão do imperador.



Fonte: Autor, 2019

Este estudo demonstra o efeito do controle alternativo, por meio dos testes preventivos e curativos da antracnose em inflorescências de bastão do imperador, utilizando óleos essenciais. Ao testar extrato aquoso de *C. citratus* (capim-limão), Adongbede e Egbofuku (2018) observaram que houve inibição do crescimento micelial de *C. gloesporioides*. Segundo estudos realizados por Pansera et al. (2016), utilizando o óleo essencial de capim-limão, o crescimento micelial *C. gloesporioides*, quando testada as concentrações de 0,05% e 0,20%, foi inibido em 100%, corroborando com os resultados encontrados neste estudo.

O desenvolvimento micelial de *C. gloesporioides* apresentou 100% de inibição na presença dos óleos essenciais de *C. citratus*, *L. citriodora*, *L. sidoides*, *O. gratissimum* e *Rosmarinus officinalis* (SILVA et al., 2009), concordando com os dados encontrados neste trabalho.

Em estudo realizado por Peixinho (2009), os óleos de citronela e *Eucalypto citriodora*, os fungicidas mancozeb e tiofanato metílico e o indutor de resistência ASM associado com o fungicida Mancozeb e oxicleto de cobre, em todas as concentrações,

inibiram, *in vitro*, 100% do crescimento micelial de *C. gloesporioides* em bastão do imperador.

Andrade e Vieira (2016), ao testarem o óleo essencial de menta (100 µL), observaram uma inibição total do crescimento micelial de *C. gloesporioides*, validando os dados encontrados nesta pesquisa.

Tanto o efeito fungicida quanto fungistático apresentados pelos óleos essenciais estão relacionados aos componentes majoritários presentes, podendo apresentar componentes químicos em concentrações distintas, em sua grande maioria apresentando um composto principal e outros em concentração menor (SIMÕES e SPITZER, 2000). Componentes principais, como o citral e o eugenol, apresentam ação fungicida similar a óleos que os contem em suas composições (COMBRINCK et al., 2011).

Em estudo realizado, o óleo essencial de capim-limão (10 a 100 microlitros por mililitro) apresentou efeito fungistático para *C. gloesporioides* (ANDRADE e VIEIRA, 2016), discordando com os dados apresentados neste trabalho. Já Aquino et al. (2014), observaram que o mesmo óleo essencial citado, nas concentrações de 1; 3; 5 e 7 µL. por mililitro, apresentaram ação fungicida, no controle da antracnose do maracujazeiro-amarelo, confirmando os resultados encontrados nesta pesquisa.

Em trabalho realizado por Diniz et al. (2008), ao testar o óleo essencial de menta (*Mentha arvensis* L.), (10 µL. por mililitro) identificaram ação fungistática sobre os fungos *Penicillium rubrum* e *Fusarium moniliforme*, certificando os dados encontrados neste trabalho.

Mattos (2010), ao testar os óleos essenciais (*Pogostemon cablin*, *Mentha arvensis*, *Cymbopogon citratus*, *Ocimum basilicum* var. Maria bonita, *Ocimum gratissimum*, *Pogostemon cablin*, *Romarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, *Lippia sidoides*, *Zingiber officinale*, *Citrus aurantifolia*, *Piper aduncum* e *Ocimum basilicum*) observou que não houve controle da pinta preta nas concentrações testadas (1, 10, 100, 1000, 10.000 e 100.000 ppm), e nas concentrações mais elevadas, foi possível observar leves sintomas de fitotoxidez em frutos de laranja.

Em testes para verificar o efeito curativo, o controle do bolor verde em laranjas não foi observado com os óleos de capim-limão e palmarosa, nas doses testadas, apresentando maior estímulo para o desenvolvimento dos sintomas nos frutos (BENATO et al., 2018).

De acordo com dados apresentados por Sarmiento-Brum et al. (2013), ao analisar o efeito dos óleos essenciais de citronela, capim-limão, erva-cidreira, hortelã-pimenta e nim (2,5 e 5,0 µL. Por mililitro), observaram redução significativa da severidade da antracnose no sorgo (*Colletotrichum graminicola*), no teste curativo, quando comparadas à testemunha, discordando com os dados apresentados neste trabalho. Ainda de acordo com os autores, o fungicida tiofanato metílico apresentou eficiência na redução da doença, atestando os resultados encontrados nesta pesquisa.

Em uma pesquisa realizada, para o controle da antracnose (*C. gloesporioides*) em bastão do imperador, foi possível observar que, os fungicidas, tiofanato metílico proporcionou o segundo melhor resultado, apesar de ter proporcionado uma incidência de 40%, e o mancozeb, proporcionaram porcentagens de incidência da doença superiores à testemunha, discordando com os resultados observados nesta pesquisa. Já para a severidade, apenas o fungicida tiofanato metílico (1%) apresentou 4% de área lesionada, quando testados preventivamente (PEIXINHO, 2009), consolidando os resultados encontrados neste trabalho.

Lima et al. (2008), em estudos usando *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, mostraram que o óleo de citronela (*C. nardus*) reduziu a progressão da doença, em um ensaio preventivo realizado em uma estufa, confirmando os dados deste trabalho.

Andrade e Vieira (2016), em uma pesquisa com *C. gloesporioides*, relataram que, o óleo de capim-limão (10 µL) aplicado 96 horas antes da inoculação, apresentou maior efeito fungitóxico no desenvolvimento das lesões, discordando dos dados obtidos neste trabalho. Ainda de acordo com os autores, o óleo essencial de menta (100 µL), apresentou controle de 100% da doença, testificando os resultados apresentados neste trabalho.

A ineficiência de alguns tratamentos (óleos essenciais) pode ser justificada pela reação de fitotoxidez dos óleos já observada 1 hora após a primeira inoculação dos produtos tanto em campo, quanto em laboratório.

Em trabalho conduzido por Sarmiento-Brum et al. (2013), o óleo de capim-limão (10 µL. por mililitro) e o fungicida tiofanato metílico, em teste preventivo, foram capazes de reduzir em 100% *C. graminicola* em plantas de sorgo. Neste mesmo teste foi possível observar que o óleo aplicado nas concentrações 7,5 e 10,0 µL. por mililitro apresentaram sintomas de fitotoxidez, como murcha e ressecamento das plantas, os

mesmos sintomas foram observados em todas as concentrações testadas nas hastes de bastão do imperador.

A atividade antifúngica dos óleos essenciais tem relação com a insolubilidade em água, promovendo maior interação com os lipídeos presentes na parede, mitocôndria e membrana celular dos fungos, o que altera a permeabilidade e provoca desordens nessas estruturas (COSTA et al., 2011). Segundo dados de Carneiro (2003), as respostas de fitotoxicidade vão depender da espécie da planta na qual o óleo essencial foi aplicado, da idade e estágio de desenvolvimento da planta.

CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos neste trabalho, conclui-se que os óleos de menta, citronela e capim-limão inibem o crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. O óleo de capim-limão em todas as concentrações e o óleo de citronela (0,75 e 1,5%) apresentaram efeito fungicida. Os fungicidas tiofanato metílico e mancozeb são capazes de reduzir a incidência e a severidade da antracnose em bastão do imperador, enquanto os óleos de menta (2,25 e 3%) e citronela (0,75%) são eficientes na redução da severidade da doença, quando aplicados de forma curativa. Preventivamente, o fungicida tiofanato metílico e o óleo de menta apresentam capacidade de reduzir a incidência e a severidade da doença. O óleo de capim-limão (0,75 e 1,5%) inibiu a incidência e o óleo de citronela (0,75%) inibiu a severidade da antracnose em bastão do imperador.

Referências

ABDELMAGEED, A. H. A.; FARIDAH, Q. Z.; NORHANA, F. M. A.; JULIA, A. A.; KADIR, M. A. Micropropagation of *Etilingera elatior* (Zingiberaceae) by using axillary bud explants. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 18, p. 4465-4469, 2011.

ADONGBEDE, E. M.; EGBODUKU, W. O. The anti-anthraxnose activities of polar and non-polar compounds extract from medicinal plants in the niger delta region of

Nigeria on spore germination on *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Penz and Sach. Ege Uni. **Journal of the Faculty of Science.**, v. 42, n. 1, p. 1-15 14, 2018.

ANDRADE, S. P. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de *Cassia fistula* (Leguminosae). Osasco, SP: **Revista PIBIC**, v.3, n.2, p. 151-158. 2006.

ANDRADE, W. P.; VIEIRA, G. H. C. Efeito dos óleos essenciais sobre a antracnose *in vitro* e em frutos de mamoeiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 18, n. 1, supl. I, p. 367-372, 2016.

AQUINO, C. F.; SALES, N. L. P.; SOARES, E. P. S.; MARTINS, E. R.; COSTA, C. A. Composição química e atividade *in vitro* de três óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* do maracujazeiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 16, n. 2, supl. I, p. 329-336, 2014.

BARGUIL, B. M.; ALBERT, I. C. L.; MICHEREFF, S. J.; OLIVEIRA, S. M. A. Escala diagramática para avaliação da severidade da antracnose em bastão do imperador. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 3, p. 807-810, 2008.

BARGUIL, B. M. et al. Ocorrência de *Colletotrichum gloeosporioides* em *Heliconia chartacea* cv. Sex Pink. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, p. 136, 2005.

BENATO, E. A.; BELLETTI, T. C.; TERAPO, D.; FRANCO, D. A. S. Óleos essenciais e tratamento térmico no controle pós-colheita de bolor verde em laranja. **Summa Phytopathologica**, v. 44, n. 1, p. 65-71, 2018.

CHAIDIR, L.; HASANI, S.; DIANA, A.; SUBANI, M.; WICAKSANA, N. Effect of Sucrose on *in vitro* Bud Multiplication of Torch Ginger (*Etilingera elatior*). **IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science**. 334, 334, 012015. DOI:10.1088/1755-1315/334/1/012015. 2019.

COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G. P. P. *In vitro* activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal

pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, Holanda, v. 33, n. 2, p. 344-349, 2011.

COSTA, A. R. T.; AMARAL, M. F. Z. J.; MARTINS, P. M.; PAULA, J. A. M.; FIUZA, T.S. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 2, p. 240-245, 2011.

DERBALAH, A. S.; DEWIR, Y. H.; EL-SAYED, A. EN. B. Antifungal activity of some plant extracts against sugar beet damping-off caused by *Sclerotium rolfsii*. **Annals of Microbiology**, Milão, v. 62, n. 3, p. 1021-1029, 2012. DOI:[10.1007/s13213-011-0342-2](https://doi.org/10.1007/s13213-011-0342-2).

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

EDGINGTON, L. V.; KHEN, K. L, BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazoles compounds. **Phytopathology**, v. 61, p. 42-44, 1971. DOI: 10.1094/Phyto-61-42.

ERYANI-RAQUEEB, A.; MAHMUD, T. M. M.; SYED OMAR, S. R.; MOHAMED ZAKI, A. R.; AL ERYANI, A. R. Effects of Calcium and chitosan treatments on controlling anthracnose and postharvest quality of Papaya (*Carica papaya* L.). **International Journal of Agricultural Research**, v. 4, n. 2, p. 53-68, 2008.

HUSSIAN, A. I.; ANWAR, F.; SHERAZI, S. T. H.; PRZYBYLSKI, R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chemistry** v.108, p. 986-995. 2008.

LIMA, W. G.; SANTOS, R. C.; CÂMARA, C. A. G.; CÂMARA, M. P. S.; MELO-FILHO, P. A. Citronella oil inhibits cotton ramulosis in controlled conditions. **Pest Technology** v.2, p.24-27. 2008.

MATTOS, L. P. V. **Controle de *Guignardia citricarpa* e *Penicillium digitatum* em laranja com óleos essenciais e agentes de biocontrole**. 2010. 104p. Tese (Doutorado), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu.

MELO, R. M. C. A.; MELO-FILHO, P. A.; CÂMARA, M. P. S.; LIMA, W. G.; SANTOS, R. C. Preventive control of cotton ramulosis using clove oil at low concentration. **International Journal of Agricultural Science and Research** v.2, p.060-066, 2013.

O'BRYAN, C. A.; PENDLETON, S. J.; CRANDALL, P. G.; ROCKE, S. C. Potential of plant essential oils and their components in animal agriculture – *in vitro* studies on antibacterial mode of action. **Frontiers in Veterinary Science** v.2, p.1-8, 2015.

PANSERA, M.R.; CONTE, R. I., SILVA, S.M.; SANTORI, V. C.; SILVA RIBEIRO, R. T. Strategic control of postharvest decay in peach caused by *Monilinia fructicola* and *Colletotrichum gloeosporioides*. **Applied Research & Agrotechnology**. v.8, n.1, p.7-14. 2016.

PEIXINHO, G. S. **Avaliação dos efeitos de indutores de resistência no controle da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) em inflorescências de Bastão do Imperador (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Smith)**. 2009. 41p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

RAKESH, K. P.; SINGH, R., Anthracnose of mango incited by *Colletotrichum gloeosporioides*: A comprehensive review. **International Journal of Pure & Applied Bioscience**, v. 5, n. 1, p. 48-56, 2017.

SARDINHA, D. H. S.; RODRIGUES, A. A. C.; DINIZ, N. B.; LEMOS, R. N. S. de; SILVA, G. S. da Fungos e nematóides fitopatogênicos associados ao cultivo de flores tropicais em São Luís – MA. **Summa Phytopathol**, v. 38, n. 2, p. 159-162, 2012.

SARMENTO-BRUM, R. B. C.; SANTOS, G. R.; CASTRO, H. G.; GONÇALVES, C. G.; CHAGAS JÚNIOR, A. F.; NASCIMENTO, I. R. Efeito de óleos essenciais de plantas medicinais sobre antracnose do sorgo. **Bioscience Journal**. Uberlândia, v. 29, Supplement 1, p. 1549-1557, 2013.

SILVA, A. C.; SALES, N. L.P.; ARAUJO, A. V.; CALDEIRA JÚNIOR, C. F. Efeito in vitro de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz: isolado do maracujazeiro. **Ciência e Agrotecnologia** v.33, p.1853-1860. 2009.

SILVA, K. V. P.; GUERRA, Y. L.; ALVES, G. M. R.; MELO-FILHO, P. A.; LIMA, L. M.; SANTOS, R. C. Selectivity of geraniol synthase in aromatic species to control of cotton ramulosis. **Chilean Journal of Agricultural Research**. v.78, n.2, p. 287-298, 2018.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES. C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Universidade Federal de Santa Catarina, 2000. p. 394-412.

SOUSA JÚNIOR, I. T. S.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Revista Biotemas** v.22, p.77-83, 2009.

THOMAS, G. J.; SWEETINGHAM, M. W.; ADCOCK, K. G. Application of fungicides to reduce loss in anthracnose-infected lupins. **Crop Protection** v.27, n.7, p.1071-1077, 2008.

E. M. ADONGBEDE, W. O. EGBODUKU. The anti-anthrachnose activities of polar and non-polar compounds extracted from medicinal plants in the niger delta region of

Nigeria on spore germination of *Colletotrichum gloesporioides* (Penz.) Penz & Sach. **Ege University Journal of Faculty of Science.**, v. 42, n.1, p.1-15 14, 2018.

ZHANG, J. The potential of new fungicide fludioxonil for stem-end rot and green mold control Florida citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology.**, v. 46, p. 262-270, 2007.

ARTIGO 2

**ÓLEOS ESSENCIAIS EM DIFERENTES TEMPOS DE APLICAÇÃO
NO CONTROLE DA ANTRACNOSE (*Colletotrichum tropicale*) EM
CONDIÇÕES DE PÓS-COLHEITA EM BASTÃO DO IPERADOR (*Etilingera
elator*)¹**

ÓLEOS ESSENCIAIS EM DIFERENTES TEMPOS DE APLICAÇÃO NO CONTROLE DA ANTRACNOSE (*Colletotrichum tropicale*) EM CONDIÇÕES DE PÓS- COLHEITA EM BASTÃO DO IPERADOR (*Etilingera elatior*)

ACEITES ESENCIALES EN DIFERENTES MOMENTOS DE APLICACIÓN EN EL CONTROL DE ANTRACNOSIS (*Colletotrichum tropicale*) EN CONDICIONES DE POSTCOSECHA EN PALO DE IPERADOR (*Etilingera elatior*)

ESSENTIAL OILS AT DIFFERENT APPLICATION TIMES IN THE CONTROL OF ANTHRACNOSIS (*Colletotrichum tropicale*) IN POST-HARVEST CONDITIONS IN IPERADOR STICK (*Etilingera elatior*)

Resumo

Objetivo do trabalho foi verificar a capacidade dos óleos de menta (*Mentha* sp.), citronela (*Cymbopogon nardus* L) e do fungicida tiofanato metílico de apresentar ação curativa e preventiva, em diferentes tempos de aplicação, sobre a antracnose (*Colletotrichum tropicale*) em hastes de bastão do imperador. Foram determinados os efeitos em condições de pós-colheita (incidência e severidade). Com os dados apresentados nesse estudo, conclui-se que, o óleo essencial de menta em todas as concentrações testadas, o óleo de citronela (0,25%) e o fungicida Tiofanato metílico mostraram eficiência na redução da severidade da antracnose em bastão do imperador, quando aplicados preventivamente nos períodos de 48 e 72 horas. Os óleos essenciais de menta e citronela não reduzem a incidência da antracnose em bastão do imperado, quando aplicados de forma curativa. Os óleos de menta (0,25%) e citronela (1,0%), aplicados de forma curativa, reduzem a severidade da antracnose em bastão de imperador.

PALAVRAS CHAVE: fungo, doença de planta, flores tropicais.

Resumen

El objetivo de este trabajo fue verificar la capacidad de la menta piperita (*Mentha* sp.), la citronela (*Cymbopogon nardus* L) y el fungicida metil tiofanato para

presentar acción curativa y preventiva, en diferentes tiempos de aplicación, sobre la antracnosis (*Colletotrichum tropicale*) en tallos de Bastón del emperador. Se determinaron los efectos en condiciones de poscosecha (incidencia y severidad). Con los datos presentados en este estudio, se concluye que el aceite esencial de menta piperita en todas las concentraciones ensayadas, el aceite de citronela (0.25%) y el fungicida metil tiofanato mostraron eficiencia en la reducción de la severidad de la antracnosis en caña de emperador, cuando se aplica de forma preventiva en la periodos de 48 y 72 horas. Los aceites esenciales de menta y citronela no reducen la incidencia de antracnosis en barra de imperado, cuando se aplican de forma curativa. Los aceites de menta piperita (0,25%) y citronela (1,0%), aplicados de forma curativa, reducen la gravedad de la antracnosis en la vara del emperador.

PALABRAS CLAVE: hongos, enfermedades de las plantas, flores tropicales.

Abstract

The objective of this work was to verify the ability of peppermint (*Mentha* sp.), citronella (*Cymbopogon nardus* L) and the methyl thiophanate fungicide to present curative and preventive action, at different application times, on anthracnose (*Colletotrichum tropicale*) in stems of Emperor's staff. Effects under post-harvest conditions (incidence and severity) were determined. With the data presented in this study, it is concluded that the peppermint essential oil at all concentrations tested, citronella oil (0.25%) and the fungicide methyl thiophanate showed efficiency in reducing the severity of anthracnose in Emperor's cane. , when applied preventively in the periods of 48 and 72 hours. The essential oils of mint and citronella do not reduce the incidence of anthracnose stick of imperado, when applied in a curative way. Peppermint (0.25%) and citronella (1.0%) oils, applied in a curative way, reduce the severity of anthracnose in emperor's stick.

KEYWORDS: fungus, plant disease, tropical flowers.

INTRODUÇÃO

A floricultura é um negócio emergente e de lucratividade em expansão no mundo todo, inclusive no Brasil, sendo considerado um dos mais promissores segmentos da horticultura intensiva no agronegócio nacional (JUNQUEIRA & PEETZ, 2008; SILVA et al., 2015). Os países desenvolvidos, apesar de apresentarem elevado consumo *per capita*, possuem limitações para o cultivo de flores tropicais devido às condições climáticas desfavoráveis ou limitação territorial.

O bastão do imperador (*Etilingera elatior*), pertencente à família das Zingiberáceas, com origem na Malásia, considerada ornamental, apresenta grandes inflorescências vistosas, possuindo pétalas diferenciadas nas tonalidades rosa (cultivares Pink Torch e Porcelana), vermelha (cultivar Red Torch) e branco (UNEMOTO, 2010). É produzida durante todo ano, apresentando pico entre os meses de novembro e fevereiro (LAMAS, 2004).

O bastão do imperador é atacado por vários patógenos, no entanto, os fungos acarretam sérios prejuízos, que aparecem durante o período de chuva, ideal para o desenvolvimento desses agentes. A antracnose, causada por espécies do gênero *Colletotrichum*, provocam manchas foliares de coloração marrom ou negra sobre as folhas, com bordos bem definidos, influenciando a taxa fotossintética e reduzindo a produção. A ocorrência de sintomas é observada também nas brácteas, onde há a presença de lesões encharcadas, seguidas de necrose de coloração escura que coalescem e evoluem para podridão generalizada, ocupando grandes áreas dos tecidos florais. O controle da doença é realizado principalmente pelo uso indiscriminado de produtos químicos, que pode ocasionar no surgimento de espécies resistentes, além de causar uma série de problemas ambientais e a saúde humana, tais como a interrupção do controle biológico natural, uma vez que organismos não alvo podem ser afetados (SOYLU et al., 2010), sendo necessária a associação com outros métodos de controle.

Uma alternativa para minimizar os problemas ocasionados é a utilização do controle alternativo, com o uso de óleos essenciais, que possuem potencial para manejar doenças em plantas (ISMAN, 2000). As propriedades antimicrobianas de extratos e óleos essenciais obtidos de plantas medicinais reconhecidas empiricamente durante séculos, mas suas confirmações científicas ocorreram apenas recentemente.

O presente trabalho teve como objetivo verificar o efeito de óleos essenciais de menta (*Mentha* sp.), citronela (*Cymbopogon nardus*) e fungicida, em diferentes tempos de inoculação, no controle preventivo e curativo da antracnose em hastes de bastão em imperador

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia do Campus de Engenharia e Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) e na Fazenda Riachão-Rio Largo/AL.

Buscando avaliar a eficiência dos óleos essenciais e fungicida preventivamente, as hastes ainda no campo, foram aspergidas com solução de óleos de menta e de citronela nas concentrações (0,25; 0,50; 0,75; 1,0 %) e fungicida (45 g. por litro) e ADE (água destilada esterilizada) para a testemunha, e após 48 hs (ensaio 1) e 72 hs (ensaio 2) foram colhidas e inoculadas com o patógeno (*C. tropicale*), direcionando-se, em seguida, jatos de suspensão de conídios (10^6 conídios por mililitro) para cada haste. Já em condições de laboratório, para avaliar o efeito curativo, sobre o desenvolvimento da doença, hastes de bastão do imperador, foram submetidas a mesma metodologia descrita anteriormente, havendo modificação no momento da aplicação dos tratamentos, sendo realizados 48 hs (ensaio 3) e 72 hs (ensaio 4), separadamente, após a inoculação. As pulverizações foram realizadas com jatos direcionados às hastes, aplicando-se 10 mL da solução em cada, adicionado 0,1 µL de Tween 80/100 mililitros de solução e posteriormente acondicionamentos em sacos plásticos e mantidos a 25 ± 1 °C/80-90 % UR, por 48 horas (ambiente de câmara úmida). Todas as hastes foram mantidas em erlenmeyers contendo solução de sulfato de cálcio e avaliadas após um período de cinco dias quanto à incidência e severidade perante escala de notas (BARGUIL et al., 2008).

A escala de notas adotada para avaliação da severidade da doença variou de 1 a 9, com base na área da lesão, correspondendo aproximadamente a 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 82 e 92 % da área da inflorescência lesionada, respectivamente. Os resultados foram expressos em índice de doença, calculado através da fórmula: $ID (\%) = \frac{[(n_1*1)+\dots+(n_9*9)] * (9*N) - 1}{N^2} * 100$, onde, $n_1 \dots n_9$ = número de hastes infectadas com a respectiva nota e N = número total de hastes inoculadas.

O delineamento experimental utilizado para todos os ensaios foi o inteiramente casualizado, com quinze tratamentos e cinco repetições, sendo cada parcela

representada por 1 haste. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em ambos os ensaios, a análise de variância não revelou significância entre os tratamentos, em relação a variável incidência da doença (Figuras 1 e 2), onde se pode observar que todos os tratamentos apresentaram 100% da doença, nos experimentos de 48 e 72 horas, respectivamente, não diferindo estatisticamente da testemunha. No entanto, diferenças estatísticas foram constatadas quando a severidade da doença foi analisada (Figuras 3 e 4).

Figura 1: Incidência de antracnose em hastes de bastão do imperador submetidas à diferentes tratamentos e inoculação após 48 horas.

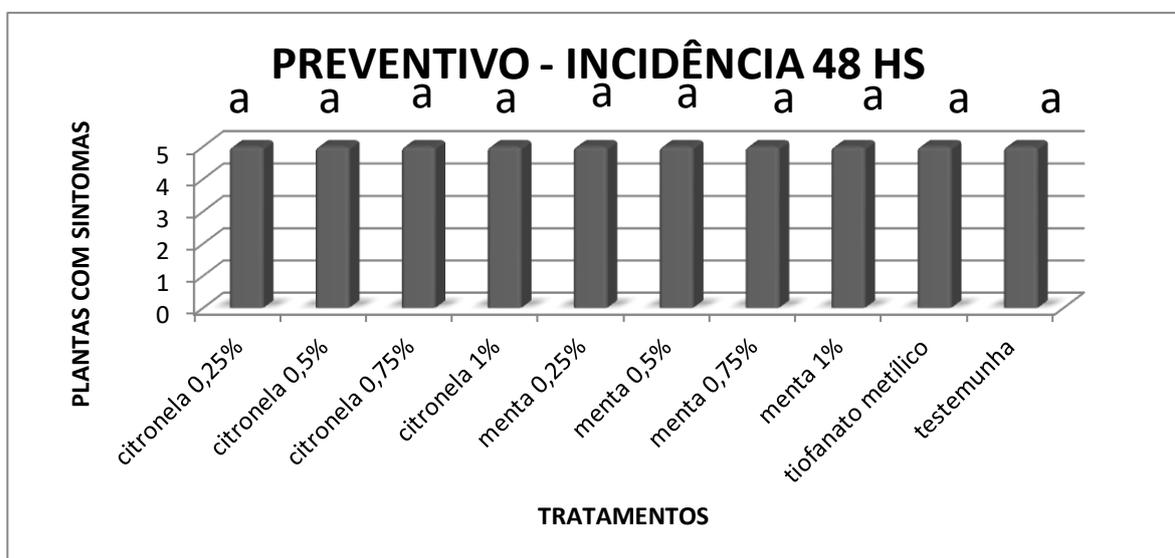


Figura 2: Incidência de antracnose em hastes de bastão do imperador submetidas à diferentes tratamentos e inoculação após 72 horas.

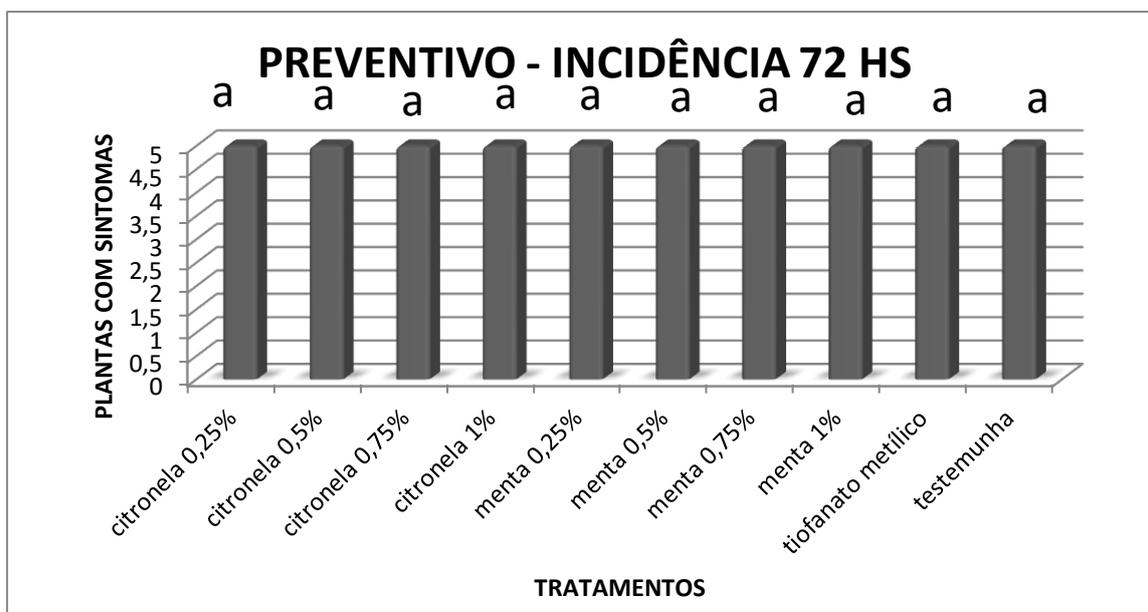


Figura 3: Severidade da antracnose em hastes de bastão do imperador submetidas à diferentes tratamentos e inoculação após 48 horas.

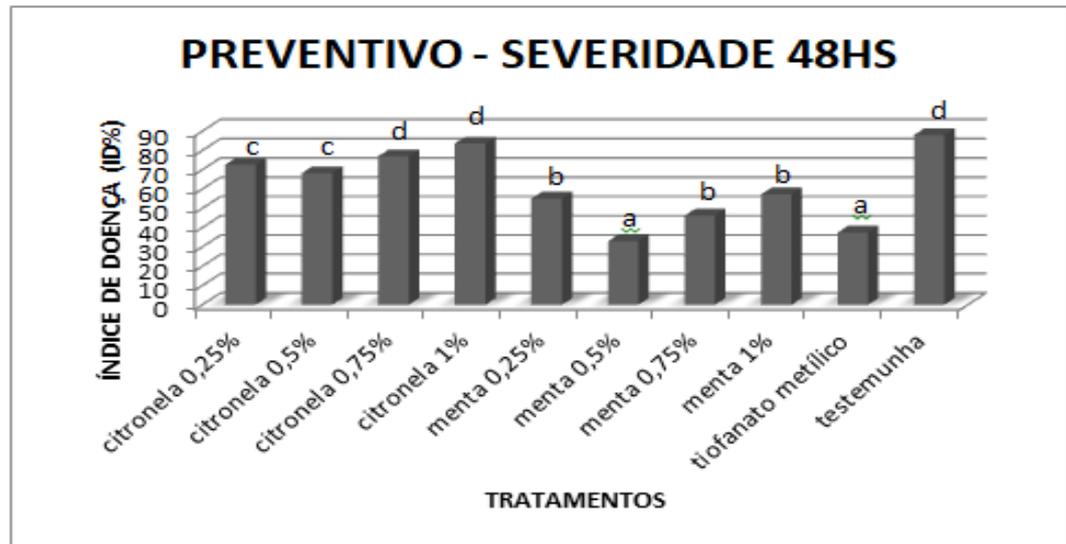
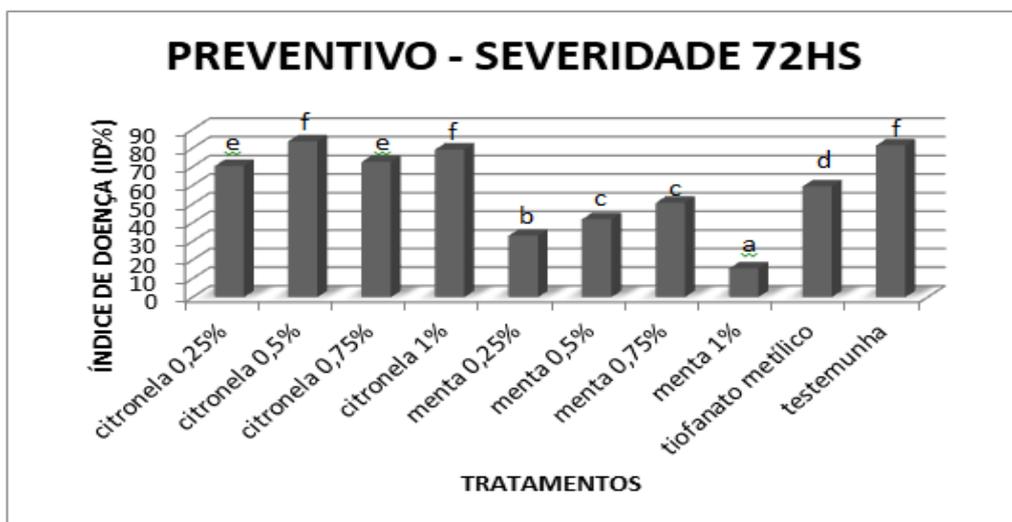


Figura 4: Severidade da antracnose em hastes de bastão do imperador submetidas à diferentes tratamentos e inoculação após 72 horas



Na Figura 3 é possível observar que, na inoculação após 48 horas, o óleo essencial de menta 0,5% e o fungicida tiofanato metílico (45 g.L^{-1}) apresentaram maior redução da antracnose, seguido do óleo essencial de menta (0,25; 0,75 e 1%) e do óleo essencial de citronela (0,25 e 0,5%), diferindo estatisticamente da testemunha e dos

demais tratamentos, reduzindo a doença em 62,5%; 57,5%; 37,5%; 47,5%, 35%, 20% e 27%, respectivamente.

Quando a inoculação foi realizada após 72 horas, o óleo de menta 1% apresentou melhor resultado na redução da doença (81,4%), seguido de menta 0,25%; 0,50 e 0,75% (59,46%; 48,65% e 37,84%), diferindo estatisticamente da testemunha e dos demais tratamentos. O fungicida tiofanato metílico (45g.L⁻¹) apresentou 27,03% de redução da antracnose (Figura 4).

Em uma pesquisa realizada por Peixinho (2009), sobre o controle da antracnose (*C. gloesporioides*) em bastão do imperador, foi possível observar que, o fungicida tiofanato metílico proporcionou o segundo melhor resultado (40% de incidência), quando comparados à testemunha, discordando dos resultados observados nesta pesquisa. Já para a severidade, o fungicida tiofanato metílico apresentou redução da doença (96%), quando testado preventivamente, corroborando com os resultados encontrados neste trabalho. As diferenças observadas podem estar relacionadas ao comportamento fisiológico das espécies de *Coletotrichum* trabalhadas.

Lima et al. (2008), em estudos usando *C. gossypii* var. *cephalosporioides* (ramulose em algodoeiro), mostraram que o óleo de citronela (*C. nardus*) reduziu o progresso da doença, em um ensaio preventivo realizado em uma estufa, discordando com os dados deste trabalho.

Andrade e Vieira (2016), em uma pesquisa com *C. gloesporioides*, relataram que o óleo essencial de menta (100 µL), apresentou eficiência no controle da doença, corroborando com os resultados apresentados neste trabalho.

Com relação ao tratamento curativo, as Figuras 5 e 6 mostram que, todos os tratamentos testados não reduziram a incidência da doença, ou seja, todas as hastes apresentaram sintomas de antracnose, não diferindo estatisticamente da testemunha em ambos os ensaios. As Figuras 7 e 8 demonstram, por outro lado, que ocorreram diferenças estatísticas quando a severidade da doença foi analisada, tanto em 48 horas quanto em 72 horas.

Figura 5: Incidência de antracnose em hastes de bastão do imperador submetidas à diferentes tratamentos e inoculação após 48 horas.

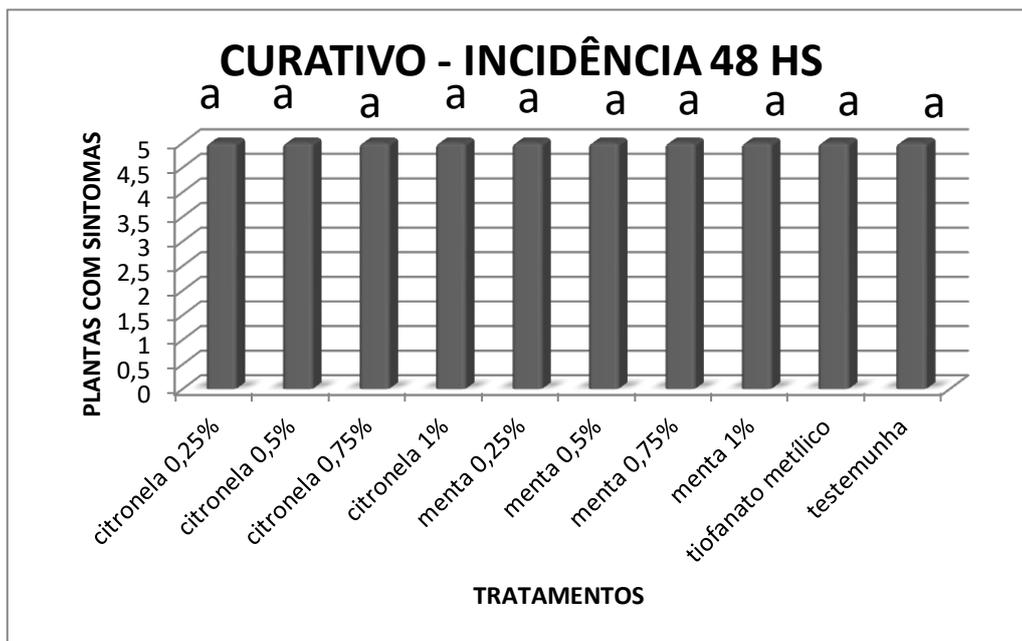


Figura 6: Incidência de antracnose em hastes de bastão do imperador submetidas à diferentes tratamentos e inoculação após 72 horas.

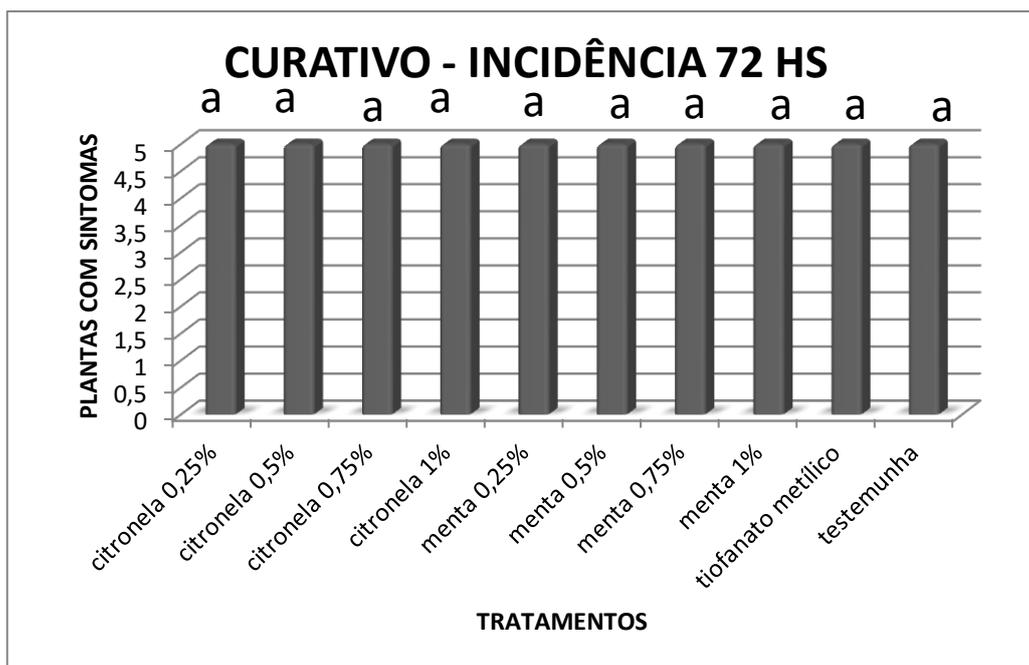


Figura 7: Severidade da antracnose em hastes de bastão do imperador submetidas à diferentes tratamentos e inoculação após 48 horas.

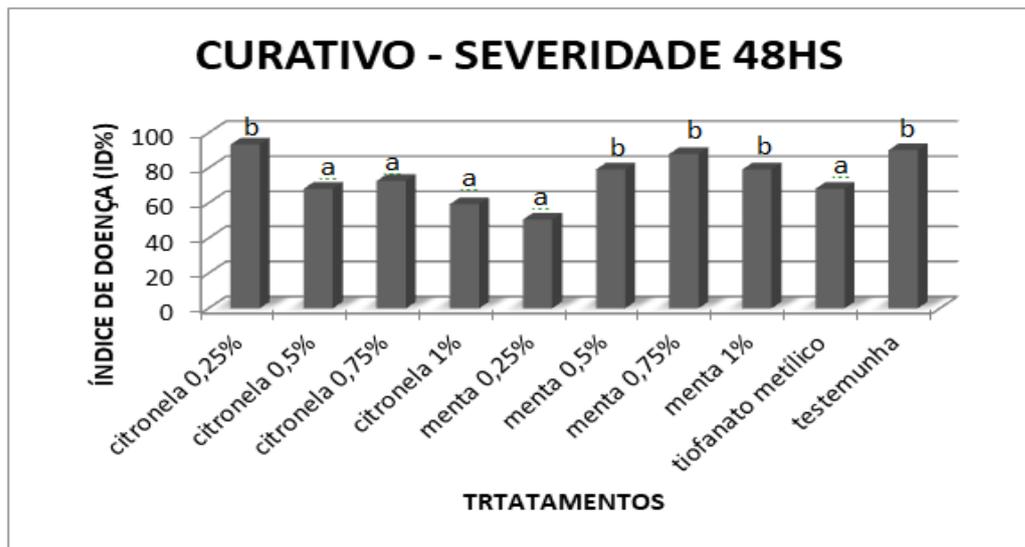
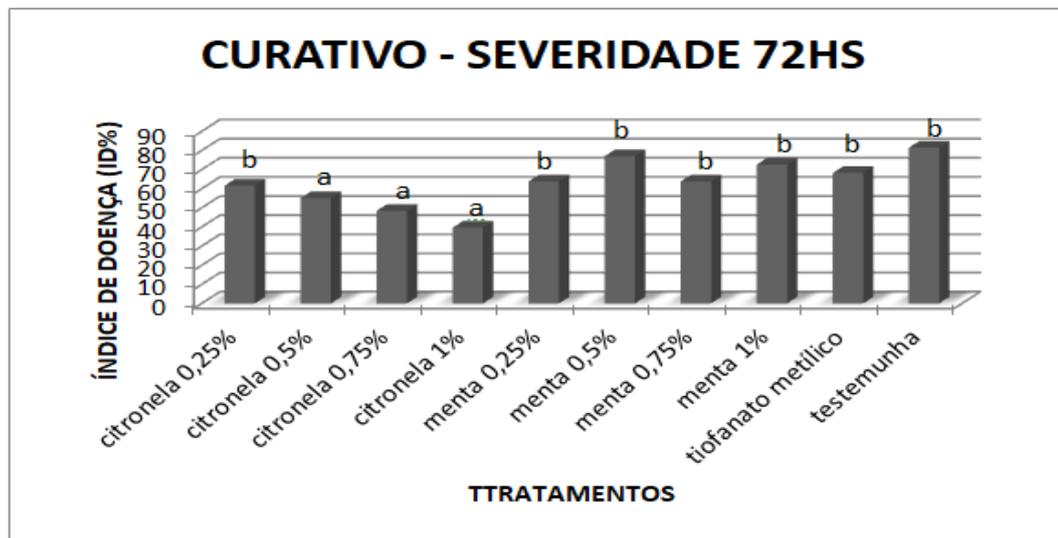


Figura 8: Severidade da antracnose em hastes de bastão do imperador submetidas à diferentes tratamentos e inoculação após 72 horas.



A capacidade do fungicida Tiofanato metílico de reduzir a incidência da antracnose (*C. gloesporioides*) em bastão do imperador, foi observada por Peixinho (2009), discordando dos resultados observados nesta pesquisa (Figuras 5 e 6).

Pode-se observar, na Figura 7, em relação a severidade da doença, após 48h da aplicação dos tratamentos, que o óleo de menta 0,25% e citronela 1% proporcionaram maiores reduções (49,4% e 40,6%), seguidos de citronela 0,5 e 0,75% (24,4% e 34,15%) e do fungicida tiofanato metílico (24,4%), que diferiram estatisticamente dos demais tratamentos.

Quando os tratamentos foram realizados 72h após a inoculação do patógeno, apenas os tratamentos com óleo essencial de citronela (0,5; 0,75 e 1%) apresentaram melhores resultados, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos e reduzindo em 45%, 51,6% e 60,4% os sintomas da antracnose, respectivamente (Figura 8).

Os resultados observados neste trabalho estão de acordo com aqueles encontrados por Sarmiento-Brum et al. (2013), que ao analisar o efeito de óleos essenciais, entre os quais, o óleo de citronela, no controle da antracnose em sorgo (*Colletotrichum graminicola*), observaram uma redução significativa da severidade da doença quando comparadas à testemunha. Ainda de acordo com os autores, o fungicida tiofanato metílico apresentou eficiência na redução da doença, conforme observado no tratamento realizado após 48 horas da inoculação.

Andrade e Vieira (2016), pesquisando o controle da antracnose (*C. gloesporioides*) em frutos de mamoeiro, relataram que, o óleo essencial de menta (100 µL), apresentou controle de 100% da doença, corroborando parcialmente com os resultados apresentados neste trabalho. As diferenças observadas podem estar relacionadas a quantidade de produto utilizado e reação da espécie estudada.

A ineficiência de alguns tratamentos pode ser justificada pela reação de fitotoxidez dos óleos, observada 1 hora após a primeira inoculação dos produtos tanto em campo, quanto em laboratório.

CONCLUSÃO

Com os dados apresentados nesse estudo, conclui-se que, o óleo essencial de menta em todas as concentrações testadas, o óleo de citronela (0,25%) e o fungicida tiofanato metílico mostraram eficiência na redução da severidade da antracnose em bastão do imperador, quando aplicados preventivamente nos períodos de 48 e 72 horas.

Os óleos essenciais de menta e citronela não reduzem a incidência da antracnose em bastão do imperado, quando aplicados de forma curativa. Os óleos de menta (0,25%) e citronela (1,0%), aplicados de forma curativa, reduzem a severidade da antracnose em bastão de imperador.

Referências

ABDELMAGEED, A. H. A.; FARIDAH, Q. Z.; NORHANA, F. M. A.; JULIA, A. A.; KADIR, M. A. Micropropagation of *Etilingera elatior* (Zingiberaceae) by using axillary bud explants. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 18, p. 4465-4469, 2011.

ANDRADE, W. P.; VIEIRA, G. H. C. Efeito dos óleos essenciais sobre a antracnose *in vitro* e em frutos de mamoeiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 18, n. 1, supl. I, p. 367-372, 2016.

CHAIDIR, L.; HASANI, S.; DIANA, A.; SUBANI, M.; WICAKSANA, N. Effect of Sucrose on *in vitro* Bud Multiplication of Torch Ginger (*Etilingera elatior*). **IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science**. 334, 334, 012015. DOI:10.1088/1755-1315/334/1/012015. 2019.

DAN, Y.; LIU, H. Y.; GAO, W. W.; CHEN, S. L. Activities of essential oils from *Asarum heterotropoides* var. *Mandshuricum* against five phytopathogens. *Crop Protection*, New York, v. 29, p. 295-299, 2010.

DÍAZ, P.D.; CABRERA, A.; ALEM, D.; LARRAÑAGAA, P.; ERREIRA, F.; RIZZA, M.D. Antifungal activity of medicinal plant extracts against phytopathogenic fungus *Alternaria* spp. *Chilean Journal of Agricultural Research*, Canelones, v.71, p.231239, 2011.

FERRAZ, S.; LOPES, E.A.; AMORA, D.X. Controle de fitonematoides com o uso de extratos e óleos essenciais de plantas. In: Poltronieri, L. S.; Ishida, A. K. N. (Ed). Métodos alternativos de controle de insetos-praga, doenças e plantas daninhas. Panorama atual e perspectivas na agricultura. Belém: **EMBRAPA Amazônia Oriental** 2008. p.153-186.

FERREIRA, D.F. SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, p.1039-1042, 2011.

LIMA, W. G.; SANTOS, R. C.; CÂMARA, C. A. G.; CÂMARA, M. P. S.; MELO-FILHO, P. A. Citronella oil inhibits cotton ramulosis in controlled conditions. **Pest Technology** v.2, p.24-27. 2008.

OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; CARDOSO, M. G.; GUIMARÃES, L. G. L.; PICCOLI, R. H. Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de *Cymbopogon*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 1, p. 8-16, out. 2011.

PEIXINHO, G. S. **Avaliação dos efeitos de indutores de resistência no controle da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) em inflorescências de Bastão do Imperador (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Smith)**. 2009. 41p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

SARDINHA, D. H. S.; RODRIGUES, A. A. C.; DINIZ, N. B.; LEMOS, R. N. S. de; SILVA, G. S. da Fungos e nematóides fitopatogênicos associados ao cultivo de flores tropicais em São Luís – MA. **Summa Phytopathol**, v. 38, n. 2, p. 159-162, 2012.

SARMENTO-BRUM, R. B. C. et al. Efeito de óleos essenciais de plantas medicinais sobre antracnose do sorgo. *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 29, **Supplement 1**, p. 1549-1557. 2013

SOYLU, E. M.; KURT, S.; SOYLU, S. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. **International Journal of Food Microbiology, Amsterdam**, v. 143, p. 183-189, ago. 2010.

THOMAS, G. J.; SWEETINGHAM, M. W.; ADCOCK, K. G. Application of fungicides to reduce loss in anthracnose-infected lupins. **Crop Protection** v.27, n.7, p.1071-1077, 2008.

HANG, J. The potential of new fungicide fludioxonil for stem-end rot and green mold control Florida citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology.**, v. 46, p. 262-270, 2007.