



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO  
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS E FLORESTAIS  
ENGENHARIA FLORESTAL

ELEN RAQUEL FERREIRA MACIEL

**EXTRATO PIROLENHOSO NO CONTROLE DE MICRORGANISMOS  
FITOPATOGÊNICOS**

MOSSORÓ

2020

ELEN RAQUEL FERREIRA MACIEL

**EXTRATO PIROLENHOSO NO CONTROLE DE MICRORGANISMOS  
FITOPATOGÊNICOS**

Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal.

Orientadora: Narjara Walessa Nogueira de Freitas, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>.

Co-orientadora: Poliana Coqueiro Dias Araujo, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>.

MOSSORÓ

2020

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)  
Setor de Informação e Referência (SIR)

M152e Maciel, Elen Raquel Ferreira.  
Extrato Pirolenhoso no Controle de  
Microrganismos Fitopatogênicos / Elen Raquel  
Ferreira Maciel. - 2020.  
37 f. : il.

Orientadora: Narjara Walessa Nogueira de  
Freitas.  
Coorientadora: Poliana Coqueiro Dias Araujo.  
Monografia (graduação) - Universidade Federal  
Rural do Semi-árido, Curso de Engenharia  
Florestal, 2020.

1. Controle alternativo. 2. Licor pirolenhoso.  
3. Eucalyptus urograndis. I. Nogueira de Freitas,  
Narjara Walessa, orient. II. Dias Araujo, Poliana  
Coqueiro, co-orient. III. Título.

Bibliotecário-Documentalista  
Nome do profissional, Bib. Me. (CRB-15/10.000)

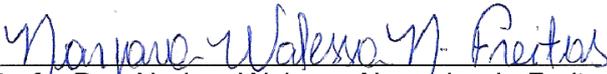
ELEN RAQUEL FERREIRA MACIEL

**EXTRATO PIROLENHOSO NO CONTROLE ALTERNATIVO DE  
MICROORGANISMOS FITOPATOGÊNICOS**

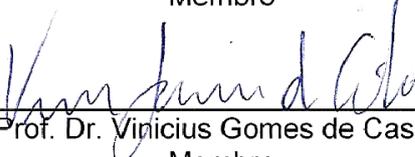
Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal.

Defendida em: 21 / 01 / 2020

**BANCA EXAMINADORA**

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Narjara Walesa Nogueira de Freitas  
Presidente

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Poliana Coqueiro Dias Araújo  
Membro

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Vinicius Gomes de Castro  
Membro

## AGRADECIMENTOS

A Deus, meu melhor amigo, que sempre esteve comigo, principalmente nos momentos mais difíceis, me dando graça para saber como lidar com certas situações, orientando que decisões deveria tomar e colocando pessoas boas no meu caminho.

A minha família, principalmente meus pais, que sempre me apoiam e acreditam que posso chegar mais longe do que penso. Durante todo esse tempo, passei por muitas dificuldades, mas vocês sempre estiveram junto, me incentivando e fazendo o possível para me ajudar. E falando em dificuldades, não poderia esquecer de agradecer ao meu irmão, Emanuel, por tantas vezes me levar nos finais de semana para avaliar o experimento. Sem sua ajuda não teria conseguido, obrigada!

Aos meus tios e tias que também colaboraram para que eu chegasse até aqui, seja me dando carona ou ajudando para que eu conseguisse concluir algumas etapas.

A professora Poliana que me deu a oportunidade de aprender com ela não somente assuntos relacionados ao curso, mas também me fez entender que preciso confiar e acreditar no meu potencial. A senhora se tornou uma inspiração por seu amor pela Engenharia Florestal e por sua dedicação em fazer o melhor sempre, obrigada por tudo!

A professora Narjara, que de boa vontade aceitou me orientar, sempre esteve disponível para me atender e me ajudou a manter a calma, me dizendo que tudo ia dar certo. Obrigada por tudo, inclusive pela paciência.

A professora Márcia Michelle que forneceu meio de cultura e alguns dos microrganismos utilizados no experimento.

A professora Elaine Cristina, que se tornou uma amiga querida e sempre disse que eu podia vencer as minhas dificuldades.

A Lidiane, por sempre me ajudar com os equipamentos e materiais do laboratório, em todo o processo de montagem do experimento.

Aos demais professores que também contribuíram para minha formação e sempre estiveram dispostos a ajudar, tornando o aprendizado mais fácil.

A minha amiga, Dávilla, que esteve comigo em cada momento desse trabalho e foi uma das pessoas que mais me deram apoio em todo o processo de montagem, análise e conclusão. Sem esquecer de agradecer ao primo de Dávilla, Francisco, que nos incentivou a fazer esse curso e hoje vejo que valeu muito a pena!

Aos meus queridos amigos, Cirilo, Giliard, Gleydson, Hiago, Lunara e Nardella que de uma forma ou de outra também contribuíram para que eu pudesse terminar meu trabalho e muitas vezes ouviram meus desabafos. Vocês são incríveis, obrigada!

Por fim, agradeço a todos que oraram por mim e aos meus colegas que estiveram comigo em algum momento dessa caminhada.

## RESUMO

Em virtude dos danos causados por fitopatógenos em viveiros ou plantios florestais, buscou-se encontrar formas de controle para estes. Todavia, o intenso uso de produtos químicos vem causando impactos ao ambiente e aos seres vivos, razão pela qual tornou-se necessário fazer uso de produtos naturais com propriedades fungitóxicas. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o licor pirolenhoso do *Eucalyptus urograndis* clone GG100, como agente inibidor *in vitro* de *Fusarium* sp., *Ganoderma* sp., *Macrophomina* sp. e *Sclerotium rolfsii*. O extrato foi adicionado ao meio de cultura e vertido em placas de Petri. Posteriormente os fungos foram repicados em discos de 1 mm de diâmetro e depositados no centro de cada placa. Os tratamentos utilizados foram: T1: 0, T2: 5, T3: 10, T4: 15 e T5: 20 mL.L<sup>-1</sup> de licor pirolenhoso. Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, com nível de significância de 5%. As variáveis analisadas foram crescimento fúngico, índice de velocidade de crescimento micelial e porcentagem de inibição do crescimento micelial. Observou-se redução gradativa no crescimento micelial, na velocidade de crescimento e aumento na porcentagem de inibição de todos os fungos em estudo, na dose de 20 mL.L<sup>-1</sup>. Portanto, foi possível concluir que o extrato pirolenhoso de eucalipto possui propriedades fungitóxicas para os fungos analisados.

**Palavras-chave:** Controle alternativo, licor pirolenhoso, *Eucalyptus urograndis*.

## ABSTRACT

Due to damages caused by phitopathogens in nursery or forest plantings, aimed to find control methods against them. However, the intense use of chemical products is causing environmental and health impacts, thus became necessary to use natural products with fungi toxics properties. That way, the present work aimed to evaluate the *Eucalyptus urograndis* clone GG100 pyrolysis liquid, *in vitro* as inhibitory agent against *Fusarium* sp., *Ganoderma* sp., *Macrophomina* sp. and *Sclerotium rolfsii*. The extract was added to culture medium and placed at Petri dishes. Afterwards, the fungi were peaked into 1mmameter disks and placed at the center of each dish. The treatments used were: T1: 0, T2: 5, T3: 10, T4: 15 and T5: 20 mL.L<sup>-1</sup> of pyrolysis liquid. The analyzed variables were fungi growth, index of mycelial growth rate and percentage of mycelial growth inhibition. The obtained results were submitted to analysis of variance by F test, to 5% significance level, and the averages were compared by Tukey test to 5% of probability and proceeding a regression analysis. It was possible to observe a gradual decrease of mycelial growth, of growth rate and increase of inhibition percentage of all studied fungi. Therefore, it was possible to conclude that pyrolysis liquid from Eucalyptus tree has toxic properties against the analyzed fungi species.

**Keywords:** Alternative control, pyrolysis liquid, *Eucalyptus urograndis*.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Crescimento micelial (cm) *in vitro* dos fungos *Fusarium* sp., *Ganoderma* sp., *Macrophomina* sp. e *Sclerotium rolfsii* sob as seguintes doses de extrato pirolenhoso de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*): T1: 0, T2: 5, T3: 10, T4: 15 e T5: 20 mL.L<sup>-1</sup> ..... 25
- Figura 2 – Índice de velocidade de crescimento micelial *in vitro* (IVCM) (cm/dia) dos fungos *Fusarium* sp., *Ganoderma* sp., *Macrophomina* sp. e *Sclerotium rolfsii* sob a aplicação de doses de extrato pirolenhoso de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*): T1: 0, T2: 5, T3: 10, T4: 15 e T5: 20 mL.L<sup>1</sup> ..... 27
- Figura 3 – Porcentagem de inibição do crescimento (PIC) micelial (%) *in vitro* dos fungos *Fusarium* sp., *Ganoderma* sp., *Macrophomina* sp. e *Sclerotium rolfsii* sob a aplicação de doses de extrato pirolenhoso de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*): T1: 0, T2: 5, T3: 10, T4: 15 e T5: 20 mL.L<sup>1</sup> ..... 29

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Compostos químicos identificados no LP de *Eucalyptus urograndis* GG100 para diclorometano, éter dietílico e acetato de etila ..... 21
- Tabela 2 – Crescimento micelial (cm) *in vitro* dos fungos *Fusarium* sp., *Ganoderma* sp., *Macrophomina* sp. e *Sclerotium rolfsii* sob as seguintes doses de extrato pirolenhoso de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*): T1: 0, T2: 5, T3: 10, T4: 15 e T5: 20 mL.L<sup>-1</sup>..... 26
- Tabela 3 – Índice de velocidade de crescimento micelial *in vitro* (IVCM) (cm/dia) dos fungos *Fusarium* sp., *Ganoderma* sp., *Macrophomina* sp. e *Sclerotium rolfsii* sob a aplicação de doses de extrato pirolenhoso de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*): T1: 0, T2: 5, T3: 10, T4: 15 e T5: 20 mL.L<sup>-1</sup>. ..... 28
- Tabela 4 – Porcentagem de inibição do crescimento (PIC) micelial (%) *in vitro* dos fungos *Fusarium* sp., *Ganoderma* sp., *Macrophomina* sp. e *Sclerotium rolfsii* sob a aplicação de doses de extrato pirolenhoso de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*): T1: 0, T2: 5, T3: 10, T4: 15 e T5: 20 mL.L<sup>-1</sup>..... 30

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2 REFERENCIAL TEORICO .....</b>	<b>14</b>
2.1 Doenças em espécies florestais .....	14
2.2 Extratos vegetais .....	15
2.2.1 Licor pirolenhoso .....	18
2.2.2 Licor pirolenhoso de <i>Eucalyptus urograndis</i> .....	19
<b>3 OBJETIVO .....</b>	<b>20</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
4.1 Obtenção do licor pirolenhoso .....	21
4.2 Obtenção dos patógenos.....	23
4.3 Biotestes <i>in vitro</i> para determinação da atividade antifúngica .....	23
4.4 Teste de inibição do crescimento micelial.....	23
4.5 Análise estatística.....	24
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>25</b>
5.1 Inibição do crescimento micelial.....	25
5.2 Índice de velocidade de crescimento .....	27
5.3 Porcentagem de inibição do crescimento micelial .....	29
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>31</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>32</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O uso intensivo de produtos químicos no controle de doenças em plantas vem causando efeitos nocivos ao ambiente. Resíduos destes produtos podem se depositar sobre plantas, solo e ambientes aquáticos, contaminando-os, além disso, a dosagem incorreta pode promover a resistência dos microrganismos aos produtos químicos tornando cada vez mais difícil o controle. Todos esses fatores contribuem para ocasionar problemas de saúde no homem além da contaminação do meio ambiente (SABIK; JEANNOT; RONDEAU, 2000; PRITHIVIRAJ *et al.*, 1997; CASSAL *et al.*, 2014). Em virtude disso, tem-se buscado produtos naturais para o controle de doenças em plantas e, entre as alternativas que vem sendo utilizadas estão o controle biológico, o uso de extratos vegetais e óleos essenciais (LANNA FILHO; FERRO; PINHO, 2010; FRANZENER *et al.*, 2007).

Conforme exposto por Fawcett e Spencer (1970) existem muitas substâncias com potencial fungitóxico ou fungistático na composição química de plantas, motivo pelo qual as espécies que possuem esse tipo de substâncias passaram a ser utilizadas na síntese de extratos e óleos vegetais no controle de fitopatologias.

Os extratos vegetais são importantes na relação ecológica planta-microrganismos, pois são constituídos de metabólitos secundários com propriedades tóxicas capazes de eliminar herbívoros ou patógenos que atacam a planta (NASCIMENTO; NERY; RODRIGUES, 2008; PASTOR *et al.*, 2013). Pelo fato de estarem presas ao solo, não se locomovendo como os animais, as plantas produzem esses metabólitos como resposta a estresses causados por fatores bióticos ou abióticos (PASTOR *et al.*, 2014).

Diante disso e com base na utilização popular das espécies, vários pesquisadores têm realizado estudos sobre a atividade biológica das plantas, e muitos têm comprovado que os extratos destas se mostraram capazes de controlar uma ampla diversidade de microrganismos, inclusive fungos e bactérias (CALLOU *et al.*, 2012). Como exemplo de espécies com esse potencial, tem-se a *Mentha piperita* L. (hortelã) e a *Pimpinella anisum* L. (erva-doce) que se mostraram eficientes ao reduzir a incidência dos fungos *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Verticillium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp. e *Nigrospora* sp., que atacam sementes de *Cedrella fissilis* Vell. e *Cereus jamacaru* DC. (MATA *et al.*, 2009; MIETH, 2007).

Extratos vegetais de espécies florestais também vêm sendo estudados com a finalidade de controlar microrganismos que causam doenças em plantas. A exemplo do nim (*Azadirachta indica* A. Juss), espécie de origem asiática, que possui propriedades fungitóxicas

e tem sido bastante utilizado no controle de vários patógenos como, *Sclerotinia sclerotiorum*, causador do mofo branco em *Lycopersicon esculentum* Mill., *Colletotricum gloeosporioides*, causador da podridão amarga em *Malus domestica* Bork., *Phakopsora pachyrhizi*, causador da ferrugem asiática na *Glycine max* (L.) Merr., dentre outros (SCHMUTTERER 1990; MELLO; LOURENÇO; AMORIM, 2005; LEITE *et al.*, 2009; MEDICE *et al.*, 2007).

Além dos extratos vegetais, outra alternativa que vem sendo aplicada com o objetivo de restringir a ação de microrganismos fitopatogênicos é o licor pirolenhoso. O licor, também conhecido por extrato pirolenhoso, líquido pirolenhoso, vinagre de madeira ou simplesmente pirolenhoso, é proveniente da condensação da fumaça derivada da carbonização da madeira obtida na produção de carvão vegetal (ROGACIANO 2017). Pesquisas realizadas por Schnitzer *et al.* (2015), Martins (2017), Oramahi *et al.* (2018) e Oliveira (2019) relataram os diversos usos do extrato pirolenhoso como, bioestimulante vegetal, indutor de enraizamento, fertilizante, fungicida, dentre outros.

Considerando as propriedades inibitórias dos extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial fungitóxico do licor pirolenhoso de *Eucalyptus urograndis* clone GG100, no crescimento micelial *in vitro* de *Fusarium* sp., *Ganoderma* sp., *Macrophomina* sp. e *Sclerotium rolfsii*.

## 2 REFERENCIAL TEORICO

### 2.1 Doenças em espécies florestais

Conforme descrito por Ghini e Bettiol (2000) as doenças em plantas ocorrem naturalmente nos ambientes com o objetivo, em parte, de conservar o equilíbrio biológico e a ciclagem de nutrientes, sendo consideradas benéficas. Entretanto, as doenças em espécies florestais causam danos potenciais em viveiros e plantios, de diversas espécies como o eucalipto, pinus, mogno, araucária, seringueira, paricá, etc., de acordo com o exposto por Auer (2005), Auer e Santos (2009), Gasparotto *et al.* (2001), Oliveira (1981), Sambugaro *et al.* (2004) e Tremacoldi *et al.* (2009 e 2013).

Diversos patógenos podem causar danos em espécies florestais. Netto e Faiad (1995), realizando experimentos com sementes de essências florestais, encontraram 24 gêneros associados a estas, que foram: *Alternaria*, *Ascochyta*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Cylindrocladium*, *Epicoccum*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Macrophoma*, *Mucor*, *Nigrospora*, *Penicillium*, *Periconio*, *Pestalotia*, *Pithomyces*, *Phoma*, *Phomopsis*, *Rhizoctonia*, *Torula* e *Trichoconis*. Dentre estes, o gênero que possui maior gama de hospedeiros e é comumente encontrado relacionado a sementes na literatura, é o *Fusarium* sp.

Os patógenos que atacam as espécies florestais podem incidir sobre os indivíduos em diversas fases do seu desenvolvimento. De forma geral, os danos provocados pelos patógenos em plantas são morte em pré-emergência, tombamento de mudas, manchas necróticas em folhas, caules, podridão radicular, descoloração de tecidos, deformações como hipertrofias e subdesenvolvimento, infecções latentes, etc. (MENDES *et al.* 2005). Os principais causadores desses danos são os fungos, que permanecem viáveis por longos períodos de tempo e provocam irregularidades ou danos na fase de plântula, como citado por Lazarotto (2010). Mendes *et al.* (2005) relataram que a espécie *Fusarium solani* e *Pestalotiopsis* sp. causam murcha e manchas foliares, respectivamente, em plântulas de *Mimosa caesalpiniaefolia*.

Em sementes de *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan (angico-vermelho), Maciel *et al.* (2012) verificaram a presença de *Alternaria* sp.; *Botrytis* sp.; *Fusarium* sp.; *Cladosporium* sp. e *Pestalotia* sp., fungos considerados potencialmente patogênicos, e destes, concluiu-se que o *Fusarium* sp. foi transmitido via semente, provocou a má formação do sistema radicular e dos cotilédones e, conseqüentemente o tombamento de pré-emergência das plântulas.

Mundialmente, têm sido relatadas doenças que afetam a espécie *Acacia mearnsii*, como por exemplo, a ferrugem causada por *Uromycladium* spp. No Brasil também há registros de danos causados pela ferrugem, além da gomose, provocada por *Botrytis* sp. e *Cylindrocladium* sp. (SANTOS; AUER; JUNIOR, 1998; SANTOS; LUZ, 2007; SANTOS; SOBROSA; COSTA; CORDER, 2001).

Auer e Santos (2011) relataram diversas doenças que causam danos potenciais a eucaliptocultura, desde a fase de produção da muda, até árvores adultas, comprometendo a produção e qualidade da madeira. Dentre as doenças mencionadas por esses autores estão o cancro, a ferrugem, as manchas foliares, podridão do cerne de árvores vivas, murcha bacteriana e a mancha foliar.

Em *Pinus* sp., foram identificadas várias doenças provocadas por fitopatógenos que incidem sobre esse gênero. Dentre estas estão a deterioração de sementes, tombamento de mudas, podridão de raízes, queima de acículas, seca dos ponteiros, manchas de acícula e a morte de árvores causada por *Hendersonula* (AUER; JÚNIOR; SANTOS, 2001).

Para a espécie *Khaya ivorensis* (mogno africano) foram encontrados registros de fungos causando desfolha nas partes jovens (GASPAROTTO *et al.*, 2001), lesões e cancos no tronco (POLTRONIERI *et al.*, 2002; RECHE *et al.*, 2009), mancha areolada, queima do fio, manchas foliares, mancha zonada, podridão branca e apodrecimento de raízes (POLTRONIERI *et al.*, 2000).

Os plantios de *Hevea brasiliensis* (Willd. ex Adr. de Juss.) Muell-Arg. (seringueira), na Amazônia, são atacados por várias doenças, sendo a principal conhecida como "o mal sul-americano das folhas" ou simplesmente, mal das folhas, mas além dessa, outras doenças atingem os seringais, como a mancha areolada, a antracnose, crosta negra etc. (SILVA; SOUZA, 1986).

Em razão dos problemas causados por fitopatógenos aos plantios e viveiros florestais, se faz necessário a aplicação de metodologias de controle, como o emprego de produtos que contenham substâncias tóxicas capazes de inibir e/ou eliminar o agente causal da doença. Dentre esses produtos, tem se destacado o uso de extratos vegetais como uma forma alternativa à utilização de químicos no controle de patologias florestais.

## **2.2 Extratos vegetais**

Tendo em vista a procura pela redução de danos causados pelos microrganismos fitopatogênicos, foram desenvolvidos inúmeros produtos químicos para sanar esse problema, entretanto o uso excessivo destes resultou em numerosos efeitos negativos aos recursos

naturais e à saúde humana (CASTRO, 2004). Sendo assim, iniciou-se uma busca mais intensa por pesquisas para desenvolver produtos alternativos, que fossem naturais e tivessem potencial fungitóxico ou fungistático.

Diante disso, os tratamentos alternativos a base de extratos vegetais e óleos essenciais tem ganhado cada vez mais espaço ao longo dos anos, e diversos estudos indicando seu potencial no controle de fitopatógenos vêm sendo realizados. Esses extratos podem ser obtidos de diversas partes das plantas, desde folhas, cascas e até raízes. Cunico et al. (2006) produziram extratos a partir de folhas, caule e raízes de *Ottonia martiana* Miq. (anestésia) que foram eficientes no controle de *F. oxysporum*, *Colletotrichum acutatum* e *Rhizoctonia* sp., havendo redução do micélio dos fungos. Balbi-Peña et al. (2006) trabalharam com extratos de rizomas de cúrcuma e descobriram que este inibiu o crescimento micelial *in vitro* de *Alternaria solani*.

Diversos estudos já foram realizados comprovando o potencial de espécies herbáceas e de uso medicinal no controle de fitopatógenos. Novais et al. (2003) afirmaram que espécies pertencentes a família Rutaceae, como a *Ruta graveolens* L. (arruda) possuem metabólitos secundários que inibem o crescimento de microrganismos. Essa espécie também foi estudada por Almeida, Camargo e Panizzi (2009), os quais relataram que a *R. graveolens* se mostrou eficiente no controle a *Colletotrichum acutatum* causador da flor preta em morangueiros. Os mesmos autores também testaram extratos de *Allium sativum* (alho), *Nicotiana tabacum* (fumo) e *Artemisia absinthium* (losna) para controle de *C. acutatum* e obtiveram resultados positivos. Igualmente, Lazarotto (2009) trabalhou com *A. sativum* e observou que essa espécie foi eficaz na redução a incidência de diversos patógenos que atacam sementes de cedro, como *Phomopsis* spp., *Penicillium* spp., *Pestalotia* spp., *Ascochyta* spp., *Aspergillus niger*, *Trichoderma* spp., *Rhizoctonia* spp. e *Colletotrichum* spp.

Espécies florestais também vêm sendo alvo de pesquisas para conhecer seu potencial no controle de microrganismos patogênicos. Maia et al. (2013) trabalharam com sanidade de sementes de *Stryphnodendron guianense* [Aubl.] Benth. (favinha de paca), *Handroanthus impetiginosus* [Mart. Ex DC.] Mattos (ipê roxo) e *Jacaranda copaia* [Alblet.] D. Don. (parapará), utilizando extratos de *Helicostylis tomentosa* [Poep. & Endl.] Rusby (inharé), *Bauhinia splendens* HBK (escada de macaco) e *Uncaria tomentosa* [Willd. ex Roem. & Schult.] DC. (unha de gato). Os resultados mostraram que os extratos de *B. splendens* e *U. tomentosa* foram eficientes em inibir o crescimento micelial de *Penicillium* sp. em sementes de *H. impetiginosus*. Para sementes de *J. copaia*, o melhor extrato aquoso foi *B. splendens* que inibiu o *Penicillium* spp. e o de *U. tomentosa*, para o gênero *Gliomastix* sp. Quanto as

sementes de *S. guianense* nenhum dos extratos apresentou capacidade para inibir os fungos encontrados.

Lima e Ferreira Neto (2014) observaram que o extrato etanólico de frutos de *Solanum grandiflorum* HOOK, foi capaz de inibir colônias do fungo *R. solani*. Sartori et al. (2011) e Bomfim Celoto et al. (2008) trabalharam com extratos de várias espécies e dentre elas o de *Eucalyptus citriodora* (eucalipto). Os resultados de ambos os trabalhos mostraram que essa espécie possui potencial antifúngico, sendo capaz de inibir mais de 90% dos esporos de *C. gloeosporioides* e o fungo *Botrytis* sp., que causa danos em flores.

Borges et al. (2013) realizaram experimentos com *Mimosa tenuiflora* (Mart.) Benth., conhecida como jurema-preta, da qual se produziu um extrato aquoso que foi capaz de inibir a germinação, o crescimento micelial e a esporulação *in vitro* da *Alternaria cucumerina*, causadora da mancha-de-alternária em *Citrullus lanatus* Thumb. Mansf. Outra espécie que ocorre nesse bioma em que se verificou potencial para inibição de crescimento micelial, desta vez sendo utilizada para produção de óleo essencial, foi a *Lippia sidoides* Cham. (alecrim pimenta), a qual se comprovou eficiente em controlar patógenos que causam problemas na micropropagação de plantas, como *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., etc. (OLIVEIRA et al., 2008).

Silva et al. (2011) realizaram experimentos com extratos de folhas e cascas da espécie *Ziziphus joazeiro* Mart., conhecida popularmente como juazeiro, para avaliar seu potencial antimicrobiano. Os autores observaram que os extratos das folhas foram eficientes em inibir *Mycobacterium smegmatis* e *Micrococcus luteus* e os extratos retirados das cascas também apresentam potencial antimicrobiano, inibindo *Mycobacterium smegmatis*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, *Micrococcus luteus* e *Candida albicans*.

Por apresentar substâncias químicas com atividade antimicrobiana, Callou et al. (2012) trabalharam com a casca da espécie *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. (sabiá) para produzir um extrato, o qual foi misturado a diferentes solventes (acetato de etila, ciclohexano e metanol) e testado no controle das seguintes bactérias, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium smegmatis* e do fungo *Candida albicans*. Ao final do experimento, os autores comprovaram que o extrato solúvel em ciclohexano demonstrou ter potencial de controle para *Candida albicans*, o extrato solúvel em acetato de etila apresentou inibição para todos os microrganismos testados e o extrato metanólico apresentou halos de inibição para *Mycobacterium smegmatis* e *Staphylococcus aureus*.

França (2019) avaliou o potencial fungitóxico do óleo essencial de *Lippia gracilis* L. (alecrim-da-chapada), comparado com o potencial dos fungicidas comerciais Tiram e

Mancozebe. O autor testou o óleo essencial no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. musae*, *C. fructicola*, *C. asianum*, *Alternaria alternata*, *A. brassicicola*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum* f. sp. cubense e *Lasiodiplodia theobromae*, fungos que causam grandes problemas em todas as etapas da produção agrícola. Os resultados provaram que o óleo essencial de *L. gracilis* mostrou efeito similar ou superior aos fungicidas utilizados no experimento, havendo inibição micelial total.

Em vista disso, uma alternativa que têm se mostrado promissora no controle de fitopatógenos é o uso do licor pirolenhoso, líquido este que é resultado do processo de carbonização da madeira (ZANETTI *et al.* 2004). O licor pode ser utilizado como adubo orgânico (MASCARENHAS *et al.*, 2006), repelente de pragas, de pássaros, morcegos e roedores, além de prevenir doenças em cultivos (ENCARNAÇÃO, 2001).

### 2.2.1 Licor pirolenhoso

O licor ou extrato pirolenhoso é um subproduto obtido no processo de carbonização da madeira para produção de carvão vegetal. Possui coloração de amarela a marrom avermelhada e apresenta cerca de 200 compostos químicos com destaque para ácido acético, acetona, metanol e água (BORSUK, 2009; ZANETTI *et al.*, 2003; SILVEIRA, 2010).

A obtenção do extrato pirolenhoso se dá por meio da manipulação do líquido pirolenhoso para extração do alcatrão insolúvel. Assim, é feita a decantação artesanal do líquido e este fica reservado por aproximadamente 100 dias para separação das três fases: a superior que é composta por óleos leves; a mediana que contém o extrato pirolenhoso puro e a inferior que se trata do alcatrão precipitado. Em seguida, faz-se a destilação a vácuo para separação do alcatrão solúvel e obtém-se o licor pirolenhoso (SILVEIRA, 2010).

Em geral esse subproduto não é aproveitado, sendo liberado no ambiente, causando poluição. No entanto, estudos têm demonstrado a importância e o potencial do licor pirolenhoso no controle de fitopatógenos (SOUZA-SILVA *et al.*, 2006).

Donde *et al.* (2013) comprovaram a ação inibitória do extrato pirolenhoso de teca sobre crescimento micelial do fungo *Phytophthora* sp. Pieta (2017) trabalhou com extratos pirolenhosos de *Eucalyptus* spp. (eucalipto) e *Saccharum officinarum* L. (cana-de-açúcar) e observou que ambos apresentam atividade antifúngica sobre *Sclerotium rolfsii*, *Colletotrichum truncatum*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Macrophomina phaseolina*.

David, Ceresini e Peres (2018), objetivando controlar o fungo *Rhizoctonia solani*, causador da queima foliar em citros, realizaram experimentos *in vitro* com diferentes extratos vegetais. Os tratamentos consistiram no uso dos extratos de: *Vernonia polyanthes* Ad. (assa

peixe), *Plectranthus barbatus* Andr. (boldo), *Azadirachta indica* (nim), *Camelia sinensis* (L.) Kutntze. (chá-verde), *Bauhinia forficata* Link. (pata-de-vaca), manipueira (que se trata de um líquido amarelo resultante da prensagem das raízes de *Manihot esculenta* Crantz, conhecida popularmente como mandioca), e diferentes doses de licor pirolenhoso da espécie *Enterolobium contorsiliquum* (Vell.) Morong, conhecida por timburi. Ao final do experimento, o licor pirolenhoso obteve resultados superiores quando comparado aos demais extratos utilizados, apresentando efeito fungicida.

### **2.2.2 Licor pirolenhoso de *Eucalyptus urograndis***

Pesquisas utilizando o licor pirolenhoso de *Eucalyptus urograndis* no controle de fitopatógenos ainda são escassas. Foi encontrado apenas o registro de Almeida (2012) que realizou experimentos com extrato pirolenhoso dessa espécie, e verificou que este além de apresentar propriedades antifúngicas contra *Aspergillus niger*, tem potencial para ser utilizado como conservante de cosméticos.

Apesar da escassez de estudos com licor pirolenhoso de eucalipto, espécies como *Eucalyptus citriodora* Hooker M. vêm sendo estudadas para produção de extratos que controlem microrganismos patogênicos. Bonaldo et al. (2004) trabalharam com o extrato aquoso desta espécie e verificaram que esta, além de provocar a indução a resistência, possui ação antifúngica contra *Colletotrichum lagenarium*, em pepino.

Em ensaios para verificar o potencial fungitóxico de dez extratos vegetais, Venturoso et al. (2011) observaram que o extrato de *Eucalyptus citriodora* apresentou potencial para inibir o crescimento micelial de *Penicillium* sp.

### **3 OBJETIVO**

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial fungitóxico do licor pirolenhoso de *Eucalyptus urograndis* clone GG100, no crescimento micelial *in vitro* de *Fusarium* sp., *Ganoderma* sp., *Macrophomina* sp. e *Sclerotium rolfsii*.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Patologia e Biotecnologia Florestal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Campus Mossoró, Rio Grande do Norte. A pesquisa compreendeu a verificação *in vitro* das características fungitóxicas de doses do licor pirolenhoso sobre o crescimento micelial e esporulação dos fungos *Fusarium* sp., *Ganoderma* sp., *Macrophomina* sp. e *Sclerotium rolfsii*.

### 4.1 Obtenção do licor pirolenhoso

O extrato pirolenhoso foi cedido pelo Professor Alexandre Santos Pimenta, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN. Para produção do extrato foi utilizada a madeira de *Eucalyptus urograndis* clone GG100, oriunda de floresta plantada atendida pela UFRN. A composição do licor pode ser verificada na Tabela 1 (PIMENTA *et al.*, 2018).

**Tabela 1.** Compostos químicos identificados no LP de *Eucalyptus urograndis* GG100 para diclorometano, éter dietílico e acetato de etila.

Pico	Composto	Fórmula molecular	Solvente de extração		
			D	E	A
1	2-metil-2-pentanol	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O	X	-	-
2	Ciclopentanona	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O	X	X	X
3	2-metil-ciclopentanona	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O	X	X	X
4	Tetra-hidro-2,2-dimetoxi-furano	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	X	X	X
5	3-metil-ciclopentanona	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O	X	X	X
6	2-metil-piridina	C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> N	X	-	-
7	2- (metoximetil) -furano	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
8	Tetra-hidro-2,5-dimetoxi-furano	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	X	X	X
9	Anidrido 2-metilpropanóico	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	X	-	-
10	1,4-dioxeno	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	X	-	-
11	N- nitrosodimetilamina	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O	X	X	X
12	5-metil-hexa- hidro- 4H -1,3-benzodioxin-4-ona	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O	-	X	-
13	2,4-hexadienal	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O	X	-	-
14	3-pentanol	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> O	-	X	-
15	1-metoxi-2-butanol	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	-	-	X
16	4-hidroxi-3-hexanona	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	X	-	-
17	2-ciclopenteno-1-ona	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O	X	X	X
18	3,5-dimetil-ciclo-hexanol	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	X	X	X
19	2-metil-2-ciclopenten-1-ona	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O	X	X	X
20	1-hidroxi-2-butanona	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
21	Ácido 2-hidroxi-metilico éster-butanóico	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	X	-	X
22	2-ciclohexen-1-ona	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O	X	-	-
23	3-furaldeído	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
24	Ácido butanóico, éster 2-etilciclohexílico	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	-	-	X
25	Ácido 3-metilbutanóico	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	X	-	-
26	Furfural	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
27	3,4-dimetil-2-ciclopenten-1-ona	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O	X	-	X
28.	2,3,4-trimetil-2-ciclopenten-1-ona	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O	X	X	X
29	3-metil-2-ciclopenten-1-ona	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O	X	X	X
30	2-acetilfurano	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
31	Tetra-hidro-2-furanmetanol	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
32.	1-isopropil-1-ciclopenteno	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub>	-	-	X
33	2,3-dimetil-2-ciclopenten-1-ona	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O	X	X	X

34	3,4,5-trimetil-2-ciclopenten-1-ona	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O	X	-	X
35	2-Butanona, 1- (acetiloxi) -	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	X	-	X
36.	1-acetilciclohexeno	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O	-	-	X
37.	3-metil pirrol	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> N	-	-	X
38.	2,3-pentanodiona	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
39.	3,4,4-trimetil-2-ciclopenten-1-ona	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O	X	-	-
40.	5-metil-2-furancarboxaldeído	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
41.	Ácido pentanóico, 4-oxo-, éster metílico	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	X	-	-
42.	2-furoato de metil	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	X	X	X
43	Butirolactona	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	-	-	X
44	Ácido 4-hidroxi-butanóico	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	X	-	-
45	3-etil-2-ciclopenten-1-ona	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O	X	-	-
46.	2-acetil-5-metilfurano	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	X	-	X
47	Metilbenzoato	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	X	-	X
48.	2,5-di-hidro-3,5-dimetil-2-furanona	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
49.	Acetofenona	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	X	-	X
50.	5-metil-2 ( 5H ) -furanona	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	-	-	X
51	3-etil-2-hidroxi-2-ciclopenten-1-ona	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
52	2-furanmetanol (álcool furfúrico)	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
53	3-metil-2 ( 5H ) -furanona	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	X	-	X
54	4,5-dimetil-4-hexen-3-ona	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O	-	X	X
55	2 ( 5H ) -furanona	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	X	-	X
56.	2-propilciclohexanona	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O	-	-	X
57	3-metil-4-hexen-2-ona	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O	-	-	X
58.	1,2-dimetoxi-benzeno (veratrol)	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
59.	4-hidroxibutanoato de metilo	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	X	-	X
60	2,4-Dimetil-1,3-ciclopentanodiona	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
61	3-metil-1,2-ciclopentanodiona	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
62	2-metoxi-fenol (guaiacol)	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
63.	3-metil-2-metoxi-fenol	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
64	Furan-2-carbaldeído, (N -nitroamidino) hidrazona	C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub>	-	-	X
65	2,6-dimetil-fenol	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O	-	X	X
66.	2-metoxi-5-metil-fenol	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
67	Maltol	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	X	X	X
68	4-metil-2-metoxi-fenol (creosol)	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
69	Fenol	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O	X	X	X
70	2-metil-fenol ( o- cresol)	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O	X	X	X
71	4-etil-2-metoxi-fenol	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
72	4-metil-fenol ( p- cresol)	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O	X	X	X
73	2,6-dimetil-fenol (2,6-xilenol)	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O	X	X	X
74	3-metil-fenol ( m- cresol)	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O	X	X	X
75	2,5-dimetil-fenol (2,5-xilenol)	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O	-	-	X
76	3,4-dimetoxi-fenol	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	X	X	X
77	4-propil-2-metoxi-fenol	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	X	X	X
78	2,4-dimetil-fenol (2,4-xilenol)	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O	-	X	X
79	3-alil-6-metoxi-fenol	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	-	X	X
80	3,4-dimetil-fenol (3,4-xilenol)	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O	-	X	-
81	3-etil-fenol	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O	-	X	-
82	3,5-dimetil-fenol (3,5-xilenol)	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O	-	X	-
83	4,5-dimetil-imidazol	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub>	-	-	X
84	2,6-dimetoxi-fenol (seringol)	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	X	X	X
85	4-metil-2,6-dimetoxi-fenol	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	-	-	X
86	1,2,3-trimetoxi-benzeno	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	X	X	-
87	1,2,3-trimetoxi-5-metil-benzeno	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> O <sub>3</sub>	X	X	X
88	2,6-dimetoxi-4-alil-fenol	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	-	X	X
89	Guaiacil acetona	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	-	X	X
90	2-metil-5-amino-benzoxazol	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> NO	-	X	X
91	2-acetil-7-hidroxibenzofurano	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	-	-	X
92	2-amino-1-naftol	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> NO	-	-	X
93	Hidroquinona	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	-	X	X

D: Diclorometano / E: Éter Dietílico / A: Acetato de etilo  
Fonte: Adaptado de Pimenta et al. (2018)

#### **4.2 Obtenção dos patógenos**

Os microrganismos, *Fusarium* sp., *Ganoderma* sp., *Macrophomina* sp. e *Sclerotium rolfsii*, foram fornecidos pelo Laboratório de Patologia e Biotecnologia Florestal e pelo Laboratório de Fitopatologia, ambos pertencentes a Universidade Federal Rural do Semi-Árido, campus Mossoró - RN.

O isolamento de todos os patógenos foi realizado em meio de cultura batata-dextrose-água (BDA). Posteriormente a esse procedimento, os fungos foram repicados e transferidos para placas de Petri com a finalidade de obter culturas puras, mantendo-as em câmara de germinação tipo BOD, com temperatura de 28°C.

#### **4.3 Biotestes *in vitro* para determinação da atividade antifúngica**

O experimento realizado consistiu em testes de crescimento micelial, dispostos em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com cinco tratamentos e três repetições cada, sendo que cada repetição possui seis unidades amostrais (placas de Petri), onde foram adicionadas doses de extrato pirolenhoso.

#### **4.4 Teste de inibição do crescimento micelial**

Para analisar se o extrato pirolenhoso de cajueiro apresenta características tóxicas que reduzam o crescimento micelial e esporulação dos fungos testados foram utilizadas cinco dosagens (T1: 0, T2: 5, T3: 10, T4: 15 e T5: 20 mL.L<sup>-1</sup> de extrato no de meio de cultura). O extrato foi adicionado ao meio BDA através de uma micropipeta de 5 mL, agitado para total homogeneização, e em seguida vertido em placas de Petri de 90 mm.

Após a solidificação do meio, os fungos foram repicados em discos de 1 cm de diâmetro da cultura pura e depositados no centro de cada placa. Posteriormente, as placas foram vedadas com plástico filme e acondicionadas em BOD a 28°C. Todas as medições do diâmetro das colônias se iniciaram 24 horas após a inoculação (para obtenção de uma média de duas medidas diametralmente opostas) utilizando-se uma régua milimetrada. As medições se encerraram após as placas do tratamento 1 estarem completamente colonizadas pelo micélio do fungo.

As variáveis analisadas no teste de inibição de crescimento micelial foram:

- **Crescimento fúngico:** que através dos valores do crescimento micelial (cm), foi obtido com base nas últimas médias da observação de cada repetição referente a seu tratamento.
- **Índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM) em (cm/dia):** resultado das médias dos valores diários de crescimento micelial, para cada tratamento.

$$IVCM = \Sigma \frac{(D - Da)}{N}$$

Em que:

D = diâmetro médio atual da colônia;

Da = diâmetro médio da colônia do dia anterior;

N = número de dias após a inoculação

- **Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC):** resultado das médias finais de crescimento das repetições, comparadas com o diâmetro médio (cm) dos tratamentos em relação à testemunha.

$$PIC = \left[ \frac{(\text{\textit{Ø da testemunha}} - \text{\textit{Ø do tratamento}})}{\text{\textit{Ø da testemunha}}} \right] \times 100$$

#### 4.5 Análise estatística

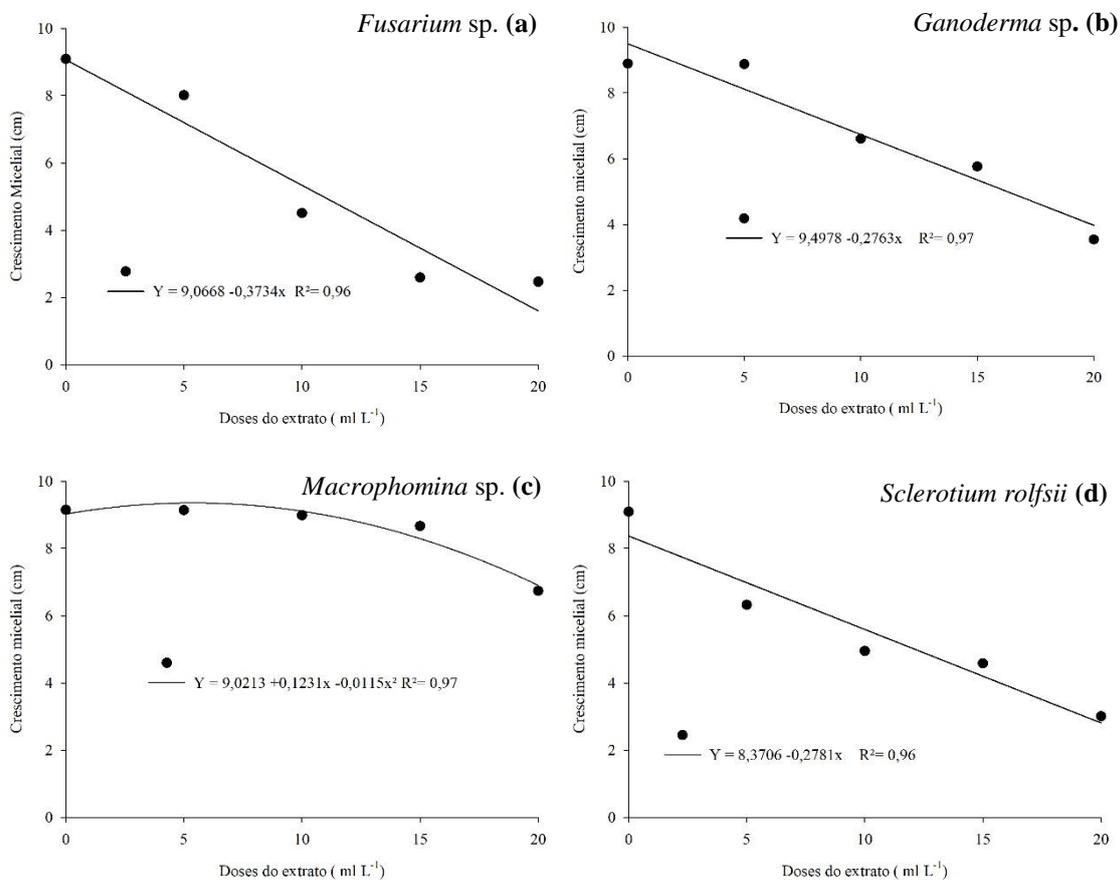
Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F, ao nível de significância de 5% e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR<sup>®</sup>, procedendo-se a análise de regressão, sendo os gráficos gerados com a utilização do software SigmaPlot<sup>®</sup>.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Inibição do crescimento micelial

Observou-se uma redução gradativa no crescimento micelial dos fungos com o aumento das doses do licor pirolenhoso proveniente do eucalipto, destacando-se maior redução na dosagem de 20 ml L<sup>-1</sup> do extrato (Figura 1).

**Figura 1.** Crescimento micelial (cm) *in vitro* dos fungos *Fusarium* sp. (a), *Ganoderma* sp. (b), *Macrophomina* sp. (c) e *Sclerotium rolfisii* (d) sob as seguintes doses de extrato pirolenhoso de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*): T1: 0, T2: 5, T3: 10, T4: 15 e T5: 20 mL.L<sup>-1</sup>.



Fonte: A autora (2020).

Pieta (2017) relatou resultados semelhantes, utilizando o extrato pirolenhoso de cana-de-açúcar no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, com maior inibição do crescimento micelial na maior concentração (5 ml L<sup>-1</sup>). A mesma autora, trabalhando com extrato pirolenhoso de eucalipto observou que inicialmente as menores doses favoreceram o crescimento micelial, entretanto com o aumento das dosagens houve redução de 33% na maior concentração (5ml L<sup>-1</sup>).

David, Ceresini e Peres (2018) encontraram resultados diferentes, utilizando o extrato pirolenhoso de timburi no controle de *Rhizoctonia solani*, em que a concentração de 1 ml conseguiu inibir 100% do crescimento micelial.

Dentre os patógenos estudados, foi possível perceber que a *Macrophomina* sp. exibiu comportamento distinto, pois obteve redução micelial inferior comparada com os demais microrganismos, na qual as colônias do tratamento testemunha (T1) tinham cerca de 9 cm de diâmetro e as que foram submetidas ao tratamento de maior concentração apresentaram 7 cm de diâmetro. Contudo, esse resultado difere do observado por Pieta (2017), em que houve expressiva redução micelial da *Macrophomina phaseolina* na presença do extrato pirolenhoso de cana-de-açúcar, com menor diâmetro de colônias na concentração de 5 ml L<sup>-1</sup>.

Para os demais microrganismos em estudo o extrato pirolenhoso atuou de forma mais expressiva na redução do crescimento micelial. Com relação ao *Fusarium* sp. a colônia testemunha apresentava 9 cm de diâmetro, com o aumento da concentração esse diâmetro foi reduzindo, chegando a menos de 2 cm no T5 (20 ml L<sup>-1</sup>).

Quanto ao *Ganoderma* sp., a colônia referente ao T1 possuía aproximadamente 10 cm de diâmetro, já a que foi submetida a maior concentração do extrato, apresentou um diâmetro de 4 cm. Para o *Sclerotium rolfsii* a colônia do T1 possuía pouco mais de 8 cm de diâmetro e a pertencente ao T5 exibiu colônias com 3 cm.

Na Tabela 2 é possível confirmar que houve diferença estatística no crescimento micelial entre as doses utilizadas, destacando-se o tratamento 5 (maior dose do extrato) com menor crescimento, em relação aos demais.

**Tabela 2.** Crescimento micelial (cm) *in vitro* dos fungos *Fusarium* sp. (a), *Ganoderma* sp. (b), *Macrophomina* sp. (c) e *Sclerotium rolfsii* (d) sob as seguintes doses de extrato pirolenhoso de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*): T1: 0, T2: 5, T3: 10, T4: 15 e T5: 20 mL.L<sup>-1</sup>.

Tratamento	Fungo			
	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Ganoderma</i> sp.	<i>Macrophomina</i> sp.	<i>Sclerotium rolfsii</i>
1	9,09 a*	8,91 a	9,15 a	9,09 a
2	8,01 b	8,88 a	9,14 a	6,32 b
3	4,51 c	6,63 b	8,99 a	4,95 c
4	2,59 d	5,79 c	8,66 b	4,58 c
5	2,46 d	3,61 d	6,74 c	3,01 d

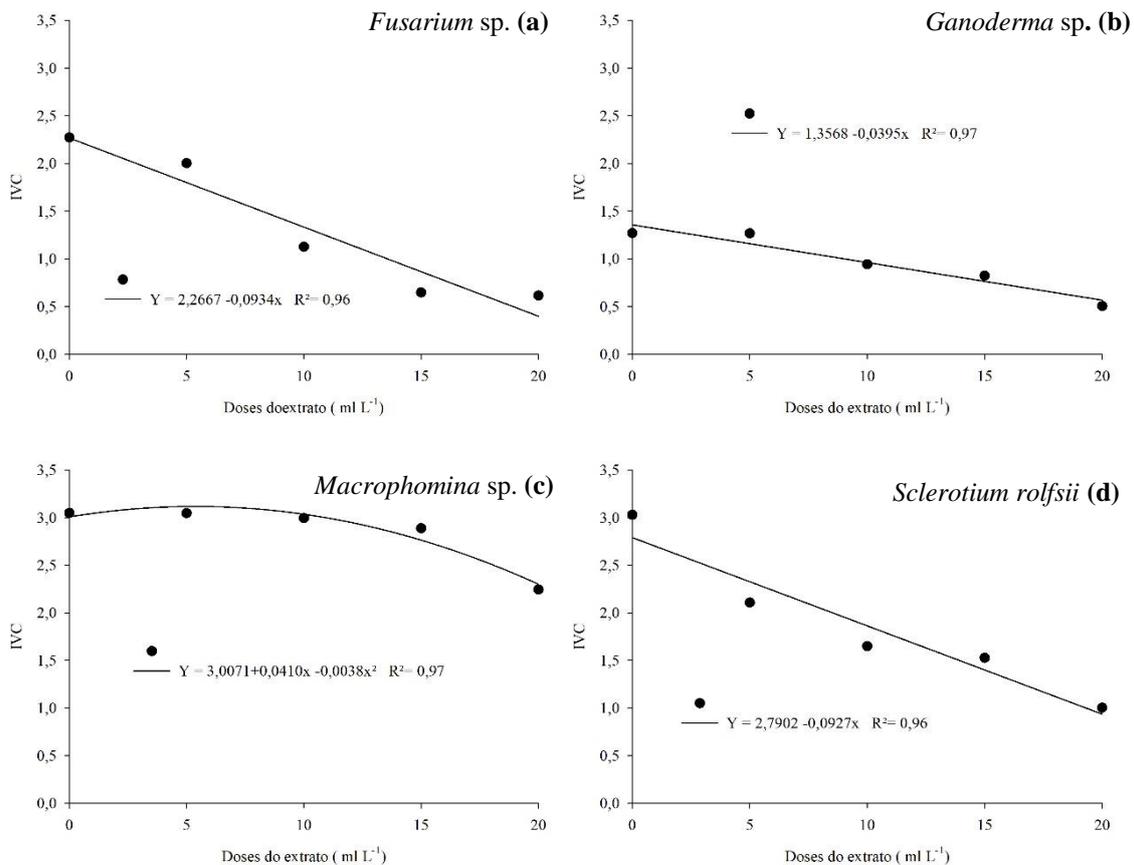
\*Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Fonte: A autora (2020).

## 5.2 Índice de velocidade de crescimento

Na Figura 2, pode ser observado o índice de velocidade de crescimento (IVCM) para todos os fungos.

**Figura 2.** Índice de velocidade de crescimento micelial *in vitro* (IVCM) (cm/dia) dos fungos *Fusarium* sp. (a), *Ganoderma* sp. (b), *Macrophomina* sp. (c) e *Sclerotium rolfii* (d) sob a aplicação de doses de extrato pirolenhoso de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*): T1: 0, T2: 5, T3: 10, T4: 15 e T5: 20 mL.L<sup>-1</sup>.



Fonte: A autora (2020).

No tratamento testemunha do *Fusarium* sp. o IVCM era de aproximadamente 2,3 cm/dia, enquanto para a maior dose o IVCM foi inferior (0,5 cm/dia) chegando a ser quase 5 vezes menor que o da testemunha.

O *Ganoderma* sp. apresentou redução do IVCM mais lenta quando comparada com o *Fusarium* sp. e *Sclerotium rolfii*, isso pode ser explicado em razão desse microrganismo levar mais tempo para começar a se desenvolver em meio BDA. No T1 o *Ganoderma* sp. exibiu um IVCM de 1,4 cm/dia e com o aumento da concentração, esse índice foi reduzido cerca de 2 vezes, resultando em um IVCM de 0,6 cm/dia para o T5.

Com relação à *Macrophomina* sp., o T5 apresentou um IVCM de 2,3 cm/dia, que também foi inferior ao observado na testemunha (3,0 cm/dia). Entretanto, só houve efeito significativo do licor sobre esse microrganismo a partir da dose de 15 ml L<sup>-1</sup>.

Pieta *et al.* (2017) também verificou comportamento semelhante para *Macrophomina phaseolina*, em que o tratamento com a maior concentração (5 ml L<sup>-1</sup>) dos extratos de cana-de-açúcar e de eucalipto promoveram menor velocidade no crescimento desse fungo.

Para *Sclerotinia sclerotiorum*, a mesma autora observou que os extratos de cana-de-açúcar e eucalipto também foram capazes de diminuir significativamente a velocidade de crescimento do patógeno, apresentando IVCM de 0,61 e 2,6 cm/dia respectivamente.

Da mesma forma, o *Sclerotium rolfii* no tratamento de maior concentração obteve menor IVCM (1,0 cm/dia), sendo aproximadamente 2 vezes menor que o testemunha (2,8 cm/dia).

Conforme a Tabela 3 pode-se notar que os tratamentos com maiores doses (T4 e T5) possuem colônias com menores diâmetros, indicando uma redução na velocidade do crescimento micelial ao longo dos dias.

**Tabela 3.** Índice de velocidade de crescimento micelial *in vitro* (IVCM) (cm/dia) dos fungos *Fusarium* sp. (a), *Ganoderma* sp. (b), *Macrophomina* sp. (c) e *Sclerotium rolfii* (d) sob a aplicação de doses de extrato pirolenhoso de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*): T1: 0, T2: 5, T3: 10, T4: 15 e T5: 20 mL.L<sup>-1</sup>.

Tratamento	Fungos			
	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Ganoderma</i> sp.	<i>Macrophomina</i> sp.	<i>Sclerotium rolfii</i>
1	2,27 a*	1,27 a	3,05 a	3,03 a
2	2,00 b	1,27 a	3,05 a	2,11 b
3	1,13 c	0,94 b	3,00 a	1,65 c
4	0,65 d	0,82 c	2,89 b	1,53 c
5	0,62 d	0,50 d	2,25 c	1,00 d

\*Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

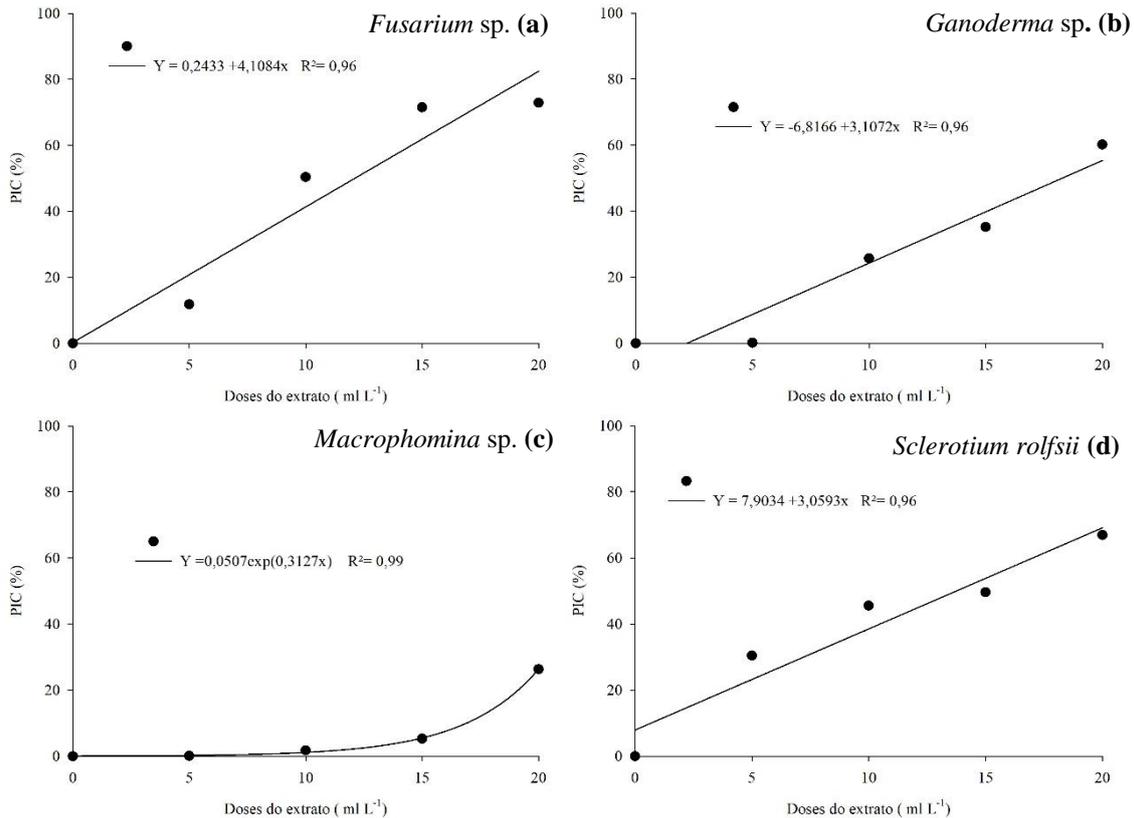
Fonte: A autora (2020).

Assim como o extrato pirolenhoso de *Eucalyptus urograndis* apresentou ação fungitóxica sobre os microrganismos em estudo, reduzindo a velocidade do crescimento micelial, Donde *et al.* (2013) trabalhando com diversos extratos relataram que o licor pirolenhoso de teca reduziu significativamente a velocidade do crescimento micelial de *Phytophthora* sp. na maior dose (2 ml).

### 5.3 Porcentagem de inibição do crescimento micelial

Com o aumento das concentrações do extrato pirolenhoso observou-se maior porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) para todos os fungos (Figura 3).

**Figura 3.** Porcentagem de inibição do crescimento (PIC) micelial (%) *in vitro* dos fungos *Fusarium* sp. (a), *Ganoderma* sp. (b), *Macrophomina* sp. (c) e *Sclerotium rolfii* (d) sob a aplicação de doses de extrato pirolenhoso de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*): T1: 0, T2: 5, T3: 10, T4: 15 e T5: 20 mL.L<sup>-1</sup>.



Fonte: A autora (2020).

O *Fusarium* sp. apresentou a maior taxa de inibição, de 80% para a maior dose (20 ml L<sup>-1</sup>). A segunda maior porcentagem de inibição foi obtida também no T5, para o *Sclerotium rolfii*, com cerca de 70%. Para o *Ganoderma* sp. a porcentagem de inibição foi pouco menor que 60%, no tratamento 5.

No presente estudo, novamente destacou-se a *Macrophomina* sp., que teve menor PIC, comparado com os demais, sendo em torno de 30% para o T5.

No experimento realizado por Pieta (2017), a *Macrophomina phaseolina* teve significativa redução de seu desenvolvimento, no qual o tratamento de maior concentração (5 ml L<sup>-1</sup>) provocou maior inibição do desenvolvimento do fungo.

Com relação à *Sclerotinia sclerotiorum*, a autora mencionada anteriormente relatou que, a maior concentração dos extratos de cana-de-açúcar e eucalipto apresentou porcentagens de inibição mais significativas, sendo de 33% e 91%, respectivamente.

De acordo com a Tabela 4 pode-se observar que o tratamento 5 foi o que exibiu maiores porcentagens de inibição do crescimento micelial, confirmando a ação fungitóxica do extrato de *Eucalyptus urograndis* GG100 sobre os fungos em estudo.

**Tabela 4.** Porcentagem de inibição do crescimento (PIC) micelial (%) *in vitro* dos fungos *Fusarium* sp. (a), *Ganoderma* sp. (b), *Macrophomina* sp. (c) e *Sclerotium rolfsii* (d) sob a aplicação de doses de extrato pirolenhoso de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*): T1: 0, T2: 5, T3: 10, T4: 15 e T5: 20 mL.L<sup>-1</sup>.

Tratamento	Fungo			
	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Ganoderma</i> sp.	<i>Macrophomina</i> sp.	<i>Sclerotium rolfsii</i>
1	0,00 d*	0,00 d	0,00 c	0,00 d
2	11,85 c	0,19 d	0,09 c	30,44 c
3	50,40 b	25,71 c	1,76 c	45,54 b
4	71,50 a	35,21 b	5,29 b	49,60 b
5	72,88 a	60,17 a	26,36 a	66,90 a

\*Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade

Fonte: A autora (2020).

A atividade fungitóxica do extrato pirolenhoso de *Eucalyptus urograndis* GG100, observada nos resultados do presente estudo, é devido a presença dos altos teores de guaiacol, fenol, cresóis e furfural (PIMENTA *et al.*, 2018), apresentados na tabela 1.

Esses compostos também possuem atividade antibacteriana e essas propriedades não podem ser atribuídas apenas a um único composto, mas a combinação de vários (YANG *et al.*, 2016).

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato pirolenhoso de eucalipto possui propriedades fungitóxicas sobre o crescimento micelial de *Fusarium* sp., *Ganoderma* sp., *Macrophomina* sp. e *Sclerotium rolfsii*.

Embora tenha havido redução no crescimento da colônia, a *Macrophomina* sp. apresentou comportamento distinto ao dos demais fungos trabalhados, mostrando-se mais resistente as doses trabalhadas nesse estudo.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, T. F.; CAMARGO, M.; PANIZZI, R. C. Efeito de extratos de plantas medicinais no controle de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da flor preta do morangueiro. **Summa phytopathologica**, Botucatu, v. 35, n. 3, p. 196-201, jul. 2009.

ALMEIDA, Raquel Silveira Ramos. **Potencial do extrato pirolenhoso da madeira de eucalipto como agente conservante de cosméticos e saneantes**. 2012. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

AUER, C. G.. Enfermedades em Pinus na América do Sul. *In*: JORNADAS DE PROTECCIÓN FORESTAL, 2005, Eldorado. **Anais**. Eldorado: Facultad de Ciencias Forestales. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/57002/1/SP5074.pdf>. Acesso em 18 de nov. 2019.

AUER, C. G.; SANTOS, A. F. Principais doenças em espécies de eucalipto utilizadas para a produção de energia na região sul do Brasil. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE FLORESTAS ENERGÉTICAS. 01, 2009, Belo Horizonte. **Anais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2009. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/30b6/f745d8b75bfac30b7bd7d6b25d0102122bbc.pdf>. Acesso em 18 de nov. 2019.

AUER, C. G.; SANTOS, A. F. Doenças em eucaliptos destinados à produção de energia na região Sul do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 31, n. 68, p. 373, 2011.

AUER, C. G.; JÚNIOR, A. G.; SANTOS, A. F. Doenças em pinus: identificação e controle. Embrapa Florestas-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2001.

BALBI-PEÑA, M.I. *et al.* Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e curcumina-I. Avaliação *in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, Maringá, v. 31, n. 3, p. 301-314, jul-ago. 2006.

BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. **Fitopatologia brasileira**, Marituba, v. 29, n. 5, p. 555-557, maio, 2004.

BENETTI, S. C. *et al.* Levantamento de Fungos em Sementes de Cedro e Avaliação da Patogenicidade de *Fusarium* sp. e *Pestalotia* sp. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 58, p. 81, jan-jun. 2009.

BOMFIM CELOTO, M. I. *et al.* Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 1, p. 1-5, 2008.

BONALDO, Solange M. *et al.* Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 128-134, 2004.

BORGES, I. V. *et al.* Extratos de jurema preta no controle de mancha-dealternaria em melancia. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 26, n. 3, p. 36-45, jul-set. 2013.

BORSUK, A. C. **Um estudo sobre o ácido pirolenhoso, com ênfase na técnica de obtenção e aplicação na agroecologia.** 2009. 27 p. Trabalho apresentado a disciplina de metodologia científica - Universidade do Oeste de Santa Catarina, Santa Catarina.

BORTOLUZZI, E. C. *et al.* Contaminação de águas superficiais por agrotóxicos em função do uso do solo numa microbacia hidrográfica de Agudo, RS. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 10, n. 4, p. 881-887, out-dez. 2006.

CALLOU, M. J. A. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana da casca da *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth (Sabiá). **Scientia plena**, v. 8, n. 1, jan. 2012.

CASSAL, V. B. *et al.* Agrotóxicos: uma revisão de suas consequências para a saúde pública. **Electronic Journal of Management, Education and Environmental Technology (REGET)**, Santa Maria, v. 18, n. 1, p. 437-445, abr. 2014.

CASTRO, V. L. S. S. Aspectos da exposição ambiental aos agroquímicos no desenvolvimento animal. Embrapa Meio Ambiente-Artigo em periódico indexado (ALICE). **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, Brasília, v. 21, n.3, p. 469-497, set./dez. 2004.

CUNICO, M. M. *et al.* Atividade antifúngica de extratos brutos de *Ottonia martiana* Miq., Piperaceae. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 7, n. 2, jul. 2006.

DAVID, G.; CERESINI, Paulo; PERES, Walmor. Controle alternativo “in vitro” de *Rhizoctonia solani* com extratos vegetais em Alta Floresta-MT. In: VI CONGRESSO LATINO-AMERICANO, X CONGRESSO BRASILEIRO V SEMINÁRIO DO DF E ENTORNO, 07, 2018, Brasília. **Anais [...]**, Brasília, 2018. Disponível em: <http://cadernos.aba-agroecologia.org.br/index.php/cadernos/article/download/1200/1261>. Acesso em 01 de ago. 2019.

DONDE, A. R. *et al.* Avaliação *in vitro* de extratos vegetais no desenvolvimento micelial de *Phytophthora* sp. Seminário de Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, Alta Floresta, n. 1, set. 2013.

ENCARNAÇÃO, F. Redução do impacto ambiental na produção de carvão vegetal e obtenção do ácido pirolenhoso como alternativa para proteção de plantas. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, v. 2, n. 4, 2001.

FAWCETT, C. H.; SPENCER, D. M. Plant chemotherapy with natural products. **Annual Review of Phytopathology**, Kent, v. 8, n. 1, p. 403-418, set. 1970.

FRANZENER, G. *et al.* Atividades antibacteriana, antifúngica e indutora de fitoalexinas de hidrolatos de plantas medicinais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 1, p. 29-38, nov. 2007.

FRANÇA, K. R.S. **Potencial fungitóxico do óleo essencial de *Lippia gracilis* (Schauer) in vitro sobre fitopatógenos.** 2019. 55 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Sistemas Agroindustriais) - Programa de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, Brasil.

GASPAROTO, L. *et al.* Mancha areolada causada por *Thanatephorus cucumeris* em mogno africano. Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em periódico indexado (ALICE). **Fitopatologia Brasileira**, n. 3, p. 26:660-661, abr. 2001.

GHINI, R.; BETTIOL, W.. Proteção de plantas na agricultura sustentável. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 17, n. 1, p. 61-70, jan/abr. 2000.

LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; PINHO, R. S. C.. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, Lavras, v. 4, n. 2, jul. 2010.

LAZAROTTO, M. *et al.* Tratamentos alternativos para o controle de patógenos em sementes de cedro (*Cedrela fissilis*). **Revista Brasileira de Agroecologia**, Santa Maria, v. 4, n. 2, nov. 2009.

LAZAROTTO, M.; MUNIZ, M. F. B.; DOS SANTOS, A. F. Detecção, transmissão, patogenicidade e controle químico de fungos em sementes de paineira (*Ceiba speciosa*). Embrapa Florestas-Artigo em periódico indexado (ALICE). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.36, n.2, p.134-139, abr. 2010.

LAZAROTTO, M. *et al.* Sanidade, transmissão via semente e patogenicidade de fungos em sementes de *Cedrela fissilis* procedentes da região sul do Brasil. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 22, n. 3, p. 493-503, jul-set. 2012.

LEITE, C. D. *et al.* Controle Pós-Colheita da Podridão Amarga da Maçã com o Uso do Óleo de nim. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Guarapava, v. 4, n. 1, nov. 2009.

LIMA, R. A.; NETO, M. F. Atividade Antifúngica do Extrato Etanólico dos Frutos de *Solanum grandiflorum* sobre *Rhizoctonia solani* *in vitro*. **Saúde e Pesquisa**, Manaus, v. 7, n. 1, jan/abr. 2014.

MACIEL, C. G. *et al.* Detecção, transmissão e patogenicidade de fungos em sementes de angico-vermelho (*Parapiptadenia rigida*). Embrapa Florestas-Artigo em periódico indexado (ALICE). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 38, n. 4, p. 323-328, 2012.2012.

MAIA, E. M. *et al.* Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos em sementes de espécies florestais. **Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.9, n.17, p. 18-23, dez. 2013.

MASCARENHAS, M. H. T. *et al.* Efeito da utilização do extrato pirolenhoso na produtividade da alface. **Revista Brasileira de Horticultura**, v. 24, n. 1, p. 3122-3125, 2006.

MARTINS, V. C. Potencial da ação antifúngica do licor pirolenhoso de *Hovenia dulcis* Thunb. a fungos xilófagos *in vitro*. 2017. 39 f. **Trabalho de Conclusão de Curso** - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos.

MATA, M. F. *et al.* Incidência e controle alternativo de patógenos em sementes de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC, Cactaceae). **Revista brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 7, n. 4, p. 327-334, out/dez. 2009.

MEDICE, R. *et al.* Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 83-90, jan./fev. 2007.

MELLO, A. F. S.; LOURENÇO, Silvia de Afonseca; AMORIM, Lilian. Alternative products in the "in vitro" inhibition of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 2, p. 179-183, mar./abr. 2005.

MENDES, S. S. *et al.* Levantamento, patogenicidade e transmissão de fungos associados às sementes de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth). **Revista Ciência Agronômica**, Ceará, v. 36, n. 1, p. 118-122, jan./abr. 2005.

MIETH, A. T. Micoflora e qualidade fisiológica de sementes de cedro (*Cedrella fisciillis*) tratadas com extrato natural de hortelã (*Mentha piperita*). **Cadernos de Agroecologia**, Santa Maria, v. 2, n. 2, p. 1192-1195, out. 2007.

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

NETTO, D.A. M.; FAIAD, M. G. R. Viabilidade e sanidade de sementes de espécies florestais. Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em periódico indexado (ALICE). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 17, n. 1, p. 75-80, 1995.

NOVAIS, T. S. *et al.* Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semi-árido brasileiro. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Maringá, v. 13, p. 5-8, 2003.

OLIVEIRA, L.R. **A aplicação do extrato pirolenhoso como fertilizante na agricultura brasileira no período de 2000 a 2018**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso - Faculdade Doctum, Juiz de Fora.

OLIVEIRA, O. S. Fungos causadores de danos em *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Revista Floresta**, Santa Maria, v. 12, n. 2, 1981.

OLIVEIRA, O. R. de *et al.* Efeito de óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* sobre fungos contaminantes encontrados na micropropagação de plantas. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 39, n. 1, p. 94-100, jan./mar. 2008.

ORAMAHI, H. A. *et al.* Antifungal and antitermitic activities of wood vinegar from oil palm trunk. **Journal of wood science**, v. 64, n. 3, p. 311-317, fev. 2018.

PASTOR, V. *et al.* Fine tuning of reactive oxygen species homeostasis regulates primed immune responses in *Arabidopsis*. **Molecular plant-microbe interactions**, v. 26, n. 11, p. 1334-1344, jul. 2013.

PASTOR, V. *et al.* Preparing to fight back: generation and storage of priming compounds. **Frontiers in plant science**, v. 5, p. 295, jun. 2014.

PIETA, S. *et al.* **Eficácia de extratos pirolenhosos de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) e eucalipto (*Eucalyptus* spp.) no controle in vitro de patógenos da soja**. 2017. 81 f. Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal (Tese de mestrado) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.

PIMENTA, Alexandre S. *et al.* Chemical composition of pyroligneous acid obtained from *Eucalyptus* GG100 clone. **Molecules**, v. 23, n. 2, p. 426, 2018.

POLTRONIERI, L. S.; TRINDADE, D. R.; ALBUQUERQUE, F. C.; DUARTE, M. L. R. Identificação e controle da rubelose em mogno-africano no Estado do Pará. Embrapa Amazônia Oriental-Comunicado Técnico (INFOTECA-E), 2002.

POLTRONIERI, L. S. *et al.* Identificação de doenças em mogno-africano no Estado do Pará. Embrapa Amazônia Oriental-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2000.

PRITHIVIRAJ, B. *et al.* Antifungal activity of bergenin, a constituent of *Flueggea microcarpa*. **Plant Pathology**, Índia, v. 46, n. 2, p. 224-228, 1997.

RECHE, K. V. G. *et al.* Methyl angolensate changes in *Khaya ivorensis* after fungal infection. **Phytochemistry**, v. 70, n. 17-18, p. 2027-2033, 2009.

ROGACIANO, M. S. **Estudo da arte uso do extrato pirolenhoso na produção agrícola e florestal**. 2017. 22 f. Programa de Educação Continuada em Ciências Agrárias (Trabalho de conclusão de curso) Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SABIK, H.; JEANNOT, R.; RONDEAU, B. Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters. **Journal of chromatography A**, v. 885, n. 1-2, p. 217-236, jul. 2000.

SAMBUGARO, R. *et al.* Anatomia foliar de seringueira (*Hevea spp.*) e desenvolvimento da infecção por *Microcyclus ulei*. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 30, n. 1, p. 51-56, jan./mar. 2004.

SANTOS, F. E. M. *et al.* Detecção de fungos patogênicos em sementes de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 11, n. 1, p. 13-20, 2001.

SANTOS, A. F.; AUER, C. G.; JUNIOR, A. G. Caracterização de tipos de sintomas da gomose da acácia-negra (*Acacia mearnsii*) no Sul do Brasil. Embrapa Florestas-Artigo em periódico indexado (ALICE), 1998.

SANTOS, A. F.; LUZ, E. D. M. N. A gomose da acácia-negra no Brasil: a review. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 2, p. 113-118, 2007.

SARTORI, V. C. *et al.* Avaliação in vitro de extratos vegetais para o controle de fungos patogênicos de flores. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 6, n. 2, p. 117-122, abr. 2011.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual review of entomology**, v. 35, n. 1, p. 271-297, jan. 1990.

SCHNITZER, J. A. *et al.* Doses de extrato pirolenhoso no cultivo de orquídea. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 62, n. 1, p. 101-106, jan./fev. 2015.

SILVA, T. C. L. *et al.* Atividades antioxidante e antimicrobiana de *Ziziphus joazeiro* mart.(Rhamnaceae): avaliação comparativa entre cascas e folhas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Refice, v. 32, n. 2, p. 193-199, jan. 2011.

SILVA, J. A. *et al.* Efeito de extratos vegetais no controle de *Fusarium oxysporum* sp tracheiphilum em sementes de caupi. **Ciênc Agrotec**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 611-616, mar./abr. 2009.

SILVA, H. M.; SOUZA, R. A. Doenças da seringueira na Amazônia: tentativa de uma abordagem crítica. In: Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: SIMPÓSIO DO TRÓPICO ÚMIDO, 1., 1984, Belém, PA. Anais. Belém, PA: EMBRAPA-CPATU, 1986. v. 4, p. 113-125., 1986.

SILVEIRA, C. M. **Influência do Extrato Pirolenhoso no desenvolvimento e crescimento de plantas de milho.** 2010. 93 f. Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal (Tese de doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Jaboticabal.

SOUZA-SILVA, A. *et al.* Qualidade de mudas de eucalipto tratadas com extrato pirolenhoso. **Cerne**, Lavras, v. 12, n. 1, p. 19-26, jan./mar. 2006.

TREMACOLDI, C. R.; LUNZ, A. M.; COSTA, F. R. S. Cancro em Paricá (*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*) no Estado do Pará. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 59, p. 69, jul./dez. 2009.

TREMACOLDI, C. R. *et al.* Cancro em mogno africano no estado do Pará. **Pesquisa florestal brasileira**, Colombo, v. 33, n. 74, p. 221-225, abr./jun 2013.

VENTUROSOS, L. dos R. *et al.* Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 1, p. 18-23, 2011.

YANG, Jyh-Ferng *et al.* Chemical composition, antioxidant, and antibacterial activity of wood vinegar from Litchi chinensis. **Molecules**, v. 21, n. 9, p. 1150, 2016.

ZANETTI, M. *et al.* Uso de subprodutos de carvão vegetal na formação do porta-enxerto limoeiro 'Cravo' em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 508-512, dez. 2003.

ZANETTI, M. *et al.* Influência do extrato pirolenhoso na calda de pulverização sobre o teor foliar de nutrientes em Limoeiro'Cravo'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 3, p. 529-533, 2004.