



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO
DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS,
AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
CURSO DE BACHARELADO EM BIOLOGIA**



FERNANDA DE AZEVEDO SOUZA

**PRODUÇÃO E RENDIMENTO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha spicata* L.
TRATADAS COM *Carbo vegetabilis* E *Trichoderma asperellum* E POTENCIAL
ANTIFÚNGICO DO ÓLEO ESSENCIAL SOB *Aspergillus welwitschiae***

CRUZ DAS ALMAS, BAHIA

2019

FERNANDA DE AZEVEDO SOUZA

**PRODUÇÃO E RENDIMENTO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha spicata* L.
TRATADAS COM *Carbo vegetabilis* E *Trichoderma asperellum* E POTENCIAL
ANTIFÚNGICO DO ÓLEO ESSENCIAL SOB *Aspergillus welwitschiae***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao colegiado do curso de Bacharelado em Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do Grau de Bacharel em Biologia, sob a orientação da Profa. Dra. Franceli da Silva e coorientação da Profa. Dra. Cíntia Armond.

CRUZ DAS ALMAS, BAHIA

2019

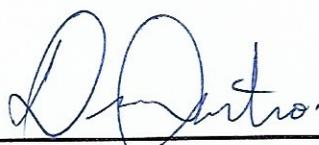
Fernanda de Azevedo Souza

“Produção e rendimento de óleo essencial de *Mentha spicata* L.
tratados com *Carbo vegetabilis* e *Trichoderma asperellum* (tcs81)
e potencial antifúngico do óleo essencial sob *Aspergillus*
wetwitschiae”

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Franceli da Silva
(orientadora)
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)



Prof. Dr. Daniel Melo de Castro
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)



Dra. Caliane da Silva Bráulio
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)

CRUZ DAS ALMAS

DEZEMBRO-2019

*Dedico este trabalho a minha mãe e minha avó (Dona Lurdes);
A minha madrinha e ao meu Noivo;
A minha orientadora e coorientadora.*

*As oportunidades estão lá fora,
coloque a mochila nas costas,
se for pra dar certo, é agora.*

(Projota)

AGRADECIMENTOS

Não há nada melhor do que o sentimento de gratidão e a sensação de dever cumprido. Por tanto agradeço a Deus por ter me sustentado até aqui, a minha orientadora Franceli da Silva e coorientadora Cíntia Armond por todo aprendizado que a mim foi passado contribuindo para minha formação.

Agradecer a minha família, em especial à minha mãe Vanderleia, minha avó Dona Maria e minha madrinha Jô, que são as mulheres que me trazem força e motivação para seguir esse caminho, aos meus irmãos: Alisson, Gabriel, Flávia e Davi, pela paciência e carinho, ao meu noivo Lucas Curi por todo companheirismo, atenção, paciência e apoio durante toda a minha trajetória.

Aos meus afilhados Luiza e Henrique Gabriel por perdoarem minha ausência. E aos meus amigos de toda vida por acreditarem em mim, especialmente: Eliane, Helen, Taíse, Polyana, Alex e Jaqueline pelo tempo dedicado para me ajudar não só neste trabalho como na vida e por não permitirem que eu desistisse dos meus sonhos. Agradeço aos amigos que fiz nesta universidade: Daniela, Antônia Gessica, Felipe, Ailana e Ítalo.

Agradeço também a todos que contribuíram de forma direta e indireta para a conclusão deste trabalho e por fim, mais não menos importante gostaria de agradecer a mim por não desistir disso tudo, estou chegando lá, glória a Deus.

SOUZA, Fernanda de Azevedo, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Dezembro, 2019. **Produção e óleo essencial de *Mentha spicata* L. tratadas com *Carbo vegetabilis* e *Trichoderma asperellum* e potencial antifúngico do óleo essencial sobre *Aspergillus welwitschiae*.** Orientadora: Dra. Franceli da Silva. Coorientadora: Dra. Cíntia Armond.

RESUMO

O uso de medicamentos homeopáticos associados a microrganismos simbioses têm demonstrado benefícios na promoção do desenvolvimento de plantas. A *Mentha spicata* L. é uma planta medicinal que tem óleo essencial com propriedades antimicrobianas. O microrganismo *Aspergillus welwitschiae* é um fungo filamentosos que foi recentemente identificado como causador da podridão vermelha do sisal. Com isso o presente estudo tem o objetivo de avaliar a produção e rendimento de óleo essencial da *Mentha spicata* L. e através do teste de concentração mínima inibitória (MIC), avaliar o potencial antifúngico do óleo essencial da *M. Spicata* sob *Aspergillus welwitschiae*. O delineamento experimental foi feito em blocos casualizados com 4 tratamentos com 40 repetições cada, totalizando 160 unidades experimentais, sendo utilizados os respectivos tratamentos: Suspensão com fungo *Trichoderma asperellum* (TCS 81); medicamento homeopático *Carbo vegetabilis* 5CH; TCS 81 + *Carbo vegetabilis* 5CH e o controle constituído por água destilada. Para a determinação da Concentração Mínima Inibitória (MIC), foram realizadas diluições seriadas do óleo essencial, obtendo concentração final de: 5; 2,5; 1,25; 0,625 ;0,315 $\mu\text{L}/\text{mL}^{-1}$, em placas de Elisa. Foram realizados testes para avaliar o efeito fungicida/fungistático do óleo essencial sob o fungo, para isso foram preparadas 4 placas de Petri com meio BDA para realização da avaliação visual do crescimento micelial do fungo. Os parâmetros fitotécnicos avaliados nesse trabalho foram: altura (ALT), massa seca da parte aérea (MSP), massa fresca da parte aérea (MFP) e rendimento de óleo essencial (ROE), que foram submetidos à análise estatística no programa computacional R, onde foram feitos testes de média, teste de Tukey e regressão linear. Quanto aos testes antimicrobianos foram analisados visualmente o crescimento micelial do fungo. Os resultados obtidos demonstram que o tratamento utilizado promoveu um crescimento das plantas de *M. spicata* e que o óleo essencial da espécie inibiu o crescimento micelial do *A. welwitschiae*.

Palavras- Chave: Agricultura orgânica, bioativos, homeopatia, controle biológico

SOUZA, Fernanda de Azevedo, Federal University of Recôncavo da Bahia, December, 2019. **Production and essential oil of *Mentha spicata* L. treated with *Carbo vegetabilis* and *Trichoderma asperellum* and antifungal potential of the essential oil on *Aspergillus welwitschiae*.** Advisor: Dr. Franceli da Silva. Coordinator: Dr. Cíntia Armond.

ABSTRACT

The use of homeopathic medicines associated with symbiont microorganisms have shown benefits in promoting plant development. *Mentha spicata* L. is a medicinal plant that has essential oil with antimicrobial properties. *Aspergillus welwitschiae* is a filamentous fungus that has recently been identified as causing red sisal rot. Thus the present study aims to evaluate the production and yield of essential oil of *Mentha spicata* L. and through the minimum inhibitory concentration test (MIC), evaluate the antifungal potential of essential oil of *M. Spicata* under *Aspergillus welwitschiae*. The experimental design was randomized blocks with 3 treatments and 1 control, 40 replications each, totaling 160 experimental units, using the following treatments: Suspension with fungus *Trichoderma asperellum* (TCS 81); homeopathic medicine *Carbo vegetabilis* 5CH; TCS 81 + *Carbo vegetabilis* 5CH and the control consists of distilled water. In order to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), serial dilutions of the essential oil were performed, obtaining final concentration of: 5; 2.5; 1.25; 0.625; 0.315 $\mu\text{L} / \text{mL}^{-1}$ in Elisa plates. Tests were performed to evaluate the fungicidal / fungistatic effect of the essential oil under the fungus. For this purpose, 4 Petri dishes with BDA medium were prepared for the visual evaluation of the fungal mycelial growth. The phytotechnical parameters evaluated in this work were: height (ALT), dry mass of the shoot (MSP), fresh mass of the shoot (MFP) and essential oil yield (ROE), which were submitted to statistical analysis in the computer program R, where tests of mean, Tukey test and linear regression were performed. As for antimicrobial tests, mycelial growth of the fungus was visually analyzed. The results show that the treatment promoted growth of *M. spicata* plants and that the essential oil of the species inhibited the mycelial growth of *A. welwitschiae*.

Keyword: Organic agriculture, bioactive, homeopathy, biological control

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Altura das plantas de *Mentha spicata* L. em função das épocas em intervalos de 7 dias.

FIGURA 2: Altura das plantas de *M. spicata* L. em função das épocas em intervalos de 7 dias.

FIGURA 3: Disposição dos tratamentos na placa de Elisa contendo o meio de cultivo BD, preparada para o teste de concentração mínima inibitória.

FIGURA 4: Crescimento micelial de *Aspergillus welwitschiae* observado 72 horas após inoculação dos fungos na placa de Petri. Placa A, corresponde a concentração de $5,0 \mu\text{L}/\text{mL}^{-1}$ de óleo essencial e placa B corresponde a $2,5 \mu\text{L}/\text{mL}^{-1}$ do óleo essencial, ambos do tratamento controle.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Tratamentos utilizados em plantas de *Mentha spicata* L. em estudo desenvolvido em casa de vegetação.

TABELA 2: Dados de massa seca da parte aérea (MSP), massa fresca da parte aérea (MFP) e rendimento de óleo essencial (ROE) de plantas de *M. Spicata* L. submetidas ao tratamento homeopático e a inoculações com *Trichoderma* (TCS80).

TABELA 3: Equação da avaliação altura, análise de regressão linear.

TABELA 4: Valores médios da massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), em gramas e rendimento de óleo essencial (ROE) de *M. spicata* L. em função dos tratamentos, obtidas após a colheita. Cruz das Almas. BA, 2019.

TABELA 5: Tratamentos utilizados durante a produção de *Mentha spicata* L. em estufa localizada na fazenda experimental da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

TABELA 6: Resultados do teste de concentração mínima inibitória (MiC), do óleo essencial de *M. spicata* L. tratados com *Carbo vegetabilis* 5CH e inoculação de *T. asperellum* (TCS81), sob o fungo *A. welwitschiae*, Cruz das Almas, Ba.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| INTRODUÇÃO GERAL | 1 |
| REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 2 |
| Homeopatia na Agricultura | 2 |
| Caracterização da <i>Mentha spicata</i> L. e Uso de Óleos Essenciais | 5 |
| <i>Aspergillus welwitschiae</i> e o Teste de Concentração Mínima Inibitória | 7 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 9 |
| CAPÍTULO I | 15 |
| INTRODUÇÃO | 15 |
| METODOLOGIA | 17 |
| Delineamento Experimental | 17 |
| Propagação das Mudas de <i>Mentha spicata</i> L. e Aplicação dos Tratamentos | 18 |
| Obtenção dos Resíduos Orgânicos na Composição do Substrato..... | 18 |
| Preparação da Solução Homeopática..... | 18 |
| Inóculo de <i>Trichoderma asperellum</i> e Preparação da Suspensão de Esporos Para Inoculação | 19 |
| Avaliação do Experimento..... | 19 |
| Extração de Óleo Essencial..... | 19 |
| RESULTADOS | 20 |
| Primeiro Ciclo de Produção das Plantas de <i>M. spicata</i> L..... | 20 |
| Segundo ciclo de produção de <i>M. spicata</i> L..... | 21 |
| DISCUSSÃO | 23 |
| CONCLUSÃO | 25 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 26 |
| CAPÍTULO II | 29 |
| INTRODUÇÃO | 29 |
| METODOLOGIA | 31 |
| Determinação do Potencial Antimicrobiano..... | 32 |
| Obtenção dos Isolados: | 32 |
| Ensaio Antifúngico | 32 |
| Concentração Inibitória Mínima (MIC) | 32 |
| RESULTADOS | 34 |
| DISCUSSÃO | 35 |
| CONCLUSÃO | 36 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 37 |
| CONCLUSÃO GERAL | 39 |

INTRODUÇÃO GERAL

A ciência homeopática foi fundamentada na Alemanha pelo médico Christian Friedrich Samuel Hahnemann em 1796, em oposição às práticas medicinais da época (SANTOS e SÁ, 2014). Os benefícios da utilização da homeopatia na agricultura estão relacionados à sustentabilidade, pois o uso da homeopatia não causa impacto ambiental, (LEONEL e BARROS, 2013). Além disso elas possuem baixo custo o que a torna economicamente viável para pequenos agricultores.

Os medicamentos homeopáticos podem ser utilizados para melhorias nos sistemas de produção e/ou controle de insetos e doenças, além de ser uma alternativa ao uso de insumos químicos (UBESSI et al., 2018). Segundo Gonçalves et al. (2017), pesquisas utilizando medicamentos homeopáticos em plantas, com o objetivo de aumentar a síntese no metabolismo primário e secundário, promoveu um aumento na produção de biomassa vegetal e óleo essencial das espécies.

O medicamento *Carbo vegetabilis* é produzido a partir de finas partículas do carvão vegetal (CASALI et al., 2009). França et al. (2017) apontam resultados positivos observados na promoção do desenvolvimento de mudas de tomate quando utilizaram medicamento homeopático *Carbo vegetabilis* e isolados de *Trichoderma* spp. De acordo com Candellero et al. (2015), o uso de cepas de *Trichoderma* como promotores de plântulas de *Capsicum chinense* influenciaram em um aumento relevante no crescimento das plantas.

A *Mentha spicata* L. que é uma planta medicinal e também condimentar, conhecida popularmente como hortelã, hortelã miúdo, hortelã comum e hortelã pimenta. Tem sua origem na Europa meridional sendo amplamente distribuída em todo mundo, suporta baixas temperaturas, porém se adapta melhor ao clima tropical (GASPARIN et al., 2014; BONFIM et al., 2017). O óleo essencial de hortelã possui propriedades antimicrobianas devido à presença de componentes químicos como: carvona, limoneno, sapineno, cariofileno e terpenol (BARBOSA et al., 2016; BAYAN e KÜSEK, 2018), que são amplamente estudados no controle de fitopatógenos.

Óleos essenciais formam uma classe de princípios ativos, sintetizados no metabolismo secundário das plantas e apresentam grande atividade antifúngica, antiviral e antibacteriana (SILVA et al., 2019). A espécie *Aspergillus welwitschiae* foi recentemente identificada por Duarte et al. (2018) como o agente causador da podridão vermelha do sisal. O sisal (*Agave sisalana*) é uma planta xerófita utilizada na produção

de uma fibra dura comercializada mundialmente e produzida especialmente em regiões áridas e semiáridas.

No Brasil a produção da *Agave sisalana* se concentra no Nordeste, sendo que o Estado da Bahia produz cerca de 93,5% do total produzido nacionalmente, tendo grande potencial econômico para a agricultura familiar, o sisal apresenta grande potencial econômico e social como principal fonte de renda da agricultura familiar da região do Nordeste Brasileiro (EMBRAPA, 2019).

Portanto a ação de fitopatógenos que afetam a cultura sisaleira prejudica economicamente os pequenos agricultores da região sisaleira que tem o plantio dessa espécie como fonte principal de emprego e renda. Com isso no presente estudo pretende-se contribuir para o conhecimento dos meios de produção orgânica com tecnologias de manejo viáveis na produção e no rendimento do óleo essencial da espécie *Mentha spicata* L. através do uso do inoculo de *Trichoderma asperellum* (TCS81) e de medicamento homeopático, bem como avaliar o potencial antifúngico do óleo essencial da espécie sob o fungo *Aspergillus welwitschiae*.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Homeopatia na Agricultura

A palavra homeopatia é originária do grego *homeos* (Semelhante) e *phatos* (Doença), ela foi criada pelo médico Hahnemann, na Alemanha e disseminada através da publicação do livro “Organon da arte de curar” no ano de 1810 (BRACCINI et al., 2019). A homeopatia é uma ciência que se baseia na homeostase do ser vivo, seus medicamentos agem a partir de estímulos energéticos reequilibrando a energia vital dos seres vivos (GRAMS, 2019).

Essa ciência chegou ao Brasil no ano de 1840 através do Dr. Benoit Mure, onde está inserida nos princípios da agricultura orgânica de acordo com a instrução normativa de nº 7 (BRASIL, 1999). Em 2004, a homeopatia na agricultura passou a ser considerada uma tecnologia social efetiva pela Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura através da Fundação Banco do Brasil. A homeopatia traz a independência do agricultor familiar, por possuir baixo custo, ser acessível, de simples manuseio e não gera resíduos no meio ambiente (PONTES et al., 2012).

Os preparados homeopáticos são produzidos a partir de diversas substâncias que podem ter origem mineral, animal, vegetal ou produtos químicos, para a preparação dos

medicamentos homeopáticos com produtos oriundos de vegetais podem ser utilizadas as plantas inteiras ou apenas algumas partes e também produtos extraídos dela ou sintetizados em seu metabolismo secundário. (RUEDA, 2013; RELTON et al., 2017; PINHEIRO et al., 2019). Para que o efeito tóxico das substâncias utilizadas seja reduzido, os preparados passam pelo processo de dinamização. A dinamização é caracterizada pelo processo de diluir e succionar e isso faz com que ocorra o decréscimo da concentração dos constituintes presentes em uma solução, toda via isso aumentando a potência do medicamento, que age não só quimicamente mais também através das características da substância diluída (TIEFENTHALER, 1996 apud BRUNO et al., 2018).

O Preparado Homeopático *Carbo vegetabilis*

A expansão do consumo mundial de insumos químicos nos cultivos agrícolas nos últimos 50 anos resultou em grandes impactos ambientais, esse consumo acarreta em contaminação dos solos e do lençol freático, além de trazer malefícios para a saúde humana, tornando-se imprescindível então à busca por alternativas sustentáveis nos meios de produção agrícola (BADER et al., 2019).

Os sistemas de produção com bases ecológicas estão se fortalecendo em todo o mundo, devido à busca por hábitos de vida saudáveis e que causem menor impacto ao meio ambiente (PULIDO et al., 2017). Dentre as opções de tratamentos alternativos utilizados na agricultura tem-se a homeopatia, que possui uma vasta quantidade de medicamentos. O medicamento homeopático *Carbo vegetabilis* é produzido a partir da calcinação da madeira até obtenção de fumaça e a decomposição e oxidação imperfeitas são à base da ação do medicamento (ROSSI et al., 2006).

Na agricultura o *Carbo vegetabilis* é utilizado como indutor à quebra de dormência de sementes, aumento da produção de massa e ativação do metabolismo secundário de plantas, além de ser utilizado em plantas que sob estresse por geadas e incêndios (CAVALCA et al., 2009). De acordo com Pinheiro et al. (2019) uma das vantagens da aplicação da homeopatia em plantas se encontra na produção agrícola livre de agrotóxicos.

Em vegetais o uso destes medicamentos tem apresentado resultados promissores na promoção do crescimento e germinação de sementes (CANDELERO et al., 2015;

FATORETO et al., 2017; FRANÇA et al., 2017). Como demonstram os resultados obtidos por Invenção et al. (2017) onde foi observado que a utilização do medicamento homeopático *Carbo vegetabilis* na dinamização 30 CH estimulou o crescimento de plântulas de Tomate (*Solanum lycopersicum*) germinadas a partir de sementes envelhecidas artificialmente.

Em um estudo realizado por Rueda (2013) constatou que o medicamento *Carbo vegetabilis* incrementou a massa seca da raiz de plantas de brócolis e um aumento da massa da parte aérea de plantas de couve-flor na dinamização 30 CH. Com isso este medicamento homeopático pode ser utilizado no cultivo de plantas medicinais, como um possível promotor do crescimento e rendimento de óleo essencial.

Caracterização do *Trichoderma* spp. e Seu Uso na Agricultura

O *Trichoderma asperellum* que foi descrito por Samuels et al. (1999), é um fungo que apresenta colônia de rápido crescimento, flocosa, com zonas concêntrica, conidióforos retos, ramificados, fiálide medindo entre 7-11 x 3-5.5 (2-3.5) μm , ampuliformes, conídios globosos a subglobosos, podendo ser obovoides, verdes, com medidas variando entre 3.7-6 x 3-5 μm , podendo difundir pigmentação creme no meio e odor.

Essa espécie é mais facilmente encontrada em regiões tropicais em solos com pequena decomposição e em zonas de clima frio nas regiões do Peru, Colômbia e Brasil (ADNAN et al., 2019). Apresenta potencial promissor no controle biológico, demonstrando resultados positivos no controle de outros fungos, por exemplo: *Rhizoctonia solani* em plantas de Pepino (TRILLAS et al., 2006), no entanto poucos estudos relatam a sua influência na promoção do crescimento e sobre a sua interferência no metabolismo primário e secundário de plantas.

No Brasil, as pesquisas referentes à utilização de *Trichoderma* spp. têm maior enfoque sobre os seus efeitos diretos sobre fitopatógenos e são poucos estudos direcionadas aos efeitos indiretos de crescimento e indução da resistência em vegetais (SILVA, 2011).

Os fungos do gênero *Trichoderma* são simbioses, endofíticos e contam com mais de 30 espécies e mais de 100 subespécies, pertencem á classe Ascomycota, que possuem abundantes conídios, que dão origem a estruturas denominadas conidióforos, emergindo diretamente das hifas (DILDEY et al., 2014; JUNGES et al., 2016).

São encontrados com maior periodicidade em solos de regiões de clima temperado e tropical, são fungos de vida livre e reprodução assexuada (MACHADO et al., 2012). Apresentam crescimento rápido e se adaptam a uma ampla variedade de substratos e se ajustam rapidamente às condições ambientais, pois consegue regular seu crescimento, formação de conídios e produção de enzimas (ADAV e SZE, 2014).

Espécies desse gênero são amplamente utilizadas na promoção do crescimento e no controle de fitopatógenos, pois estes fazem a solubilização de micronutrientes insolúveis e proporcionam maior absorção e translocação de minerais pouco disponíveis no solo e estão entre os agentes de biocontrole mais estudados no mundo, pois não têm se revelado patogênicos, já que produzem substâncias antimicrobianas (MACHADO et al., 2012; JUNGES et al., 2016; OLIVEIRA et al. 2016).

Quando esses fungos colonizam a rizosfera das plantas elas se beneficiam pela absorção do ácido indol-acético, que atua na proteção natural do *Trichoderma* contra outros fungos patogênicos as beneficia por via da disponibilização de nutrientes sendo eficientes na solubilização de fosfatos encontrados no solo (CHAGAS et al., 2017).

Trichoderma spp. têm apresentado potencial promissor para agricultura, possuindo espécies antagonistas de diferentes fitopatógenos, além de contribuir para o crescimento radicular das plantas e uma maior absorção de nutrientes. Favorecendo o aumento do crescimento e produtividade de vegetais e indução da resistência e por isso estão entre os fungos mais estudados e comercializados como biofertilizantes (HARMAN, 2006; BADER et al., 2017; BAYOUMI et al., 2018).

De acordo com Gomes et al. (2017) algumas cepas de *Trichoderma* spp., podem estabelecer relação simbiótica com vegetais, colonizando as raízes, promovendo um maior desenvolvimento das plantas, também estão relacionados com a resistência a doenças e tolerância a estresse abiótico, indicando que essa interação pode alterar o metabolismo secundário de vegetais.

Caracterização da *Mentha spicata* L. e Uso de Óleos Essenciais

O uso de plantas medicinais tem grande importância cultural em todo mundo, desde seu emprego na medicina, como condimentar ou aromática (ANTÔNIO et al., 2013). De acordo com a Agência Brasileira de Vigilância Sanitária (ANVISA) são consideradas plantas medicinais espécies vegetais que contenham substâncias ou classes de substâncias responsáveis pela ação terapêutica (BRASIL, 2010).

A ampla biodiversidade encontrada no Brasil proporciona um acúmulo de conhecimentos tradicionais, principalmente quando se trata da utilização de plantas medicinais, seu uso pode ser influenciado pela questão econômica e pelo custo elevado dos medicamentos sintéticos (BATTISTE et al., 2013).

A família Lamiaceae está inserida na ordem Tubiflorae (Lamiales), contendo cerca de 200 gêneros e mais de 4000 espécies, que estão distribuídas em todo planeta. A Lamiaceae também é conhecida como “família das mentas”, pelo fato de que as plantas que a compõe apresentarem aromas bastante característicos, (MARTINS, 2002; SNOUSSI et al., 2015).

As espécies de Lamiaceae contém uma série de compostos sintetizados pelo metabolismo secundário que são bastante relevantes, dentre eles está o óleo essencial (LIMA e CARDOSO, 2013). Dentre os inúmeros gêneros dessa família, o gênero *Mentha* possui aproximadamente 30 espécies com uma série de propriedades medicinais e que também são utilizadas para fins culinários (MORAIS et al., 2014) As espécies desse gênero têm sido muito utilizadas nas indústrias alimentícias, cosmética e farmacêutica por serem espécies ricas em óleos essenciais (SANTOS et al., 2013).

A *Mentha spicata* L. é uma espécie herbácea, perene, rizomatosa pertencente a Lamiaceae, conhecida popularmente como hortelã, pode alcançar uma média de 30 a 100 centímetros de altura. Apresentam folhas que medem entre 5 a 9 cm de comprimento e 1,5 a 3 cm de largura, com margem serrilhada, são lanceoladas, opostas e simples, sem pelos, pecíolo curto, caule quadrado, folhas com coloração verde brilhante, rizoma subterrâneo e flores lilás em espiga terminal, (ADJUTO, 2008; SNOUSSI et al., 2015).

A hortelã pode ser propagada por via sexuada (sementes) ou assexuada (por estaquias). As estacas podem ser retiradas de qualquer parte da planta e são obtidas a partir de estolões, sejam eles aéreos ou subterrâneos, com três nós ou 10 a 12 cm de comprimento (MARTINEZ, 2016). As hortelãs ou mentas possuem sabor e aroma refrescantes, isso está relacionado aos óleos essenciais que estão armazenados em seus tricomas glandulares de folhas e inflorescências (BARBOSA et al., 2016).

O óleo essencial dessa espécie tem sido testado quanto ao seu potencial antimicrobiano devido aos compostos que o constituem como apontam os estudos obtidos por Snoussi et al. (2015) os elementos predominantes que constituem o óleo essencial da *M. spicata* são: carvona, limoneno, 1-8 cineol, β -pineno, cis-dihidrocarvona e di-hidrocarveol e o rendimento deste óleo é de cerca de 1,1%.

Além disso foi constatado por Lourido et al. (2016), que o óleo essencial da *Mentha* sp. apresentou ação fungistática para os microrganismos *Rhizopus* sp, *Fusarium* sp, *Mucor* sp e *Pestalotiopsis* sp., também foi observado pelos autores atividade fungicida do mesmo óleo na concentração de 10 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ contra o fitopatógeno *Bipolaris* sp. O uso do óleo essencial de *M. spicata* L. tem apresentado efetividade contra fungos que deterioram alimentos, produção de aflatoxina e contra diferentes estágios de vida de *Callosobruchus chinensis* (KEDIA et al., 2014).

A ISO (*International Standard Organization*) define óleos voláteis como os produtos obtidos de diferentes partes de plantas substâncias complexas, voláteis, geralmente com odor, que podem ser extraídas por métodos de destilação, e este pode ser simples ou por arraste a vapor. Vários fatores podem alterar o rendimento dos óleos essenciais, como por exemplo: técnicas de manejo, temperatura do ambiente, espécie da planta, modo de secagem, parte da planta que foi utilizada na extração do óleo, método de colheita, época da colheita (FEITOSA, et al., 2014).

A produção mundial de óleos essenciais está em torno de 45 mil toneladas, avaliadas em U\$ 700 milhões. Estima-se que a produção brasileira de óleos essenciais corresponde a 13,5% da produção mundial, em toneladas (LOURENÇO, 2012). O Brasil é o quarto exportador mundial, com quase US\$ 150 milhões de dólares, mas 90% disso são óleos cítricos, subproduto da indústria da laranja (AZAMBUJA, 2012). Devido à importância econômica das plantas medicinais e dos componentes de seus óleos essenciais, tem crescido os estudos relacionados aos métodos de plantio, aumento de massa, e obtenção de óleo essencial.

Há alguns anos a aplicação imoderada de antimicrobianos tem feito com que patógenos humanos e vegetais tenham desenvolvido resistência, desse modo se faz necessário à busca por novos bioativos que possam ter finalidade tanto para a medicina quanto para agricultura (BARROS et al., 2015).

***Aspergillus welwitschiae* e o Teste de Concentração Mínima Inibitória**

O gênero *Aspergillus* foi descrito pela primeira vez em 1729 e compõe um grupo de fungos filamentosos com 339 espécies, dentre elas, espécies patogênicas para vegetais e animais que causam grande impacto social e econômico, esses fungos possuem ampla

distribuição geográfica e podem ser encontrados em uma grande diversidade de habitats (SANSOM et al., 2014; ABDEL-AZEEM et al., 2016).

Existe uma abundância de fungos fitopatogênicos no mundo o que se torna um fator limitante para a produção agrícola, afetando a qualidade de seus produtos (GUIDO et al., 2018). Dentre essas doenças que acometem os vegetais tem ênfase à podridão vermelha do sisal (*Agave sisalana*), que contamina a planta em qualquer estágio de desenvolvimento causando descoloração e podridão dos tecidos internos do caule, resultando na senescência da planta (ABREU, 2010).

A podridão vermelha do sisal é causada por um fungo filamentososo que foi identificado pela primeira vez no século XIX, *Aspergillus welwitschiae* é encontrado no solo de regiões áridas e semiáridas (DUARTE et al., 2017). O uso de produtos sintéticos é bastante comum no tratamento dessas doenças podendo ocasionar diversos problemas ambientais, afetando inclusive a saúde humana (BRUM et al., 2014).

A. sisalana é popularmente conhecida como sisal que possui grande potencial na produção de fibras que são comercializadas, além de ser utilizada também na fitoterapia como anti-inflamatória (MARTIN et al., 2009; NETO et al., 2012). Considerada uma fibra dura, sua produção comercial corresponde a cerca de 70% do total produzido no mundo de fibras desse tipo, dessa forma constitui um importante fonte de renda para os trabalhadores, principalmente da região semi-árida, nordestina brasileira (MARTIN et al., 2009).

Portando qualquer doença que inviabilize a produção e comercialização desta espécie ocasionará em prejuízos socioeconômicos para a agricultura familiar. Diversos estudos têm sido desenvolvidos em busca de bioativos que controlem esse fitopatógeno, dentre eles está a pesquisa realizada por Souza e Soares (2013), onde foi utilizado o extrato aquoso de alho onde a quantidade de 3000 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ inibiu em 100% o crescimento e esporulação micelial em teste *in vitro*. Com isso o uso de extratos vegetais e óleos essenciais podem ser uma importante ferramenta levando em consideração seu potencial antimicrobiano.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-AZEEM, A. M; SALEM, F. M; ABDEL-AZEEM, M. A; NAFADY, N. A; MOHESIEN, M. T; SOLIMAN, E. A. (2016). Biodiversity of the Genus *Aspergillus* in different habitats. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier. [S.L], p. 28-33, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-63505-1.00001-4>.

ABREU, K. C. L. M. **Epidemiologia da podridão vermelha do sisal no Estado da Bahia**. 2010. 100 p. Tese de Doutorado (Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias). Cruz das Almas, Bahia. 2010.

ADAV, S. S.; SZE, S. K. (2014). *Trichoderma* Secretome: An Overview. *Biotechnology and Biology of Trichoderma*, Elsevier. [S.L], 103–114p, 2014. Doi:10.1016/b978-0-444-59576-8.00008-4.

ADJUTO, E. N. P. **Caracterização Morfológica e do óleo essencial de seis acessos de hortelanzinho (*Mentha* spp.)**. 2008. 95 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)- Faculdade de Agronomia e Medicina veterinária, Universidade de Brasília, Brasília/ DF, 2008.

ADNAN M; ISLAM W; SHABBIR A; KHAN K. A; GHRAHM H. A; HUANG Z; CHEN H. Y. H; LU G-D; Plant defense against fungal pathogens by antagonistic fungi with *Trichoderma* in focus. **Microbial Pathogenesis**. 2019, Doi: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.01.042>.

ANTONIO, G. D; TESSER, C. D; MORETTI-PIRES, R. O. Contribuições das plantas medicinais para o cuidado e a promoção da saúde na atenção primária. **Interface- Comunicação, Saúde, Educação**,[S.L]. v. 17, p. 615-633, 2013.

AZAMBUJA, J. **Produção e extração de óleos essenciais em pequenas propriedades rurais**. (2012). Trabalho de Conclusão de Curso (Especialista em MBA em Gestão do Agronegócio) Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2012.

BADER, A.N.; SALERNO, G.L; COVACEVICH, F; CONSOLO, V.F. Native *Trichoderma harzianum* strains from Argentina produce indole- 3 acetic acid and phosphorus solubilization, promote growth and control wilt disease on tomato (*Solanum lycopersicum* L.), **Journal of King Saud University - Science** (2019), doi: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2019.04.002>.

BARBOSA, C. K. R; SOUZA, C. E; FONSECA, M. C. M; CASALI, V. W. D. Teor de óleo essencial de hortelã-pimenta após fragmentação e secagem. **Magistra**, Bahia, v. 28, n. 2, p. 279-284, 2016.

BARBOSA, K. R; WINKE, L. O; LUZ, M. L. G. S; LUZ, C. A. S; GADOTTI, G. I; GOMES, M. C; NAVROSKI, R. Análise econômica de indústria de extração de óleos essenciais a partir de frutas cítricas. **Revista Técnico-Científica**,[S.L]. v. 1, n. 9, 2017.

BARROS, A. S; MORAIS, S. M; FERREIRA, P. A. T; VIEIRA, Í. G. P; CRAVEIRO, A. A; SANTOS, F. R. O; SOUZA, H. A. (2015). Chemical composition and functional

properties of essential oils from *Mentha* species. **Industrial Crops and Products**, [S.L]. v. 76, p. 557–564. 2015. Doi:10.1016/j.indcrop.2015.07.004.

BATTISTI, C; GARLET, T. M.B; ESSI, L; HORBACH, R. K; ANDRADE, A; BADKE, M.R. Plantas medicinais utilizadas no município de Palmeira das Missões, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Rio Grande do Sul. v. 11, n. 3, 2013.

BAYAN, Y; KÜSEK, M. C. Composition and Antifungal and Antibacterial Activity of *Mentha spicata* L. Volatile Oil. *Ciencia e investigación agraria*, [S.L].v 45, n1, p. 64-69. 2018.

BAYOUMIA, Y; TAHAB, N; SHALABYA, C, T; ALSHAALD, E, T; EL-RAMADYD, H. *Sulfur* promotes biocontrol of purple blotch disease via *Trichoderma spp.* and enhances the growth, yield and quality of onion. **Applied Soil Ecology**, [S.L], v. 134, p. 15-24, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.10.011>.

BONFIM, F. P. G; BARBOSA, C. K. R; FONSECA, M. C. M; TEIXEIRA, D. A; GOMES, J. A. O; CASALI, V. W. D. Técnicas de pós-colheita na qualidade e no teor de óleo essencial de hortelã. **Revista científica cultural**, [S.L]. ISSN: 1413-8263/2525-6912, v. 19, n. 2, 2017.

BRACCINI, G. L., CASETTA, J., DA SILVA, S. C. C., DE OLIVEIRA CARNIATTO, C. H., DOS SANTOS, V. D. R., & COSTA, V. F. Aplicação da Homeopatia na Produção Animal. **Revista Valore**, Volta Redonda, SP. ed 4. p 310-323. 2019.

BRASIL, **Ministério da Saúde: Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Resolução – RDC nº 10. 09 de março, Brasília, 2010.

BRASIL. **Instrução Normativa Nº007 de 17 de maio de 1999**. Estabelece normas para produção de produtos orgânicos vegetais e animais. Diário Oficial da União, Brasília, n094, Seção 1, p. 11, 19 de maio de 1999.

BRASIL. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da saúde, Disponível em <www.saude.gov.br> , 2006.

BRUM, R. B. C. S; CASTRO, H. G; CARDON, C. H; PEREIRA, A. S; CARDOSO, D. P; SANTOS, G. R. (2014). Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre fungos fitopatogênicos. **Magistra**, v. 26 (3), p. 365-375, 2014.

BRUNO, F.; FEITOSA, C. B.; COELHO, C. P. Abordagem homeopática em cão jovem com insuficiência renal crônica: relato de caso. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 16, n. 2, p. 78-79, 3 dez. 2018.

CANDELERO, J; CRISTÓBAL, A.J; REYES, R.A; TUN, S.J.M; RUÍZ, S.E. (2015). *Trichoderma spp.* promotoras del crecimiento en plântulas de *Capsicum chinense* Jacq. y antagónicas contra *Meloidogyne incognita*. **Phyton**. [S.L], v. 84, p.113-119, 2015.

CASALI, V. W. D.; ANDRADE, F. M. C.; DUARTE, E. S. M. **Acologia das Altas Diluições**. Viçosa: UFV. P. 537, 2009.

CAVALCA, M.A.P; SILVA, H.A; MARQUES, R.M; BONATO, C.M. **Efeito do medicamento homeopático *Carbo vegetabilis* no vigor de plântulas de soja**.

Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar, Centro universitário de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil, ISBN 978-85-61091-05-7, 2009.

CHAGAS, L. F. B.; CHAGAS J. A. F.; SOARES, L. P.; FIDELIS, R. R. *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia - MS, v. 4, n. 3, p. 97-102, jul./set. 2017.

DILDEY, O. D. F; BARBIAN, J. M; GONÇALVES, E. D. V; BROETTO, L; ETHUR, L. Z; KUHN, O. J; BONETT L. P. Inibição do crescimento in vitro de *Sclerotinia sclerotiorum*, causador de mofo branco, por isolados de *Trichoderma* spp. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 12, n. 3, p. 132-136, 2014. ISSN 1980-4849. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/2747>. Acessado em: 23 de Setembro de 2019.

DUARTE, E. A. A; DAMASCENO, C.L; OLIVEIRA, T.A.S; BARBOSA,L.O; MARTINS,F.M; SILVA,J.R.Q; LIMA,T.E.F; SILVA,R.M; KATO,R.B; BORTOLINI,D.E; AZEVEDO,V; GÓES-NETO,A; SOARES,A.C.F. Putting the Mess in Order: *Aspergillus welwitschiae* (and Not *A. niger*) Is the Etiological Agent of Sisal Bole Rot Disease in Brazil. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 9, 11 jun. 2017.

EMBRAPA – **Cultivo do Sisal**. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/>. Acessado em: 14 de Agosto de 2019.

FATORETO, J. A.S; PARRA, M. R; CAMARGO, E; PEREIRA, A. P.C. Análise do efeito de produtos homeopáticos sobre a germinação de *Delonix regia*. **REVISTA UNINGÁ**, [S.I.], v. 10, n. 1, out. 2017. ISSN 2318-0579. Disponível em: <http://revista.uninga.br/index.php/uninga/article/view/520>. Acesso em: 13 set. 2019.

FEITOSA, R. M; DANTAS, R. D. L; GOMES, W. C; MARTINS, A. N. A; ROCHA, A. P. T. Influência do método de extração no teor de óleo essencial de hortelã (*Mentha spicata* L.). 4. ed. Pombal - PB - Brasil: **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. v. 9. 2014. -Disponível em: <http://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS>. Acessado em: 03 de Outubro de 2017.

FRANÇA, D. V. C.; KUPPER, K. C.; MAGRI, M. M. R.; GOMES, T. M.; ROSSI, F. *Trichoderma* spp. isolates with potential of phosphate solubilization and growth promotion in cherry tomato. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 47, ed. 4, p. 360-368, 2017. ISSN 1983-4063. Disponível em: www.agro.ufg.br/pa. Acessado em 12 de Setembro de 2019.

GASPARIN, P.P; ALVES, N. C. C; CHRIST, D; COELHO, S. R. M. Qualidade de folhas e rendimento de óleo essencial em hortelã pimenta (*Mentha x Piperita* L.) submetida ao processo de secagem em secador de leito fixo. Campinas, SP: **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 2014. 337-344 p. v. 16.

GOMES, E. V; ULHOA, C.J; CARDOZA, R. E; SILVA, R. N; GUTIÉRREZ, S. (2017) Involvement of *Trichoderma harzianum* Epl-1 Protein in the Regulation of Botrytis Virulence and Tomato Defense-Related Genes. **Frontiers in Plant Science**. 8:880. doi.org/10.3389/fpls.2017.00880.

GONÇALVES, P. A.S; BOFF, P; ARAUJO, R. E. Altas diluições dinamizadas de nitrato de cálcio e sulfato de potássio no manejo de tripes, míldio e rendimento de

cebola em sistema orgânico de produção. **Revista Thema**, [S.L.], v.14, n.4, p.16-24, 2017. Disponível em: <<http://revistathema.ifsul.edu.br/index.php/thema/article/view/563/676>>. Acessado em: 14 de Junho de 2018.

GRAMS, Natalie. Homeopathy—where is the science? **EMBO reports**, [S.L.], v. 20, n. 3, 2019. DOI: <https://doi.org/10.15252/embr.201947761>. Acessado em: 16 de Dezembro de 2019.

GUIDO, Z; FEIJÓ, A. L. R; FERREIRA, F. D; GONÇALVES, C. R; HELLWIG, F. M; NETO, L. T. **Avaliação das concentrações inibitória e fungicida mínima do óleo essencial de orégano sobre *Aspergillus flavus***. Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, v. 9, n. 3, 2018.

HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**. 96:190-194, 2006.

INVENÇÃO, D. R. S; FARIAS, A. L. R; JUNIOR, J. A. L; SILVA, R. F; ARMOND, C. Sementes Envelhecidas Artificialmente Tratadas com *Carbo vegetabilis* e *Calcarea fluorica*. **Cadernos Macambira**. V. 2 nº 1, p.128, (2017). Anais do III Simpósio de Agroecologia da Bahia. Serrinha, Bahia, 2017.

JUNGES, E; MUNIZ, M. F; MEZZOMO, R; BASTOS, B; MACHADO, R. T. ***Trichoderma* spp. na Produção de Mudanças de Espécies Florestais**. Araras: 237-244 p. v. 23(2). 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/2179-8087.107614> ISSN 2179-8087 (online)>. Acessado em: 07 de Setembro de 2017.

KEDIA, A; PRAKASH, B; MISHRA, P. K; CHANOTIYA, C. S; DUBEY, N. K. (2014). Antifungal, antiaflatoxigenic, and insecticidal efficacy of spearmint (*Mentha spicata* L.) essential oil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 89, 29–36. doi:10.1016/j.ibiod.2013.10.027.

LEONEL, A. H.; BARROS, B. H.; Utilização de preparados homeopáticos para o controle da ferrugem do café (*Hemileia vastatrix*) da região da Alta Mogiana. **Resumo do VIII Congresso Brasileiro de Agroecologia**. Porto Alegre / RS. Cadernos de Agroecologia – vol.8, n.2. 2013.

LIMA, R. K; CARDOSO, M. G. Família Lamiaceae: Importantes Óleos Essenciais com Ação Biológica e Antioxidante. **Revista Fitos**, [S.L.], v. 3, n. 03, p. 14-24, 2013.

LOURENÇO, G. F. **Importância econômica e industrial dos óleos essenciais** (2012). Disponível em: <<http://www.sabernarede.com.br>> Acessado em 06 de agosto de 2018.

LOURIDO, K. A; LUSTOSA, D. C; REBELO, R. X; SANTOS, L. E; VIEIRA, B. N. P. Óleos de Cumaru e Hortelã: alternativas para o controle de fitopatógenos. **Cadernos de Agroecologia**, [S.L.], v. 10, n. 3, may 2016. ISSN 2236-7934. Disponível em: <<http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/cad/article/view/17470>>. Acesso em: 02 dec. 2019.

MACHADO, D. F. M; PARZIANELLO, F. R., SILVA, A. C. F. *Trichoderma* no Brasil: O fungo e o bioagente. **Revista de ciências agrárias**, [S.L.], v. 35, n. 1, p. 274-288, 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.mec.pt/pdf/rca/v35n1/v35n1a26.pdf>>. Acesso em: 14 jun. 2018.

MARTIN, A. R; MARTINS, M. A; MATTOSO, L. H. C; SILVA, O. R. R. F. Caracterização química e estrutural de fibra de sisal da variedade *Agave sisalana*. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, Associação Brasileira de Polímeros São Paulo, Brasil. vol. 19, núm. 1. P. 40-46, 2009. Disponível em: Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=47018758011>. Acessado em: 24 de Outubro de 2019.

MARTÍNEZ, C. A. G. **Principais componentes do óleo essencial de acessos de *Mentha spp* em Brasília e estudo da propagação vegetativa**. 2016. 78 p. Dissertação (Mestrado em agronomia). Faculdade de Agronomia e Medicina veterinária, Universidade de Brasília, Brasília/ DF, 2016.

MARTINS, M. B. G. **Estudos de microscopia óptica e de microscopia eletrônica de varredura em folhas de *Mentha spicata* e de *Mentha spicata* x *suaveolens* (Lamiaceae)**. Bragantina, Campinas , v. 61, n. 3, p. 205-218, 2002 . Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.br>. Acessado em: 25 de Novembro de 2019.

MORAIS, T. P.; ASMAR, S. A.; LUZ, J. M. Q. Reguladores de crescimento vegetal no cultivo in vitro de *Mentha* x *piperita* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**,[S.L], v. 16, n. 2, p. 350-355, 2014.

NETO, I. L. C; MARTINS, F. M. Anatomia dos órgãos vegetativos de *Agave sisalana* Perrine ex En-Gelm (Agavaceae). **Revista Caatinga**,[S.L], v. 25, n. 2, p. 72-78, 2012.

OLIVEIRA, P.; NASCENTE, A.; FERREIRA, E.; KLUTHCOUSKI, J.; LOBO JUNIOR, M. Resposta de fungos e processos biológicos do solo a resíduos vegetais em sistema plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Tropical** (Agricultural Research in the Tropics),[S.L]. v. 46, n. 1, p. p. 57-64, 11 abr. 2016.

PINHEIRO, R. A; DUARTE, V. C. B; BEVILAQUA, G. A. P; ANTUNES, I. F. Efeito de preparados homeopáticos no vigor de sementes e desenvolvimento de plântulas de feijão. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 42, n. 2, p. 81-90, jun. 2019. Disponível em: <http://www.scielo.mec.pt/scielo.com.br>. Acessado em: 12 set. 2019. <http://dx.doi.org/10.19084/RCA.15209>.

PONTES, M. S; SANTOS, G; SILVA, F. R. S; RIBEIRO, C. A. L. Fitoterapia e homeopatia através da extensão universitária no Sudeste Mineiro: Propostas alternativas para a saúde rural e agricultura familiar na região de Muriaé, MG. **Acta Biomédica Brasiliensia**, [S. L.], v. 3, n. 2, p. 48-54, 2012.

PULIDO, E. High dilution preparations for organic production system of broccoli. **Agronomia Colombiana**, [S. L.], n. 36, ed. 1, p. 53-68, 2017.

RELTON C; COOPER, K; VIKSVEEN, P; FIBERT, P; THOMAS, K. Prevalence of homeopathy use by the general population worldwide: a systematic review, **Homeopathy** (2017), <http://dx.doi.org/10.1016/j.homp.2017.03.002>.

ROSSI, F; DE MELO, P. C. T; AMBROSANO, E. J; GUIRADO, N.; SHIRAHIGE, F. H; KAMIMURA, D. T. T; AMBROZANO, M. F. (2006). **Desenvolvimento de mudas de alface, cultivar Babá de Verão, com aplicação do preparado homeopático *Carbo vegetabilis***. In *Congresso Brasileiro de Olericultura* (Vol. 46, pp. 3079-3082).

RUEDA, E. E. P. **Utilização de altas diluições na produção orgânica de repolho, brócolis e couve-flor.** 2013. 68 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2013.

SAMSON, R. A; VISAGIE, C. M; HOUBRAKEN, J; HONG, S.-B; HUBKA, V; KLAASSEN, C. H. W; FRISVAD, J. C. (2014). Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. **Studies in Mycology**, 78, 141–173. doi:10.1016/j.simyco.2014.07.004.

SAMUELS, G.J.; LIECKFELDT, E.; NIRENBERG, H.I. *Trichoderma asperellum*, a new species with warted conidia, and redescription of *T. viride*. **Sydowia** 51 (1):71-88, 1999.

SANTOS, G. A; BRENZAN, M. A; SERRA, L. Z. Influência do cultivo na produção de biomassa, teor e composição do óleo essencial de *Mentha spicata*. ISSN:1980-0002. ed. [S.l.]: **Revista de Saúde e Biologia** [S.L]. v. 8. 19-25 p. 2013. Disponível em: <<http://www.revista.grupointegrado.br/sabios/>>. Acessado em: 03 de outubro de 2017.

SANTOS, R; SÁ, P, M, F. Homeopatia histórico e fundamentos. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**. [S.L], v. 5(1), p. 60-78, 2014.

SILVA, A, J; OLIVEIRA, L. P; REZENDE, J. C. P; SARAIVA, I. S. Avaliação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais obtidos de diferentes fabricantes. **Sinapse Múltipla**, [S. l.], Julho 2019. Disponível em: <http://periodicos.pucminas.br/index.php/sinapsemultipla>. Acessado em: 7 de Agosto 2019.

SILVA, V. N; GUZZO, S. D; LUCON, C. M. M; HARAKAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 12, p. 1609-1618, Dezembro 2011. Disponível em: <http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/10527/6717>. Acessado em: 24 de Setembro de 2019.

SNOUSSI, M; NOUMI, E; TRABELSI, N; FLAMINI, G; PAPETTI, A; DE FEO, V. *Mentha spicata* essential oil: Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities against planktonic and biofilm cultures of *Vibrio* spp. strains. **Molecules**, [S.L], v. 20, n. 8, p. 14402-14424, 2015.

SOUZA, L. S. S; SOARES, A. C. F. Extrato aquoso de alho (*Allium sativum* L.) no controle de *Aspergillus niger* causador da podridão vermelha em sisal. **Tecno-lógica**, v. 17, n. 2, p. 124-128, 2013.

TRILLAS, M. I; CASANOVA, E.; COTXARRERA, L.; ORDOVÁS, J.; BORRERO, C; AVILÉS, M. (2006). Composts from agricultural waste and the *Trichoderma asperellum* strain T-34 suppress *Rhizoctonia solani* in cucumber seedlings. **Biological Control**, [S.L], v. 39(1), p. 32–38, 2006. Doi:10.1016/j.biocontrol.2006.05.007.

UBESSI, C; ROSA, V; KRYSCZUN, D; CARINI, F; TEDESCO, S; SILVA, C; ANDRIOLO, J. Chamomile Cultivation Submitted to Ultra-diluted *Phosphorus* Solutions. **Journal of Agricultural Science**, [S. l.], v. 10, ed. 8, p. 305-313, 2018. DOI:10.5539/jas.v10n8p305. Disponível em: <https://doi.org/10.5539/jas.v10n8p305>. Acesso em: 1 set. 2019.

CAPÍTULO I

Produção e rendimento do óleo essencial de *Mentha spicata* L. tratadas com *Carbo vegetabilis* 5CH e *Trichoderma asperellum*

INTRODUÇÃO

A agricultura familiar é a principal responsável pela geração de emprego e fortalecimento do desenvolvimento nas zonas rurais do Brasil, constituindo uma parte significativa da produção nacional, intensificando a economia nos municípios onde vivem, todavia nas comunidades rurais essa renda é mal distribuída e grande parte da população vive em condições socioeconômicas bastante heterogêneas o que forma os bolsões de pobreza rural (LOURENZANI et al., 2004).

Neste contexto a produção de plantas medicinais é uma alternativa econômica que pode gerar renda para os agricultores, seja para o comércio da planta fresca, ou ainda para extração dos seus compostos metabolizados. Um dos problemas que envolvem este cultivo é que os compostos metabolizados por plantas medicinais sofrem influência de vários fatores como: solo, temperatura, interação com outras plantas, interação com insetos, época de colheita fatores estes que afetam a qualidade e composição química dos produtos extraídos dessas espécies (LOURENZANI et al., 2004; TAIZ e ZEIGER, 2006; GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

Diversos compostos podem ser obtidos a partir de vegetais além da madeira, dentre estes compostos estão as: gomas, extratos, resinas dentre outros. Nos extratos destacam-se os óleos essenciais, que são substâncias voláteis sintetizadas no metabolismo secundário de plantas, que possuem um grande potencial para aplicação nas indústrias cosméticas, farmacêutica e alimentícia (VIVAN et al., 2011). Estes produtos são também procurados por apresentarem propriedades analgésicas, relaxantes, afrodisíacas, rejuvenescedoras, anestésicas e anti-inflamatórias (AMARAL e PEREIRA, 2019).

De acordo com o (OEC) *The Observatory of Economic Complexity* (2011), os principais exportadores de óleos essenciais são Estados Unidos (13%), Índia (12,0%), China (9,6%), França (8,6%) e Brasil (7,5%), sendo o valor total gerado pelo mercado de óleos essenciais, cerca de 5,44 bilhões. Os óleos essenciais podem ser extraídos de diversas partes das plantas como folhas, flores, frutos, caule e raiz e para sua obtenção a técnica mais utilizada é arraste a vapor, também podem ser utilizadas técnicas de

prensagem, micro-ondas, destilação com água, destilação por maceração (BARBOSA, 2017; AMARAL e PEREIRA, 2019).

Utilizando o método de hidrodestilação para extrair óleos essenciais as partes das plantas utilizadas entram em contato com a água em ebulição e a alta temperatura do vapor rompe as células vegetais, liberando e evaporando o óleo e a água ali presentes, após isso, no condensador ocorre a separação do óleo e do hidrolato e por fim o óleo essencial é retirado (MEYER-WARNOD, 1984; CHAGAS et al., 2017).

Um fator importante sobre o uso desses compostos é que eles possuem baixa toxicidade em mamíferos, são biodegradáveis e podem executar a função de mais do que um de seus componentes sintéticos (FIGUEREDO e BARROSO, 2014). Sendo assim podem representar uma tecnologia inovadora tanto para área médica quanto agrícola, já que possuem constituintes antimicrobianos.

Dentre as diversas espécies de plantas medicinais encontradas no Brasil estão as do gênero *Mentha* que produzem óleo essencial com grande valor comercial, este óleo essencial é encontrado nos tricomas glandulares de folhas e inflorescências (MARTINS e MARTINS, 2003; SERRA et al., 2013). A *Mentha spicata* L. é utilizada popularmente como planta medicinal como estimulante gástrico, no tratamento de náuseas, distúrbios ginecológicos, além de ser usado como vermífugo e anti-séptico bucal, também como planta condimentar no preparo de pratos quentes e frios, como carnes, sopas, sucos e saladas (JÚNIOR e LEMOS, 2012).

Demonstrando que seus compostos podem ter atividade importante na fitoterapia, além disso estudos demonstram atividade antimicrobiana do óleo essencial da espécie. Devido à importância econômica das plantas medicinais e dos componentes de seus óleos essenciais, são necessários estudos relacionados aos métodos de plantio, aumento de massa, e obtenção de óleo essencial.

Pesquisas utilizando medicamentos homeopáticos em vegetais demonstram efeitos positivos na produção de massa fresca, massa seca, quebra de dormência de sementes, desenvolvimento de raiz de diversas espécies (JASKI et al., 2015; MODOLON et al., 2016; COSTA et al., 2018). Quando associado ao microrganismo do gênero *Trichoderma* foi observado que ocorreu um aumento do desenvolvimento de mudas de *Solanum lycopersicum* (FRANÇA et al., 2017).

Para que se possa obter um conhecimento sobre a produção de espécies aromáticas e medicinais é necessário que estudos sejam realizados em ambiente controlado, a fim de obter uma menor influência sob a síntese de compostos destas espécies. Diante do

exposto neste trabalho tem- se o objetivo de avaliar a produção e o rendimento do óleo essencial de *Mentha spicata* L. submetida ao tratamento com medicamento homeopático *Carbo vegetabilis* 5CH e inoculações com *Trichoderma aspererullum* (TCS81).

METODOLOGIA

O presente estudo foi desenvolvido em casa de vegetação na Fazenda Experimental de produção vegetal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), localizada na cidade de Cruz das Almas. O município está situado no Recôncavo da Bahia, com coordenadas geográficas de 12°40' 19" latitude sul, 39°06' 23" de longitude oeste de Greenwich e altitude média de 220m (BAHIA, 2007).

Delineamento Experimental

Neste experimento utilizou-se delineamento em blocos casualizados, constituídos de 4 tratamentos, com 40 repetições cada, totalizando 160 unidades experimentais (Sendo considerada unidade experimental, cada saquinho de mudas). Os tratamentos utilizados estão disponíveis na tabela 1.

Tabela 1: Tratamentos utilizados em Plantas de *Mentha spicata* L. em estudo desenvolvido em casa de vegetação na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, localizada na cidade de Cruz das Almas.

| TRATAMENTOS | |
|--------------------|--------------------------------------|
| T1 | <i>Carbo vegetabilis</i> 5CH + TCS81 |
| T2 | <i>Carbo vegetabilis</i> 5CH |
| T3 | TCS 81 |
| CONTROLE | Água |

Os substratos utilizados foram: solo autoclavado, esterco bovino curtido e palha de bananeira triturada. Para a inoculação da suspensão com fungo *Trichoderma asperellum* (TCS 81) foi utilizada 5 mL da suspensão de esporos aplicados com pipeta diretamente no substrato de cada tratamento com exceção do controle. Enquanto que para aplicação do medicamento homeopático *Carbo vegetabilis* foi utilizado 100 mL do medicamento sendo aspergidos no substrato uma vez a cada 7 dias durante os períodos de avaliação.

Propagação das Mudas de *Mentha spicata* L. e Aplicação dos Tratamentos

As mudas foram obtidas por meio de propagação assexuada por estaquia de plantas de *M. spicata* L. e colocadas para enraizar em tubetes preenchidos com substrato de solo e esterco na proporção de 3:1 em casa de vegetação. Após enraizadas, foram selecionadas as mudas de maior vigor e com altura de aproximadamente 16 cm, que posteriormente foram transferidas para sacos de polietileno com capacidade de 2Kg preenchidos com substrato contendo solo (autoclavado por 2 horas a 120 °C), esterco bovino (3:1) e substrato testado de palha de bananeira triturada.

A proporção utilizada corresponde a 1,5 kg de solo, 500 g de esterco bovino e 10 g de palha de bananeira triturada. O substrato foi umedecido com água para facilitar o transplante e enraizamento das mudas. Após transplante foram aguardados 15 dias para aclimação. Passado esse período as plantas foram inoculadas com a suspensão do fungo TCS 81 (a cada 30 dias), para tal foi utilizada uma micropipeta com capacidade de 5000 µL, a solução de esporos foi inoculada diretamente no substrato.

A aplicação da homeopatia *Carbo vegetabilis* 5CH ocorreu através da utilização de copos do tipo Becker com capacidade de 100 mL, sendo aplicada a solução diretamente no substrato a cada 7 dias. Para o controle foi utilizado apenas água destilada. As plantas foram regadas 3 vezes ao dia, durante 10 minutos por meio de sprinklers existentes na casa de vegetação, em sistema automatizado.

Obtenção dos Resíduos Orgânicos na Composição do Substrato

Utilizou-se como resíduo orgânico as folhas de bananeira (*Musa* spp.) que foram obtidas na Fazenda experimental de produção vegetal da UFRB/CCAAB, campus Cruz das Almas, Bahia. O material passou por secagem em estufa de circulação forçada de ar a 45 °C por um período de seis dias.

Após a secagem, o material orgânico foi triturado em moinho do tipo Wiley, o material moído foi armazenado em saco plástico hermeticamente fechado, a temperatura ambiente, até o momento de sua incorporação ao solo (10g substrato/ 2Kg de solo) de acordo com a metodologia descrita por Souza (2016).

Preparação da Solução Homeopática

O medicamento homeopático *Carbo vegetabilis* foi adquirido a partir de estabelecimento comercial. A preparação das diluições seguiu as normas descritas na

Farmacopéia Homeopática Brasileira (2011). Para a preparação da solução homeopática utilizou-se 1 mL da homeopatia correspondente, diluída em 1000 mL de água e depois homogeneizada. O medicamento *Carbo vegetabilis* na dinamização 5 CH foi aplicado semanalmente até a colheita, na qual foram aspergidos 100 mL da solução aquosa, na parte aérea da planta próximo ao solo.

Inóculo de *Trichoderma asperellum* e Preparação da Suspensão de Esporos Para Inoculação

O isolado de *Trichoderma asperellum* (TCS81) utilizado neste experimento pertence à coleção do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizada na Cidade de Cruz das Almas – BA. A cultura foi multiplicada em placa de Petri utilizando meio de cultura batata dextrose ágar (BDA), com incubação em BOD a temperatura ambiente (25 ± 1 °C), por 7 dias.

Após esse período, as colônias foram raspadas com alça de Drigalsk. A suspensão foi filtrada e os conídios contados em câmara de Neubauer, em microscópio óptico, sendo ajustada a concentração de 10^6 conídios mL^{-1} com acréscimo de água destilada esterilizada.

Avaliação do Experimento

Neste experimento foram medidas semanalmente a variável altura das plantas (ALT), durante dois períodos de avaliação, que correspondem aos dois ciclos da planta, onde foram realizados um corte e uma colheita. O corte foi executado com 60 dias após o transplante, sendo feito na parte aérea rente ao substrato. Após o corte foi aguardado 30 dias para o rebrote das mudas e logo após foram efetuadas mais duas inoculações a cada 30 dias e realizou-se a colheita.

O material seguiu devidamente identificado para o Laboratório de Olericultura e Graníferas da UFRB onde foi determinada a massa fresca da parte aérea (MFPA), para isso utilizou-se balança analítica de precisão. A MFPA foi colocada em estufa de circulação de ar forçada a 32 °C durante 72 horas, até obter a massa seca da parte aérea (MSPA) para extração de óleo essencial.

Extração de Óleo Essencial

As plantas secas foram retiradas da estufa e armazenadas em embalagens de papel devidamente identificadas. A MSPA foi dividida por tratamento em sub amostras com 4

repetições, totalizando 16 unidades experimentais, cada uma com 60 g. Assim as amostras foram submetidas a extração de óleo essencial no Laboratório de Fitoquímica da UFRB, de acordo com a metodologia de Santos et al. (2004), onde utilizou-se o aparelho extrator do tipo Clevenger, com o método de arraste a vapor. Para calcular o rendimento de óleo essencial (ROE) foi utilizada a metodologia de Gurgel (2009) apresentando a seguinte equação:

$$R(\%) = V_{\text{Óleo}} \times 100 / P$$

onde “V” é igual volume de óleo essencial coletado na coluna graduada do aparelho e “P” ao massa das amostras utilizadas para a extração.

Análise Estatística

Os dados de ALT foram submetidos ao teste de médias e regressão linear Turkey e os dados de MFPA, MSPA e ROE foram submetidos aos testes de média, teste de turkey e análise de variância pelo programa computacional de sistemas R (R CORE TEAM, 2015).

RESULTADOS

Primeiro Ciclo de Produção das Plantas de *M. spicata* L

Analisando a altura das plantas, observa-se que o tratamento que promoveu um maior crescimento das plantas foi o homeopatia + fungo, onde foi utilizada a homeopatia *Carbo vegetabilis* 5CH e a inoculação com suspensão do fungo TCS81. Esse tratamento apresentou maiores médias em grande parte das avaliações de altura, seguido do tratamento onde foi feita a aplicação dos medicamentos homeopáticos (Figura 1).

Dentro dos parâmetros fitotécnicos avaliados foi possível observar que para as variáveis avaliadas massa fresca da parte aérea e rendimento do óleo essencial das plantas de *Mentha spicata* L. os tratamentos não causaram diferenças estatísticas, enquanto que o tratamento Fungo + Homeopatia causou aumento de massa seca da parte aérea (Tabela 2).

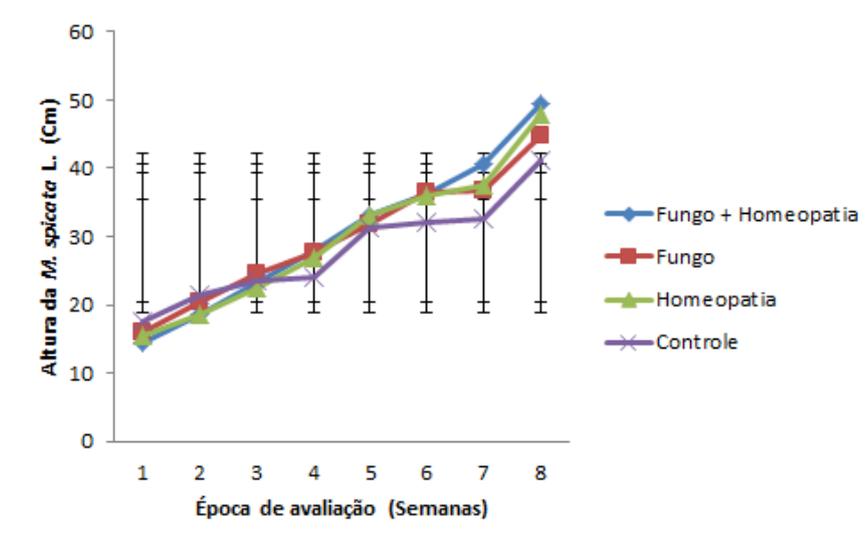


Figura 1: Altura das plantas de *Mentha spicata* L. em função das épocas em intervalos de 7 dias.

Tabela 2: Dados de massa seca da parte aerea (MSP), massa fresca da parte aerea (MFP) e Rendimento de óleo essencial (ROE) de plantas de *M. Spicata* L. submetidas ao tratamento homeopático e a inoculações com *Trichoderma* (TCS80).

| Tratamentos | MFP (g) | MSP (g) | Rendimento de óleo essencial (%) |
|--------------------|---------|---------|----------------------------------|
| H+F | 59.02 a | 9.13 a | 0.70 a |
| F | 54.98 a | 7.77 b | 0.70 a |
| H | 52.52 a | 6.80 b | 1.10 a |
| C | 56.20 a | 7.48 b | 1.10 a |
| Cv (%) | 18.00 | 30.52 | 24.00 |
| Média Geral | 56.68 | 7.79 | 0.90 |

Teste de Tukey a 5% de significância. Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si pelo teste F. Tratamentos: *Carbo vegetabilis* + TCS81 (H+F); TCS81 (F); *Carbo vegetabilis* (H); Controle (C).

Segundo ciclo de produção de *M. spicata* L.

No segundo ciclo de aplicação dos tratamentos, foi observado que para a altura das plantas entre a segunda e quarta semana de avaliação o tratamento H+F apresentou maior média na segunda e terceira semana com 17,58 e 21,71 cm respectivamente e na quarta semana diferiu apenas do tratamento F que reduziu o crescimento da planta com média de 24,32 cm.

No entanto entre a quinta e a última semana, os tratamentos com TCS81 + Homeopatia e Homeopatia não diferiram estatisticamente entre si e apresentaram um

maior crescimento das plantas de *M. spicata* L. em relação aos demais tratamentos, onde na última semana de avaliação as plantas atingiram altura de 50,05 cm para o tratamento TC81 + Homeopatia e 41,61 cm para o tratamento homeopatia como é possível observar no gráfico de regressão linear da figura 2.

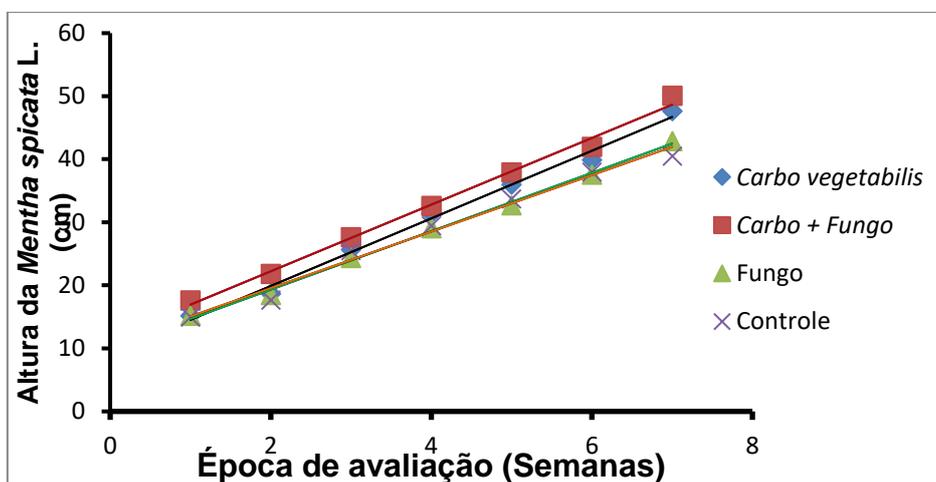


Figura 2: Altura das plantas de *M. spicata* L. em função das épocas em intervalos de 7 dias.

Tabela 3: Equação da avaliação altura, análise de regressão linear

| TRATAMENTO | EQUAÇÃO | R ² |
|------------------------------|---------------------------|----------------|
| Controle | $y = 4,480x + 10,59^{**}$ | 0,983 |
| Carbo + Fungo | $y = 5,285x + 11,65^{**}$ | 0,994 |
| <i>Carbo vegetabilis</i> 5CH | $y = 5,361x + 9,17^{**}$ | 0,990 |
| Fungo | $y = 4,632x + 10,04^{**}$ | 0,996 |

**Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

No que se refere à massa fresca da parte aérea das plantas tratadas com *Carbo vegetabilis* 5CH (H) houve um incremento de massa, quando comparada aos demais tratamentos, indicando maior quantidade de água. No entanto para a massa seca da parte aérea foi verificada maior massa em plantas tratadas com o fungo TCS81 + *Carbo vegetabilis* 5CH (H+F), o que indica maior quantidade de carbono. Nas plantas que receberam a inoculação somente com o fungo TCS81 (F) houve uma redução da massa quando comparada aos demais tratamentos (Tabela 4).

Tabela 4: Valores médios da massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), em gramas e rendimento de óleo essencial (ROE) de *M. spicata* L. em função dos tratamentos, obtidas após a colheita. Cruz das Almas. BA, 2019.

| TRATAMENTOS | MFPA (g) | MSPA (g) | ROE |
|--------------------|----------|----------|--------|
| H+F | 24,00 b | 6,69 a | 1,03 b |
| H | 27,04 a | 4,93 b | 0,95 b |
| F | 21,83 b | 4,21 c | 1,51 a |
| CONTR | 23,90 b | 5,37 b | 0,8 b |
| Média Geral | 24.21 | 5.30 | 1.07 |
| CV(%) | 21,81 | 23,37 | 22,77 |

**Médias seguidas da mesma letra não diferiram entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. *Tratamentos: *Carbo vegetabilis* + TCS81 (H+F); TCS81 (F); *Carbo vegetabilis* (H); Controle (CONTR).

No rendimento de óleo essencial foi observado que o tratamento com a inoculação do TCS81 promoveu maior rendimento de óleo essencial em 1,51% (Tabela 4). Indicando que a associação do micro-organismo com a planta influenciou na síntese de metabólito secundário de plantas de *M. spicata* L.

DISCUSSÃO

Quando comparamos os resultados de crescimento das plantas de hortelã durante os dois ciclos de produção, é possível observar que nos tratamentos onde a homeopatia está associada à inoculação do fungo *Trichoderma asperellum*, as plantas apresentaram um maior crescimento, assim como nas plantas em que foi utilizado apenas o medicamento homeopático *Carbo vegetabilis* 5CH, indicando que a presença do medicamento homeopático, foi importante para a interação micro-organismo/planta.

A plasticidade fisiológica e anatômica das plantas medicinais pode variar a partir das condições ambientais as quais elas estão inseridas (LETSCHANO E GOSELIN, 1996 apud CAPRA, 2011). Os preparados homeopáticos estimulam os sistemas de defesa e auxiliam na adaptação dos organismos vivos de forma natural (CASALI et al., 2006). Desta forma os medicamentos homeopáticos podem auxiliar o desenvolvimento dos vegetais através de estímulos no metabolismo primário e secundário.

Resultados foram observados por França et al. (2017), quando utilizaram o isolado de *Trichoderma* spp. associados a homeopatia *Carbo vegetabilis* em mudas de tomateiro e observou incremento na massa seca e aumento no crescimento das plantas. Cubillos-

Hinojosa e Mejía (2009) constataram incremento no crescimento de plântulas de maracujá (*Passiflora spp*) após a inoculação com o fungo deste gênero.

De acordo com Lucon (2009), a promoção de crescimento de plantas pela aplicação de isolados de *Trichoderma spp.* foi inicialmente relacionada ao controle de micro-organismos prejudiciais presentes na rizosfera e/ou no solo. Em trabalho realizados por Chagas et al. (2017), verificaram que isolados de *Trichoderma*, são capazes de solubilizar fosfato, e foram eficientes no crescimento em altura das plantas de arroz (*Oryza sativa*).

Estes resultados corroboram com os dados verificados por Tavares (2007) e Rossi et al. (2006) onde o inoculo de *Trichoderma* no cultivo de plantas tem tido resultados promissores na promoção do crescimento, no aumento de massa seca, no aumento da produtividade de frutos e grãos de várias espécies.

Com relação ao parâmetro avaliado MFPA os resultados encontrados neste estudo diferiram dos de Pinto et al. (2014), onde o mesmo utilizou o medicamento homeopático *Carbo vegetabilis* nas dinamizações de 4 CH, 12 CH e 24 CH e observou redução na massa seca da parte aérea e plantas de mangaba (*Hancornia speciosa*). Para a espécie utilizada neste trabalho a homeopatia testada não diferiu significativamente do controle.

Ao observar o rendimento de óleo essencial encontrado neste estudo observa-se que as plantas apresentaram rendimento médio de 1,07 % a partir do segundo ciclo de produção o que está de acordo com os valores apresentados na literatura para o rendimento e teor de óleo essencial da espécie que é em média 1,02 % (LAURINTINO et al., 2019). Sendo que o tratamento onde foi feita a inoculação com fungo do gênero *Trichoderma* apresentou-se acima da média com aumento no rendimento de 1,51%.

O acréscimo no rendimento de óleo essencial pode ser explicado pela correlação entre a síntese de compostos do metabolismo secundário e a defesa química dos vegetais (CARVALHO et al., 2005). O maior acúmulo de óleo essencial pode estar relacionado com a ativação do sistema de defesa das plantas.

Diante dos resultados encontrados é possível inferir que o *Trichoderma* promove a fixação de nutrientes no solo que podem ser mais bem absorvidos pelas plantas, aumentando assim o seu desenvolvimento. Quando associado ao *Carbo vegetabilis* que é composto de carvão vegetal houve um acréscimo nas taxas de crescimento das plantas de *Mentha spicata* L. Por isso esses tratamentos podem ser utilizados na promoção do crescimento dessa espécie na agricultura orgânica.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a inoculação da suspensão do isolado *Trichoderma* TCS81 e o medicamento *Carbo vegetabilis* 5CH são promissores no crescimento e influenciaram na produção de massa fresca e seca das plantas de hortelã e que a utilização o isolado TCS81 promoveu aumento no rendimento de óleo essencial da espécie no segundo ciclo de produção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, B. C. S. O. R; PEREIRA, M. C. Os óleos essenciais no comércio exterior: indicadores do ano de 2015. **Fatec- Educação, Gestão e Tecnologia**, S/L, ano 19, v. 8, ed. 15, p. 1-8, 2019. Disponível em: <https://fatecitapetininga.edu.br>. Acessado em: 28 de Outubro de 2019.

BAHIA, H. F. **Avaliação e seleção de genótipos de mamoneira (*Ricinus communis* L.)**. 2007. 66p. Tese de Doutorado. Dissertação -Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.

CAPRA, R. S. **Efeito de preparados homeopáticos e do ambiente de cultivo na produção de flavonoides e saponinas por plantas de carqueja**. Dissertação apresentada a Universidade Federal de Viçosa para obtenção do título de Magister Scientiae. Viçosa/MG, 2011.

CARVALHO, L. D., CASALI, V. W. D., LISBOA, S. P., SOUZA, M. D., & CECON, P. R. Efeito da homeopatia *Arnica montana*, nas potências centesimais, sobre plantas de Artemísia. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, SP. v 7(3), p. 33-36.

CASALI, V.W.D; CASTRO,D.M; ANDRADE,F.M.C; LISBOA,S.P. **Homeopatia: Bases e Princípios**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 140 p. 2006.

CHAGAS, L. F. B.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; SOARES, L. P.; FIDELIS, R. R. *Trichoderma* na promoção do crescimento vegetal. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, MS, v. 4, n. 3, p. 97-102, jul./set. 2017.

CHAVES,M.P; PEREIRA,R.C.A; CANUTO,K.M; BRITO,E.S; PEREIRA,A.K.B; ZOCCOLO,G. Caracterização dos Óleos Essenciais de Plantas Mediciniais e Aromáticas Cultivadas no Horto da Embrapa Agroindústria Tropical. 31 p. (**Boletim de pesquisa e desenvolvimento** / Embrapa Agroindústria Tropical, ISSN 1679-6543; 151). Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2017.

COSTA,F;LOURENÇO,N.T; MORAIS,T.A.N; SILVA,V.R.N; CARVALHO,A.C.C.G; GHELLER,A.C.G.V. Desenvolvimento da alface (*Lactuca sativa* L.) com tratamento homeopático. **Facider Revista Científica**. ISSN 2316-5081. Colider, nº 11, 2018.

CUBILLOS-HINOJOSA, J. ; MEJÍA, N. V. L. *Trichoderma harzianum* como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener). **Agronomía Colombiana**, [S.L]. v 27, nº. 1, p. 81-86, 2009.

Farmacopéia Homeopática Brasileira. 3. Ed. Atheneu, São Paulo, 2011.

FIGUEIREDO, A. C; PEDRO, L, G.; BARROSO, J, G. Plantas aromáticas e medicinais- óleos essenciais e voláteis. **Revista da APH**,[S.L], v. 114, p. 30, 2014.

FRANÇA, D. V. C.; KUPPER, K. C.; MAGRI, M. M. R.; GOMES, T. M.; ROSSI, F. *Trichoderma* spp. isolates with potential of phosphate solubilization and growth promotion in cherry tomato. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 47, ed. 4, p. 360-368, 2017. ISSN 1983-4063. Disponível em: www.agro.ufg.br/pa. Acessado em: 12 de setembro de 2019.

GOBBO-NETO, L; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**,[S.L], v. 30, n. 2, p. 374, 2007.

GURGEL, E.S.C. **Morfo-anatomia, perfil químico e atividade alelopática de três espécies de *Copaifera l. (Leguminosae caesalpinoideae) nativas da Amazônia***. 2009. 15p. Tese (Doutorado em Botânica). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA. Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Manaus, 2009.

JASKI, J. M; TELAXKA, J,F; SCHEFFER,D; FRANZENER,G; MOURA,G.S. Efeito de preparados homeopáticos de *Eucalyptus citriodora* e *Eucalyptus globulus* sobre a germinação de sementes de feijão. **Cadernos de Agroecologia**,[S.L] v. 10, n. 3, 2016.

JÚNIOR, H. P. L.; LEMOS, A. L. A. Hortelã. **Diagn Tratamento**.115-7p. [S.L]. 2012.

LAURINTINO, T. K. S; LAURINTINO, T. N. S; BOLZAN, A. Obtaining by supercritical extraction of *Mentha spicata* L. extract. **Brazilian Journal of Development**,[S.L], v. 5, n. 8, p. 12004-12009, 2019.

LOURENZANI, A. E. B. S.; LOURENZANI, W. L; BATALHA, M. O. Barreiras e oportunidades na comercialização de plantas medicinais provenientes da agricultura familiar. **Informações Econômicas**,[S.L], v. 34, n. 3, p. 15-25, 2004.

LUCON, C. M. M. **Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma spp.*** 2009. Artigo Disponível em:<http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/trichoderma/index.htm>. Acessado em: 13 de Agosto de 2018.

MARTINS, M. B. G.; MARTINS, A. R. Caracterização histológica de folhas de *Mentha pulegium x spicata* (Lamiaceae). **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 5, n. 2, p. 33 – 39, 2003.

MEYER-WARNOD, B. Natural essential oils: extraction processes and application to some major oils. **Perfumer & Flavorist**, [S.L], v. 9, p. 93–104, 1984.

MODOLON, T. A; PIETROWSKI, V; ALVES, L. F. A.; GUIMARÃES A. T. B. Desenvolvimento inicial do milho tratado com o preparado homeopático *Nux vomica* e submetido ao percevejo barriga-verde *Dichelops melacanthus* Dallas (Heteroptera: Pentatomidae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, [S.L.], v. 11, n. 2 Junho de 2016. ISSN 1980-9735. Disponível em: <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/rbagroecologia/article/view/15968>. Acessado em: 10 de novembro de 2019.

PINTO, R. J; MAPELI, N. C; CREMON, C; SILVA, E. F. (2014). Germinação e crescimento inicial de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) em função de preparados homeopáticos *Carbo vegetabilis* e dias após o despolpamento para semeadura. **Agrarian**, 7(24), [S.L], 244-250.

ROSSI, F; MELO, P. C. T.; AMBROSANO, E. J; GUIRAÃO, N.; SCHAMINASS, E. A. Aplicação do medicamento homeopático *Carbo vegetabilis* e desenvolvimento das mudas de alface. **Artigo original**, Piracicaba, SP, v.00, p.111-222, (2006). Disponível em: <<http://www.highdilution.org/index.php/ijhdr/article/download/173/177>>. Acessado em: 14 de março de 2018.

SANTOS,A,S; ALVES,S,M; FIGUÊREDO,C,J,F; NETO,R,G,O. Descrição de Sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa

em laboratório. **Ministerio da agricultura pecuária de abastecimento**. Belém, Pará, 2004.

SERRA, L. Z; DOS SANTOS, G. A.; BRENZAN, M. A. Influência do cultivo na produção de biomassa, teor e composição do óleo essencial de *Mentha spicata*. **Revista de Saúde e Biologia (SasBio)**, v. 8, n. 3, 2013.

SOUZA, L.S.S. **Uso de *Trichoderma spp.* e materiais orgânicos como estratégias para o controle do mal-do-panamá**. 162 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Bahia, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal** (Vol. 10). Universitat Jaume I. (2006).

TAVARES, C. N. **Efeito da inoculação do fungo *Trichoderma harzianum* rifai no desenvolvimento de uma variedade do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Goiania- GO 2007. Disponível em: < <http://livros01.livrosgratis.com.br/cp043118.pdf> >. Acessado em: 13 de Março de 2018.

VIVAN, G. A. V; BARBOZA, F. S. B; LUZ, M. L. G. S. L; LUZ, C. A. S. L; PEREIRA-RAMIREZ O; GOMES, M. C; SOARES, F. C. Estudo técnico e econômico de um sistema móvel de extração de óleo essencial de eucalipto. **Cerne**, v. 17, n. 1, p. 23-31, 2015.

CAPÍTULO II

Potencial antimicrobiano de diferentes tratamentos com óleo essencial de *Mentha spicata* L. sobre o fungo *Aspergillus welwitschiae*

INTRODUÇÃO

Óleos essenciais são produtos sintetizados no metabolismo secundário dos vegetais, que contém uma grande diversidade de compostos com diferentes tipos de comportamentos e polaridades (MIRANDA et al., 2016). Esses compostos apresentam uma ampla atividade antioxidante, antimicrobiana e podem ser utilizados como inseticidas naturais (ANDRADE et al., 2013; STIEVEN et al., 2018). Dentre os diversos vegetais produtores de óleo essencial encontra-se o gênero *Mentha* que possuem óleo com diferentes compostos químicos e por isso são bastante explorados comercialmente (DESCHAMPS et al., 2008).

Os compostos da espécie *Mentha spicata* L. possuem atividade antimicrobiana contra diversos microrganismos, dentre eles *Candida* sp. (ABRANTES et al., 2013), atuando também efetivos na inibição do crescimento de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Cryptococcus neoformans* (ROCHA et al., 2014) e por isso são bastante estudados para tratamento em humanos e como ferramenta de controle biológico em vegetais.

A alta atividade biológica de produtos provenientes do metabolismo secundário de vegetais permite que possam ser utilizados como uma forma de controle de fitopatógenos (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000). O gênero *Aspergillus* atinge várias áreas de pesquisa, pois estão adaptados para crescer em uma faixa ampla de temperatura os fungos deste gênero possuem esporos resistentes à luz e a substâncias químicas, portanto conseguem competir com outros gêneros e apresentam difícil controle (VON HERTWIG, 2015). Logo, é importante a descoberta de compostos bioativos que tenham potencial fungitóxico para espécies deste gênero.

Aspergillus welwitschiae compõem um grupo de fungos filamentosos que se apresenta como fitopatógenos de diversas espécies, por exemplo: uvas, grãos de café, cebola, castanha do Brasil e frutas secas (MASSI et al., 2016). São confundidos com o *Aspergillus Niger* por serem morfológicamente indistinguíveis (SUSCA et al., 2016). Por isso acreditava-se que *A. niger* era o causador da podridão vermelha do sisal e

atualmente *A. welwitschiae* foi identificado como o causador da podridão vermelha do sisal, que é uma doença que afeta o caule da *Agave sisalana*, provocando o apodrecimento e ocasionando a senescência e morte do vegetal (DUARTE et al., 2018).

A. sisalana conhecida popularmente como sisal, é uma espécie de clima tropical, que se desenvolve com facilidade em solos de regiões semiáridas, bastante resistente à seca e por isso possui um potencial produtivo e econômico para uso em regiões com baixa pluviosidade, atualmente está ocorrendo o decréscimo no cultivo dessa cultura devido à atuação do fitopatógeno *A. welwitschiae* (CARNEIRO et al., 2014), o que demonstra a necessidade de tecnologias de controle dessa espécie de fungo.

O sisal é uma espécie extensamente cultivada na região Nordeste do Brasil, onde sua exploração se dá através da obtenção da fibra dura que é comercializada em grande escala, sendo o Brasil o maior exportador mundial dessa fibra, possuindo um grande potencial para a utilização nas indústrias farmacêutica e alimentícia (APOLINÁRIO et al., 2017). A espécie possui enorme relevância para a agricultura familiar no semiárido brasileiro.

A partir deste contexto, estudos passaram a ser desenvolvidos em busca de substâncias capazes de atuar no controle da podridão vermelha do sisal. A capacidade de um produto do metabolismo secundário vegetal ser antimicrobiano pode ser analisada através da determinação da menor concentração do produto que limite o crescimento visível do microrganismo-teste, este valor é conhecido como concentração mínima inibitória (MIC), (OSTROSKY et al., 2008). Dentre as técnicas utilizadas para o teste de MIC está a técnica de microdiluição que foi desenvolvida por Elloff em 1998 e é utilizada até hoje (ARAUJO et al., 2018).

A maioria dos óleos essenciais possui algum grau de atividade antimicrobiana o que depende da sua composição química, que pode sofrer alteração qualitativa e quantitativa a depender de diversos fatores, dentre eles clima, manejo e colheita das espécies (MAIA et al., 2015). O óleo essencial de *Mentha spicata* L. possui atividade fungicida e bactericida para diversos microrganismos (MATOS et al., 2009; BARROS, 2017).

Existem hoje várias tecnologias para utilização na agricultura orgânica, dentre elas a incorporação de microrganismos no solo e a homeopatia, porém são poucos os estudos sobre a influência desses mecanismos no metabolismo secundário de plantas. Com este estudo objetivou-se verificar o potencial antimicrobiano do óleo essencial de plantas de *Mentha spicata* L. tratadas com a homeopatia *Carbo vegetabilis* 5CH e inoculação de *Trichoderma asperellum* (TCS81), sobre o fungo *Aspergillus welwitschiae*.

METODOLOGIA

Este estudo foi realizado no laboratório de Fitoquímica na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia que está localizada no município de Cruz das Almas. Para tal foi utilizado óleo essencial de *Mentha spicata* L. As plantas de *M. spicata* L. foram cultivadas em casa de vegetação localizada na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

Os substratos utilizados no cultivo das mudas foram: solo autoclavado, esterco bovino curtido (proporção 3:1) e palha de bananeira triturada (10 g). As mudas foram reproduzidas por estaquias e colocadas em sacos de polietileno com capacidade para 2 kg. As plantas receberam aplicações do medicamento homeopático *Carbo vegetabilis* 5CH a cada 7 dias e inoculações com fungo do gênero *Trichoderma* a cada 30 dias, as plantas controle receberam apenas água destilada. As mudas foram regadas 3 vezes ao dia, durante 10 minutos por meio de sprinklers automatizados existentes na casa de vegetação.

O medicamento homeopático utilizado foi comprado em estabelecimento comercial idôneo e a dinamização foi preparada de acordo com as normas descritas na Farmacopéia Homeopática Brasileira (2011). O medicamento *Carbo vegetabilis* 5 CH foi aplicado no substrato com auxílio de um copo do tipo Becker com capacidade de 100 mL, a mesma quantidade utilizada durante as aplicações. Para a inoculação do isolado de *Trichoderma asperellum* (TCS81) foi utilizado um micropipetador onde foram pipetados 10.000 µL da solução de esporos ajustada a concentração de 10⁶ esporos / mL. A inoculação foi realizada diretamente no substrato utilizado.

Tabela 7: Tratamentos utilizados durante a produção de *Mentha spicata* L. em estufa localizada na fazenda experimental da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

| TRATAMENTOS | |
|--------------------|--------------------------------------|
| T1 | <i>Carbo vegetabilis</i> 5CH + TCS81 |
| T2 | <i>Carbo vegetabilis</i> 5CH |
| T3 | TCS 81 |
| CONTROLE | Água destilada |

Com 120 dias após o plantio foi realizada a colheita das plantas e a massa fresca foi submetida á secagem em estufa de circulação forçada, a 30 °C até obter massa

constante. Para cada tratamento foram obtidos 4 repetições de óleo essencial totalizando 16 unidades experimentais. O óleo essencial foi extraído das plantas através da técnica de hidrodestilação, por arraste a vapor, em aparelho do tipo Clevenger de acordo com a metodologia de Santos et al., (2004) e para tal foram utilizadas a massa seca da parte aérea das plantas.

Após a extração, o óleo essencial foi armazenado em vasos de vidro com capacidade de 1mL, hermeticamente fechados e armazenados em freezer ao abrigo da luz para posterior análise. Devido a pequena quantidade de óleo essencial por repetição, as repetições de cada tratamento foram acondicionadas em um único recipiente, obtendo-se 4 tratamentos. Esse material foi utilizado para a verificação do potencial antimicrobiano, as amostras do óleo essencial de *M. spicata* L. foram avaliadas através do teste de concentração mínima inibitória, sob efeito no fungo *Aspergillus welwitschiae*

Determinação do Potencial Antimicrobiano

Obtenção dos Isolados:

O isolado de *Aspergillus welwitschiae* foi obtido da coleção de culturas do Laboratório de Microbiologia Agrícola do CCAAB/UFRB. Cada isolado foi repicado em placas de Petri contendo meio de cultivo batata dextrose ágar (BDA), e mantido por 7 dias à temperatura de $\pm 28^{\circ}\text{C}$ para crescimento da colônia e posterior utilização nos ensaios.

Ensaio Antifúngico

Concentração Inibitória Mínima (MIC)

A princípio foi preparada a solução matriz do óleo essencial na concentração de 320 mg/ μl diluído em Tween 20 (10%), para cada um dos tratamentos utilizados e o controle, 40 mL da suspensão de esporos fúngicos na concentração de 10^6 conídios/ mL^{-1} , e como controle positivo ciclopirox de olamina 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ em água destilada esterelizada .

Cada solução foi distribuída, em triplicata, na primeira fileira da placa de Elisa contendo 96 micropoços, com meio de cultivo batata-dextrose (BD), além do controle positivo, foi feito controle negativo, formado por meio BD, sendo realizadas 4 repetições da placa de titulação, com delineamento inteiramente ao acaso. A amostra do

óleo essencial foi testada quanto à inibição do crescimento micelial dos isolados através das técnicas de microdiluição em caldo padronizadas pelo NCCLS (ELOFF 1998; KUSUCU et al., 2004).

Antes de se iniciar as análises as placas de titulação foram purificadas, sendo lavadas em água corrente, imersas em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) durante 20 minutos, e borrifadas com álcool etílico 70%, após secas foram esterilizadas em câmara de fluxo laminar, por 30 minutos sob luz ultravioleta. Após purificação das placas, foram adicionados 100 µl de meio BD a todos os micropoços, posteriormente foram adicionados 100 µl do óleo essencial nos 3 primeiros micropoços da linha A, seguidos de homogeneização e microdiluição seriada com o auxílio de micropipetas de alta precisão, nos três primeiros micropoços das linhas B, C, D e E, sendo estes 100 µl restantes, descartados.

Para os demais tratamentos foi utilizado o mesmo método supracitado, onde foi feita a diluição entre as demais linhas e colunas obedecendo ao mesmo padrão de triplicatas de acordo com os tratamentos utilizados nas plantas de *Mentha spicata* L., para cada concentração testada de seu óleo essencial. Ao final foram inseridos 100µl da solução fungíca, em todos os micropoços das placas de titulação, com exceção dos três primeiros micropoços das linhas F, G e H, pois correspondiam ao controle negativo do fungo. A concentração final do óleo e controle diluente foi de: 5,0 ; 2,5 ; 1,25 ; 0,625 e 0,312 ml/mL⁻¹ como mostra a figura 3. Tais concentrações foram selecionadas a partir de revisão bibliográfica e testadas em pré-testes.

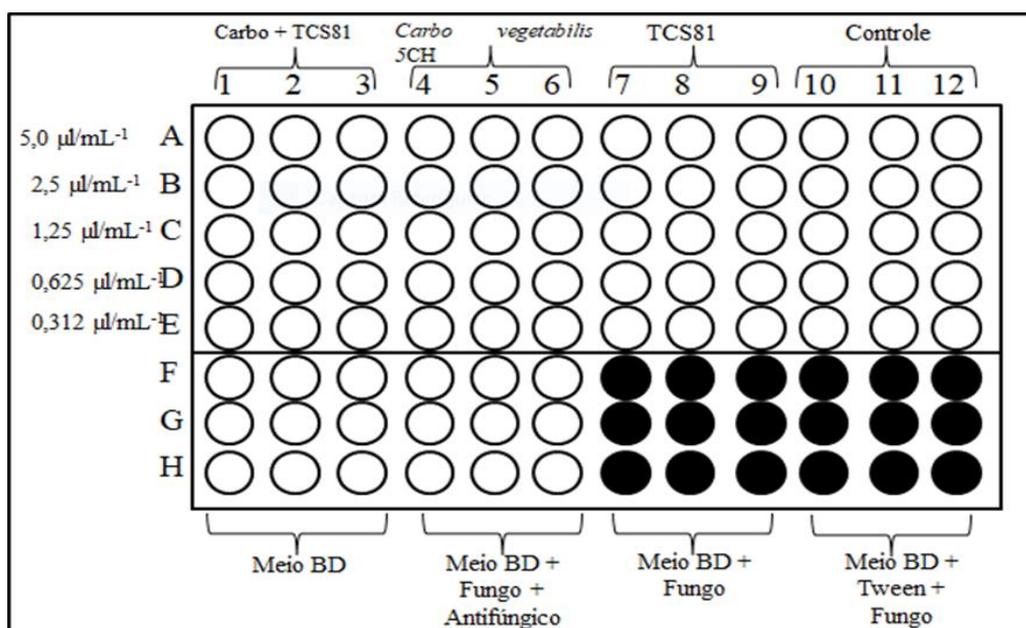


Figura 3: Disposição dos tratamentos na placa de Elisa contendo o meio de cultivo BD, preparada para o teste de concentração mínima inibitória.

Efeito Fungicida/Fungistático

O efeito fungicida/fungistático do óleo essencial de *M. spicata* L. sob o fungo *A. welwitschiae*. Para tal as placas foram esterilizadas, lavadas e autoclavadas, após secas foram colocadas em câmara de fluxo laminar, por 10 minutos sob luz ultravioleta. Após esterilização as placas foram divididas em 4 quadrantes para avaliação da inibição do crescimento micelial do fungo, foram vertidos na placa meio batata dextrose ágar (BDA), esterilizado. Em seguida foram pipetados 100µL das amostras resultantes do teste de MIC (Mínima concentração inibitória) e adicionada uma gota em cada quadrante das placas de Petri. As placas foram vedadas com filme PVC e incubadas em estufa tipo B.O.D. por 72 horas a 28°C.

Análise dos Dados

Para o teste de concentração inibitória mínima (MIC), a análise foi realizada por meio da observação visual do crescimento do microrganismo nos micropoços das placas de Elisa comparando os resultados dos tratamentos ao controle positivo. Para análise do teste *in vitro* do efeito fungicida/fungistático do óleo essencial de *M. spicata* L. sob o fungo *A. welwitschiae*, foi analisada a presença ou ausência do crescimento micelial do fungo nas placas de Petri.

RESULTADOS

De acordo com os resultados obtidos neste estudo o óleo essencial da *M. spicata* L. tratada com medicamento homeopático e inoculada com *T. asperellum* (TCS81) não apresentam efeitos na redução do crescimento micelial do fungo *A. welwitschiae*, no entanto o óleo essencial das plantas controle, ou seja, que não receberam a aplicação dos tratamentos, o óleo essencial teve concentração mínima inibitória de 2,5 µL/mL⁻¹, como é possível observar na tabela 8.

Tabela 8: Resultados do teste de concentração mínima inibitória (MiC), do óleo essencial de *M. spicata* L. tratados com *Carbo vegetabilis* 5CH e inoculação de *T. asperellum* (TCS81), sob o fungo *A. welwitschiae*, Cruz das Almas, Ba.

| Concentrações (ml/mL ⁻¹) | T1 | T2 | T3 | Controle |
|---|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 5,0 | Crescimento | Crescimento | Crescimento | Não cresceu |
| 2,5 | Crescimento | Crescimento | Crescimento | Não cresceu |
| 1,25 | Crescimento | Crescimento | Crescimento | Crescimento |
| 0,625 | Crescimento | Crescimento | Crescimento | Crescimento |
| 0,312 | Crescimento | Crescimento | Crescimento | Crescimento |

T1 (*Carbo vegetabilis* 5CH + TCS81); T2 (*Carbo vegetabilis* 5CH); T3 (TCS81); Controle

Quanto ao potencial fungicida/fungistático testado no óleo essencial do controle nas concentrações de 2,5 e 5,0 $\mu\text{L}/\text{mL}^{-1}$ o óleo essencial da *M. spicata* L. apresentou-se como fungistático, pois ao ser inoculado em meio de cultura BDA houve crescimento micelial do fungo *A. welwitschiae* nas concentrações de 5,0 e 2,5 $\mu\text{L}/\text{mL}^{-1}$, como mostra a figura 4. De acordo com esses resultados é possível observar que o dos tratamentos com *Carbo vegetabilis* 5CH e *T. asperellum*, influenciaram na composição química do óleo essencial da *M. spicata* L. pois, apenas o tratamento controle inibiu o crescimento micelial.

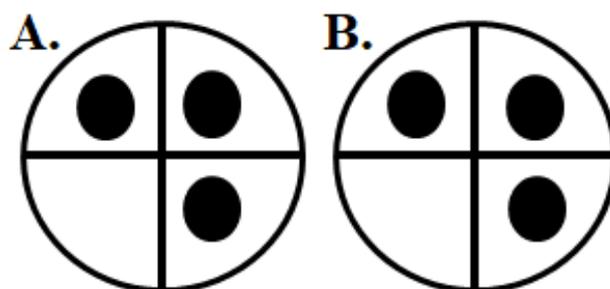


Figura 4: Crescimento micelial observado 72 horas após inoculação dos fungos na placa de Petri. Placa A corresponde a concentração de 5,0 $\mu\text{L}/\text{mL}^{-1}$ de óleo essencial e placa B corresponde a 2,5 $\mu\text{L}/\text{mL}^{-1}$ do óleo essencial, ambos do tratamento controle.

DISCUSSÃO

Os óleos essenciais são misturas complexas que tem como principal característica a volatilidade, além disso possuem composição química bastante diversificada, destacando-se a presença de terpenos e fenilpropanóides e por causa da diversidade de compostos encontrados nos mesmos, eles podem ter características antimicrobianas (OLIVEIRA et al., 2011; FIGUEREDO et al., 2017).

A atividade antimicrobiana de um óleo essencial se dá através da sua característica lipofílica que permite a sua atuação na estrutura da parede celular do microrganismo, desnaturando e coagulando proteínas, isso porque o óleo essencial

altera a permeabilidade da membrana citoplasmática interrompendo os processos vitais da célula (GNATTA et al., 2016). Porém a composição química de um óleo essencial pode variar de acordo com a variabilidade genética das espécies, o habitat, manejo e adubação (SANTOS, 2011).

O óleo essencial de *Mentha* apresentou atividade antimicrobiana inibindo o crescimento micelial do patógeno *Pyricularia oryzae* (SARMENTO-BRUM et al., 2014). Outros autores também verificaram efeito fungitóxico do óleo essencial de espécies deste gênero sobre *Colletotrichum gloeosporoides*, *Candida Albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Cryptococcus neoformans* (ABRANTES et al., 2013;ROCHA et al., 2014). O que corrobora com os resultados encontrados neste estudo onde o óleo essencial de *M. spicata* L. inibiu o crescimento micelial do microrganismo *A. welwitschiae*.

A utilização do medicamento homeopático *Carbo vegetabilis*, possivelmente alterou a composição química do óleo essencial da espécie supracitada uma vez que o tratamento com óleo essencial das plantas tratadas apresentou resposta antimicrobiana diferente ao das plantas não tratadas. Isso pode ser respondido por Sampaio (2019) que observou que a interação entre medicamentos homeopáticos e a planta medicinal *Ocimum gratissimum* aumentou o teor de óleo essencial bem como alterou a quantidade de compostos químicos do mesmo.

Para *Trichoderma* não foram encontrados estudos sob sua influência na síntese de produtos do metabolismo secundário de plantas, no entanto a utilização de fungos deste gênero têm sido relacionada a produção de hormônios, fatores de crescimento, disponibilização e aumento da absorção de nutrientes para plantas (MACHADO et al., 2012). Uma vez que os metabólitos secundários podem sofrer alterações a partir das modificações no metabolismo primário das plantas, o uso do microrganismo pode alterar a composição química de óleos essenciais.

CONCLUSÃO

Conclui-se que óleo essencial de *Mentha spicata* L. promoveu a redução do crescimento micelial de *A. welwitschiae* e que os tratamentos utilizados, *Carbo vegetabilis* 5CH, *T. asperellum* não inibiram o crescimento micelial do fungo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRANTES, M. R; OLIVEIRA LIMA, E; ARAÚJO, M; MEDEIROS, P; MENEZES, C. P; SARMENTO, F. Q. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre leveduras *Candida não albicans*. **Revista Brasileira de Farmacia**. V. 94 (3): 227 – 233p, 2013.

ANDRADE, M. A; CARDOSO, G. M; SILVA, L; TEXEIRA, M; VALÉRIO, R. J. M; SILVA, F. A. C; BARROSO, J. G. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from *Cinnamodendron dinisii* Schwacke and *Siparuna guianensis* Aublet. **Antioxidants**, Basel, v. 2, n. 4, p. 384-397, 2013.

APOLINÁRIO, A. C; DE CARVALHO, E. M; DE LIMA D, B. P. G; DA SILVA, P. C. D.; CONVERTI, A.; PESSOA, A; DA SILVA, J. A. (2017). Extraction, isolation and characterization of inulin from *Agave sisalana* boles. **Industrial Crops and Products**, nº 108, 355–362 p. Doi:10.1016/j.indcrop.2017.06.045.

ARAÚJO, L. L. N. **Características morfofisiológicas, produção e composição de óleo essencial em folhas de *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd- Lamiaceae cultivada em diferentes níveis de sombreamento**. 2014. 81 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

BARROS, B. S. **Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de *Mentha piperita* L.(hortelã-pimenta) sobre cepas de *Candida albicans***. 2017. 40 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Farmácia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB, 2017.

CARNEIRO, S. F; QUEIROZ, S. R. D. O. D; PASSOS, A. R; NASCIMENTO, M. N; SANTOS, K. S. Embriogênese somática em *Agave sisalana* Perrine: Indução, caracterização anatômica e regeneração. **Pesquisa Agropecuária Tropical (Agricultural Research in the Tropics)** [S.L], 10-1590 p, 2014.

CRUZ, I. ; VALICENTE, F. H. Controle biológico. **Embrapa Milho e Sorgo**, 2015

DESCHAMPS, C. ; ZANATTA, J. L; BIZZO, H. R. ; OLIVEIRA, M.C. ; ROSWALKA, L. C. Avaliação sazonal do rendimento de óleo essencial em 725 espécies de *Menta*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, ed. 3, p. 725-730, 2008.

DUARTE, E. A. A; DAMASCENO, C.L; OLIVEIRA, T.A.S; BARBOSA,L.O; MARTINS,F.M; SILVA,J.R.Q; LIMA,T.E.F; SILVA,R.M; KATO,R.B; BORTOLINI,D.E; AZEVEDO,V; GÓES-NETO,A; SOARES,A.C.F. Putting the Mess in Order: *Aspergillus welwitschiae* (and Not *A. niger*) Is the Etiological Agent of Sisal Bole Rot Disease in Brazil. **Frontiers In Microbiology**, [S.L], v. 9, 11 jun. 2017.

ELOFF, J. N. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. **Planta Médica**,[S.L] v. 64, n. 08, p. 711-713, 1998.

FIGUEIREDO, A. C; PEDRO, L. G.; BARROSO, J. G. Voláteis e óleos essenciais. Parte I/II. **Agrotec**,[S.L] v. 24, p. 14-17, 2017.

GNATTA, J. R.; KUREBAYASHI, L. F. S; TURRINI, R. N. T; SILVA, M. J. P. Aromaterapia e enfermagem: concepção histórico-teórica. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**. USP, São Paulo, v. 50, n. 1, p. 127-133, Fev. 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo>. Acessado em 10 Nov. 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/S0080-623420160000100017>.

KUSUCU, C.; RAPINO, B.; MCDERMOTT, L.; HADLEY, S. Comparison of the Semisolid Agar Antifungal Susceptibility Test with the NCCLS M38-P Broth Microdilution Test for Screening of Filamentous Fungi. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 42, n. 3, p. 1224, 2004.

MACHADO, D. F. M; PARZIANELLO, F. R; SILVA, A. C. F; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**. [S.L], vol.35, n.1, p.274-288. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.mec.pt/scielo.br>. ISSN 0871-018X. Acessado em 25 de outubro de 2019.

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

MASSI, F. P; SARTORI, D; DE SOUZA F, L; IAMANAKA, B. T; TANIWAKI, M. H; VIEIRA, M. L. C.; FUNGARO, M. H. P. (2016). Prospecting for the incidence of genes involved in ochratoxin and fumonisin biosynthesis in Brazilian strains of *Aspergillus niger* and *Aspergillus welwitschiae*. **International Journal of Food Microbiology**, [S.L], V. 221, p. 19–28. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.01.010.

MATOS, B. M. M; KOMIYAMA, E. Y; BALDUCCI, I; KOGA-ITO, C. Y. Atividade antifúngica do extrato alcoólico de *Mentha piperita* sobre *Candida albicans* e *C. tropicalis*. **Revista de Odontologia da UNESP**, São Paulo, V. 38, n. 4, p. 9-9, 2013.

MIRANDA, A. S. F; CARDOSO, M. G; MILANI, L; RODRIGUES, A; FIGUEIREDO, A. C. S. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista Ciência Agronômica**, Universidade Federal do Ceará, Ceará, Brasil. vol. 47, núm. 1, p. 213-220, 2016.

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**, [S.L], v. 13, n. 1, p. 8-16, 2011.

OSTROSKY, E. A; MIZUMOTO, M. K; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M; NISHIKAWA, S. O; FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S.L], v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

ROCHA, T. J. M; FREITAS, R. C; AZEVEDO, R. R. S; SOUZA, L. I. O; SANTOS, A. F. Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante das espécies *Plectranthus amboinicus* (Lour.) e *Mentha x villosa* (Huds.). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, [S.L], v. 35, n. 1, p. 113-118, 2014.

SAMPAIO, L. A. G. **Homeopatia na germinação, crescimento e produção de óleo essencial em *Ocimum gratissimum* L.** 2019. 80 p. Tese (Doutor em Produção Vegetal.)

- Discente, Ilhéus- Ba, 2019. Disponível em: <http://nbcgib.uesc.br/ppgpv>. Acesso em: 10 nov. 2019.

SANTOS, C. O. **Óleo essencial de *Mentha piperita* L.: Uma breve revisão de literatura**. 2011. 20f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia). Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2011.

SANTOS,A,S; ALVES,S,M; FIGUÊREDO,C,J,F; NETO,R,G,O. Descrição de Sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório. **Ministério da agricultura pecuária de abastecimento**. Belém, Pará. 2004.

SARMENTO-BRUM, R. B. C; DE CASTRO, H. G; SILVA, M. L; SARMENTO, R. A; DO NASCIMENTO, I. R; DOS SANTOS, G. R. (2014). Efeito de óleos vegetais na inibição do crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**.[S.L], v. 5(1),p 63-70, 2014.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F; STANGARLIN, J. R; CRUZ, M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**,[S.L], v. 30, n. 1/2, 2000.

STIEVEN, A. C; DA SILVEIRA, M. J. J; SILVA, C. F. Óleos essenciais de uvaia (*Eugenia pyriformis Cambess*): Avaliação das atividades microbianas e antioxidantes. **Eclética Química Journal**,[S.L], v. 34, n. 3, p. 07-16, 2018.

SUSCA, A; PROCTOR, R. H; MORELLI, M; HAIKOWSKI, M; GALLO, A; LOGRIECO, A. F; MORETTI, A.(2016). Variation in Fumonisin and Ochratoxin Production Associated with Differences in Biosynthetic Gene Content in *Aspergillus niger* and *A. welwitschiae* Isolates from Multiple Crop and Geographic Origins. **Frontiers in Microbiology**.[S.L] v. 7, 2016. doi:10.3389/fmicb.2016.01412. Acessado em 02 de Outubro de 2019.

VON HERTWIG, A. M. ***Aspergillus* toxigênicos em café e cacau: Incidência, produção de micotoxinas e discriminação molecular de espécies de *Aspergillus niger* por PCR em tempo real**. 90 p. (2015). Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP. Disponível em: <<http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/321393>>. Acessado em: 05 Nov. 2019.

CONCLUSÃO GERAL

Conclui-se que os tratamentos com medicamento homeopático e inoculação com *T. asperellum* promoveram maior produtividade das plantas de *M. spicata* L. O tratamento com *T. asperellum* aumentou o rendimento de óleo essencial para a espécie no segundo ciclo de produção e o óleo essencial da *M. spicata* possui potencial para redução do crescimento micelial de *A. welwitschiae*.