

Toxicidade de óleos essenciais de alho e casca de canela contra fungos do grupo *Aspergillus flavus*¹

Elson de C. Viegas; Andréa Soares; Margarida Gorete F. do Carmo; Claudia Antonia V. Rossetto

UFRRJ, Depto. Fitotecnia, C. Postal 74511, 23890-000 Seropédica-RJ; E-mail: cavrosse@ufrj.br

RESUMO

Diante da propriedade inibitória de óleos essenciais vegetais sobre o desenvolvimento micelial de fungos e da importância das espécies do grupo *Aspergillus flavus*, que apresentam potencial para síntese de aflatoxina, este trabalho teve como objetivo avaliar *in vitro* a toxicidade de óleos essenciais vegetais contra fungos do grupo *A. flavus*, isolados a partir da cultura do amendoim. Inicialmente, foi avaliada a toxicidade de oito óleos essenciais vegetais no desenvolvimento micelial de dois isolados do grupo *A. flavus*, em comparação ao fungicida sintético benomyl. Em seguida, foi avaliada a toxicidade dos óleos de casca de canela (*Cinnamomum zeilanicum* Breym.) e de bulbilho de alho (*Allium sativum* L.) contra 37 isolados do grupo *A. flavus*, durante 12 meses. A maior inibição do desenvolvimento micelial de *A. flavus* foi obtida com o emprego dos óleos essenciais de casca de canela e de bulbilho de alho, e o efeito inibitório variou com o isolado testado.

Palavras-chave: *Cinnamomum zeilanicum* Breym., *Allium sativum* L., *Arachis hypogaea* L.

ABSTRACT

Evaluation of essential oils from *Allium sativum* and *Cinnamomum zeilanicum* and their toxicity against fungi of the *Aspergillus flavus* group

Considering the inhibitory property of essential plant oils on the mycelial development of fungi, and the importance of *Aspergillus flavus*-like fungi which may produce aflatoxins, this research was designed to evaluate the toxicity of essential oils against fungi belonging to the group *A. flavus* isolated from peanut crops. The toxicity of eight essential oils against two isolates of *A. Flavus*-like fungi was evaluated in comparison to the synthetic fungicide benomyl. The toxicity of *Cinnamomum zeilanicum* Breym. and *Allium sativum* L. essential oils was also evaluated against 37 fungal isolates for a period of 12 months. The highest inhibition of the mycelial development of *A. flavus* was obtained with cinnamon and garlic essential oils. The inhibitory effect on growth was variable according to the fungal isolate.

Keywords: *Cinnamomum zeilanicum* Breym., *Allium sativum* L., *Arachis hypogaea* L.

(Recebido para publicação em 4 de outubro de 2004 e aceito em 3 de agosto de 2005)

Alguns fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* podem causar problemas no consumo de grãos de amendoim, tanto *in natura* ou quando submetidos à extração de óleos, diminuindo o valor nutricional e podendo produzir micotoxinas, dentre elas as aflatoxinas, sintetizadas principalmente por fungos do grupo *Aspergillus flavus* e que apresentam potencial para causar doenças em animais e em seres humanos (ANGLE et al., 1982; DHINGRA; COELHO NETO, 1998).

Em amendoim, a prevenção da contaminação com aflatoxina tem sido obtida com uso de cultivares resistentes (BASHRA et al., 1994), com a adoção de algumas práticas que controlam a colonização de fungos com potencial aflatoxigênico, tais como calagem (ROSSETTO et al., 2003), secagem (FERNANDEZ et al., 1997) e escolha

do tipo de solo (ANGLE et al., 1982) ou que interferem na biossíntese de aflatoxina (REDING; HARRINSON, 1994), e com procedimentos para a remoção dos grãos contaminados com base em cor e flutuação (DICKENS; WHITAKER, 1975), ou ainda utilizando peróxido de hidrogênio (CLAVERO et al., 1993).

O potencial para controle pós-colheita de fungos do grupo *Aspergillus flavus* tem sido demonstrado empregando-se produtos com propriedades fungitóxicas, principalmente o benomyl (MAEDA et al., 1995; VANZOLINI et al., 2000). A literatura também relata a ação de extratos de alho (*Allium sativum* L.) (BILGRAMI et al. 1992) e de óleos essenciais de capim limão (*Cymbopogon citratus* Stapf) a 3000 ppm em meio BDA (MISHRA; DUKEY, 1994), de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) a 6,0 ml L⁻¹ em

meio Czapek-dox ágar (DUBE et al., 1989), de sementes de cenoura (*Daucus carota* L.) a 3000 ppm (DWIVEDI et al., 1991) e de rizomas de *Nardostachys jatamansi* DC a 1000 ppm em Czapek-dox agar, como eficientes no controle de *A. flavus*. Além destes, Mahmoud (1994) observou que citral, citronela e ulgenol impediram o crescimento de *A. flavus* e a produção de aflatoxina até os oito dias de incubação. Entretanto, após 15 dias, houve incremento da produção de toxinas.

Em relação a outros fungos, Mishra e Dubey (1994) constataram atividade fungitóxica do óleo essencial de capim limão a 1500 ppm em meio BDA sobre fungos dos gêneros *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium* e *Botrytis*. Mishra et al. (1995) verificaram que *Fusarium oxysporum* apresentou inibição de seu crescimento micelial quando submetido ao óleo essencial de rizomas de

¹Parte da Tese de Doutorado apresentada pelo primeiro autor ao Curso de Pós-graduação em Fitotecnia, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Nardostachys jatamansi na concentração de 1000 ppm em meio Czapek-dox ágar.

O objetivo deste trabalho foi avaliar *in vitro* a toxicidade de óleos essenciais vegetais contra fungos do grupo *A. flavus* isolados a partir da cultura do amendoim.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em laboratórios da UFRRJ em 2003, empregando óleos essenciais de diversas plantas, solubilizados em dimetil sulfóxido (DMSO) e em metanol (MeOH), que foram fornecidos pela EMBRAPA/CTAA, após extração pelo método do arraste do vapor, (LANGANAU, 1979) e armazenados em congelador, no período de 1986 a 2001.

Para avaliar a toxicidade dos óleos essenciais no desenvolvimento de fungos do grupo *Aspergillus flavus*, foi utilizado o método da escavação em placas de Petri (MORAIS, 2000) contendo meio BDA (DHINGRA; SINCLAIR, 1995). Primeiramente, foram selecionados dois isolados de fungos do grupo *A. flavus* (T52 e T63), obtidos de sementes de amendoim, no cultivo da seca de 2001, e que estavam armazenados em óleo mineral por seis meses em câmara fria. Para o preparo do inóculo, estes isolados foram incubados em meio BDA a 20°C por sete dias e fotoperíodo de 12 horas. Em seguida foram feitas suspensões de conídios em água esterilizada e a concentração ajustada para 10^7 conídios ml^{-1} , com auxílio de hemacitômetro, conforme testes preliminares.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com três repetições, empregando-se 10 tratamentos, sendo 8 óleos essenciais na dosagem de $2,0 \text{ mg ml}^{-1}$ de solvente, e duas testemunhas, o solvente DMSO na dosagem de $1,0 \text{ mg ml}^{-1}$ de metanol e benomyl na dosagem de $0,2 \text{ mg } 20 \text{ ml}^{-1}$ de água destilada. As dosagens dos óleos essenciais e do fungicida foram selecionadas em testes preliminares. Assim, para cada um dos dois isolados do fungo, foi adicionado $0,1 \text{ ml}$ de suspensão de conídios em cada placa de Petri contendo meio

BDA. Em seguida foram realizados três orifícios de 7 mm com auxílio de cilindro de cobre. Nestes orifícios foram aplicados com auxílio de pipeta automática o óleo essencial, o solvente ou o fungicida sintético, conforme o tratamento. A incubação foi realizada a 20°C e fotoperíodo de 12 horas por sete dias. Após este período a avaliação foi realizada com a medição do diâmetro dos halos de inibição.

Para confirmar os resultados foi repetido o experimento anterior, porém apenas com o isolado T52. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições, empregando-se seis tratamentos, sendo quatro óleos essenciais na dosagem de $2,0 \text{ mg ml}^{-1}$ de solvente, e duas testemunhas, o solvente DMSO na dosagem de $1,0 \text{ mg ml}^{-1}$ de metanol e benomyl na dosagem de $0,2 \text{ mg } 20 \text{ ml}^{-1}$ de água destilada. A ação dos tratamentos sobre o isolado T52 foi avaliada após incubação a 20°C e fotoperíodo de 12 horas por sete dias. Os demais procedimentos foram idênticos ao anterior.

A partir dos resultados observados nos dois ensaios anteriores foi realizado o terceiro ensaio, seguindo-se os mesmos procedimentos, a fim de se confirmar a toxicidade dos óleos de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Breyer) e de alho (*Allium sativum* L.) em relação a diferentes isolados do grupo *Aspergillus flavus*. Para tanto, foi testada a ação dos óleos contra 32 diferentes isolados do fungo, obtidos no cultivo de amendoim no período das águas de 2001. Adotou-se o delineamento em blocos ao acaso, em esquema fatorial 2×32 (duas substâncias e 32 isolados), e três repetições. Por placa, foi adicionado $0,1 \text{ ml}$ de suspensão na concentração de 5.10^7 conídios ml^{-1} de água destilada. Em seguida, foram realizados três orifícios de 7 mm com auxílio de cilindro de cobre. Nestes orifícios foram aplicados com auxílio de pipeta automática, $2,0 \text{ mg}$ de óleo essencial solubilizado em $1,0 \text{ ml}$ de solvente (DMSO + metanol). Após sete dias de incubação a 20°C e fotoperíodo de 12 horas foi realizada a medição do diâmetro dos halos de inibição.

Após 12 meses de armazenamento dos extratos foi repetido o experimento anterior, adotando-se delineamento in-

teiramente casualizado em esquema fatorial 2×5 (dois óleos essenciais, de alho e de canela, e cinco isolados fúngicos obtidos da cultura do amendoim, no cultivo da seca de 2001), com três repetições. Os demais procedimentos foram idênticos ao experimento anterior. Da região central e periférica dos halos de inibição foram retiradas, com auxílio de estilete estéril, três amostras de meio de cultura, que foram repicadas para placas de Petri contendo meio BDA. Após sete dias de incubação a 20°C e fotoperíodo de 12 horas foi realizada a avaliação visual do crescimento do fungo. O efeito do óleo essencial foi considerado “fungistático” quando se observou crescimento do fungo após a repicagem, e “fungicida” quando não houve qualquer crescimento.

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade (Lilliefors) e de homocedasticidade (BARTLEY; COCHRAN) (RIBEIRO JÚNIOR, 2001). Quando não foi observada a homogeneidade da variância, os dados foram transformados para $\log(x)$. Em seguida foram realizadas as análises de variância e teste de Tukey ou Scott-Knott, para comparação das médias, ambos a 5% de probabilidade (PIMENTEL GOMES, 1966). Nas tabelas são apresentadas as médias originais, sem transformação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre os óleos essenciais testados no primeiro teste, constatou-se com base nos diâmetros dos halos de inibição formados que o isolado T63 teve o seu desenvolvimento micelial reduzido de maneira mais acentuada pelos óleos de bulbilho de alho e de casca de canela. Para o isolado T52 constatou-se maior inibição pelos óleos de folhas de sálvia e de casca de canela. No entanto, estes óleos sempre apresentaram eficiência significativamente menor que o padrão fungicida. O óleo de pimenta do reino não inibiu o crescimento micelial de nenhum dos dois isolados, enquanto que os de capim limão e de pimenta longa apresentaram pequena inibição apenas do isolado T52 (Tabela 1).

No segundo teste, quando foram avaliados apenas os óleos de sálvia, alho

Tabela 1. Diâmetros dos halos de inibição (mm) formados em culturas de fungos do grupo *Aspergillus flavus*, isolados de sementes de amendoim no cultivo da seca, em resposta ao emprego de óleos essenciais vegetais, do solvente DMSO+metanol (50% v/v) e do fungicida Benomyl. Seropédica, UFRRJ, 2003.

Nome vulgar	Nome científico	Parte utilizada	Cultura/origem		
			1o teste		2o teste
			T52/semente	T63/semente	T52/semente
Sálvia	<i>Salvia officinalis</i> L.	Folha	11,7b*	0,0c	5,2cd
Alho	<i>Allium sativum</i> L.	bulbilho	4,3bc	11,7bc	8,8bc
Canela	<i>Cinnamomum zeilanicum</i> Breym.	Folha fresca	7,3bc	5,0bc	4,0cd
Canela	<i>Cinnamomum zeilanicum</i> Breym.	Casca	10,3bc	13,0b	13,3b
Capim limão	<i>Cymbopogon citratus</i> Stapf.	Folha	3,7c	0,0c	-
Pimenta da Jamaica	<i>Pimenta officinalis</i>	Fruto	3,3c	0,0c	-
Pimenta do Reino	<i>Piper nigrum</i> L.	Fruto	0,0c	0,0c	-
Gengibre	<i>Zingiber officinale</i> Rox.	Rizoma	3,7bc	3,3bc	-
Solvente	-	-	0,0c	0,0c	0,0d
Benomyl	-	-	35,0a	20,3a	40,0a
C.V.(%)			46,41	37,12	37,05

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade.

e canela, foram confirmados os resultados relacionados à inibição do crescimento do isolado T52 pelos óleos essenciais de casca de canela e de bulbilho de alho (Tabela 1). Os óleos essenciais de alho e de canela possivelmente possuem um princípio ativo com ação fungicida conforme constatado também por Bolkan *et al.* (1981), avaliando a toxicidade de extrato de alho sobre *Fusarium moniliforme* e *Rhizoctonia solani*. Além disso foi constatada toxicidade de extrato de óleo contra *Aspergillus flavus* (BILGRAMI *et al.*, 1992), *Crinipellis perniciosus*, *Phytophthora palmivora* (BASTOS, 1992), *Curvularia* spp., *Alternaria* spp. (BARROS *et al.*, 1995) e *Colletotrichum gloeosporioides* (RIBEIRO; BEDENDO, 1999). Utilizando óleo essencial de alho, Chalfoun e Carvalho (1987) também constataram inibição do crescimento micelial de *Gibberella zeae* (Schw.), *Alternaria zinniae* Pape e *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid.

Foi constatada maior toxicidade do óleo essencial de casca de canela que do de bulbilhos de alho, expressa pelos maiores halos de inibição promovidos pelo primeiro em relação ao segundo para a maioria dos isolados testados (Tabela 2). Foi observada ainda resposta diferencial dos isolados quando à sensibilidade aos dois óleos essenciais testados, detectada pelo teste de Scott-Knott. O óleo essencial de alho promoveu halos de inibição que variaram en-

Tabela 2. Diâmetros dos halos de inibição (mm) formados em culturas de fungos do grupo *Aspergillus flavus* isolados da cultura do amendoim no cultivo das águas, em resposta ao emprego de óleos essenciais de alho e de casca de canela. Seropédica, UFRRJ, 2003.

Culturas	Origem	Extratos	
		Bulbilho de alho	Casca de canela
Y27	Semente	12,0Bc*	22,0Aa
Y82	Semente	12,0Bc	20,0Aa
Y62	Solo	10,0Bd	20,0Aa
Y75	Vagem	9,0Bd	20,0Aa
Y11	Solo	7,0Be	20,0Aa
Y5	Solo	13,0Bb	19,0Aa
Y48	Vagem	12,0Bc	18,0Ab
Y10	Solo	12,0Bc	17,0Ab
Y19	Solo	12,0Bc	17,0Ab
Y8	Solo	11,0Bc	17,0Ab
Y43	Semente	10,0Bd	17,0Ab
Y36	Vagem	10,0Bd	17,0Ab
Y100	Vagem	15,0Aa	16,0Ab
Y67	Solo	12,0Bc	15,0Ac
Y29	Semente	11,0Bc	15,0Ac
Y52	Semente	11,0Bc	15,0Ac
Y59	Solo	11,0Bc	15,0Ac
Y13	Solo	10,0Bd	15,0Ac
Y113	Solo	10,0Bd	15,0Ac
Y12	Solo	10,0Bd	15,0Ac
Y54	Vagem	10,0Bd	15,0Ac
Y128	Semente	7,0Be	15,0Ac
Y66	Solo	12,0Bc	14,0Ac
Y88	Vagem	10,0Bd	14,0Ac
Y50	Vagem	10,0Bd	13,0Ac
Y65	Solo	10,0Bd	13,0Ac
Y111	Solo	12,0Ac	12,0Ad
Y80	Semente	12,0Ac	12,0Ad
Y73	Vagem	11,0Ac	11,0Ad
Y99	Semente	10,0Ad	10,0Ae
Y104	Solo	10,0Ad	10,0Ae
Y130	Semente	7,0Be	10,0Ae
C.V.(%)			2,13

*Médias seguidas da mesma letra (maiúscula na linha e minúscula na coluna) não diferem entre si a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Diâmetros dos halos de inibição (mm) formados em culturas de fungos do grupo *Aspergillus flavus* isolados da cultura do amendoim no cultivo da seca, em resposta ao emprego de óleo de alho e de canela, após 12 meses de armazenamento. Seropédica, UFRRJ, 2003.

Culturas	Origem	Bulbilho de alho	Casca de canela
T ²	Solo	8,0Ba*	20,0Aa
T ²⁰	Semente	8,3Ba	15,8Aab
T ²⁴	Semente	9,5Aa	9,5Ab
T ³⁵	Pericarpo do fruto	12,0Aa	14,6Aab
T ⁵⁵	Pericarpo do fruto	8,0Ba	15,0Aab
C.V.(%)		13,865	

*Médias seguidas da mesma letra (maiúscula na linha e minúscula na coluna) não diferem entre si a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Avaliação da atividade dos óleos de alho e de casca de canela sobre isolados de fungos do grupo *Aspergillus flavus*, isolados da cultura do amendoim no cultivo da seca, após 12 meses de armazenamento. Seropédica, UFRRJ, 2003.

Culturas	Origem	Bulbilho de alho		Casca de canela	
		Centro halo	Periferia halo	Centro halo	Periferia halo
T ₂	Solo	Fungistática	Fungistática	Fungicida	Fungistática
T ₂₀	Semente	Fungistática	Fungistática	Fungistática	Fungistática
T ₂₄	Semente	Fungistática	Fungistática	Fungistática	Fungistática
T ₃₅	Vagem	Fungistática	Fungistática	Fungistática	Fungistática
T ₅₅	Vagem	Fungistática	Fungistática	Fungistática	Fungistática

tre 7,0 e 15,0 mm. Porém para 34% dos isolados testados, estes halos foram maiores do que 12,0 mm, valor considerado por Gunatilaka et al. (1994) como ideal para testes *in vitro*. O óleo essencial de canela proporcionou halos de inibição que variaram entre 10,0 e 22,0 mm, com valores maiores que 12,0 mm para 87% dos isolados testados. Wilson et al. (1997) constataram que o extrato do gênero *Allium* e o óleo essencial de *Cinnamomum zeilanicum* demonstraram a maior atividade antifúngica sobre *Botrytis cinerea*, em relação aos demais extratos e óleos essenciais testados. Em geral, os óleos foram ativos contra todos os isolados do grupo *A. flavus* testados, conformando ainda dos resultados de Morais (2000) que cita grande variação quanto à sensibilidade de fungos a óleos essenciais.

Após 12 meses de armazenamento dos óleos, foi constatado maior diâmetro dos halos de inibição quando se empregou o óleo de casca de canela em comparação ao óleo de bulbilho de alho (Tabela 3). Além disso, quando foi aplicado o óleo de casca de canela, observou-se maior diâmetro de halo de inibição para T2, isolado do solo, que para o

T24, isolado de semente. Já quando foi empregado o óleo de alho não foi constatada diferença entre os isolados quanto à sensibilidade, com base nos diâmetros dos halos de inibição formados.

Quando foi realizada a repicagem a partir da região dos halos de inibição foi observado que, dos pontos retirados próximos ao centro, somente não houve crescimento do isolado T2 quando foi empregado o óleo de casca de canela (Tabela 4). Para os demais isolados houve crescimento micelial, inclusive das amostras retiradas a partir do centro dos halos (Tabela 4). Para Mishra e Dubey (1994), o potencial antifúngico por longa duração facilita o isolamento futuro dos componentes dos óleos.

Pode-se concluir que a maior inibição relativa, *in vitro*, do desenvolvimento micelial de *A. flavus* foi obtida com o emprego dos óleos essenciais de bulbilho de alho e principalmente, de casca de canela. Existe variabilidade na população do fungo quanto à sensibilidade aos óleos. Novos estudos são necessários a fim de se comprovar a eficiência destas substâncias no controle de *Aspergillus flavus* em sementes destinadas ao consumo ou à semeadura.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq pela bolsa de PQ concedida aos dois últimos autores.

LITERATURA CITADA

- ANGLE, J.S.; DUNN, K.A.; WAGNER, G.H. Effect of cultural practices on the soil populations of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Soil Science Society of America Journal*, v.46, n.2, p.301-303, 1982.
- BARROS, S.T.; OLIVEIRA, N.T.; MAIA, L.C. Efeito do extrato de alho (*Allium sativum*) sobre o crescimento micelial e germinação de conídios de *Curvularia* spp. e *Alternaria* spp. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, p.168-170, v.21, n.2, p.168-170, 1995.
- BASHRA, S.M. A phytoalexin and aflatoxin producing peanut seed culture system. *Peanut Science*, v.21, n.1, p.130-134, 1984.
- BASTOS, C.N. Inibição do crescimento micelial e germinação de esporos de *Crinipelles pernicioso* e *Phytophthora palmivora* por extrato de bulbo de alho (*Allium sativum*). *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.17, n.4, p.454-456, 1992.
- BILGRAMI, K.S.; SINHA, K.K.; SINHA, A.K. Inhibition of aflatoxin production and growth of *Aspergillus flavus* by eugenol and onion and garlic extracts. *Indian Journal of Medical Research*, v.96, p.171-175, 1992.
- BOLKAN, H.A.; RIBEIRO, W.R.C. Efeito do extrato de alho em *Cylindrocladium clavatum*, *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* e *Rhizoctonia solani*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.6, n.1, p.565-566, 1981.
- CLAVERO, M.R.; HUNG, Y.; BEUCHAT, L.R.; NAKAYAMA, T. Separation of aflatoxin contaminated kernels from sound kernels by hydrogen peroxide treatment. *Journal of Food Protection*, v.56, n.2, p.130-133, 1993.
- CHALFOUN, S.M.; CARVALHO, V.D. Efeito do extrato e de óleo industrial sobre o desenvolvimento de fungos. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.12, n.3, p.234-235, 1987.
- DICKENS, J.W.; WHITAKER, T.B. Efficacy of electronic color sorting and handpicking to remove aflatoxin contaminated kernels from commercial lots of shelled peanuts. *Peanut Science*, v.2, n.1, p.45-50, 1975.
- DHINGRA, O.D., COELHO NETO, R.A. Micotoxinas em grãos. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, Passo Fundo, v.6, n.1, p.49-101, 1998.
- DHINGRA, O.D., SINCLAIR, J.B. *Basic plant pathology methods*. Boca Raton: Lewis Publishers, 1995. 434 p.
- DUKE, S.; UPADHYAY, P.D.; TRIPATHI, S.C. Antifungal, physicochemical, and insect-repelling activity of the essential oil of *Ocimum basilicum*. *Canadian Journal Botany*, v.67, n.7, p.2085-2087, 1989.
- DWEVIDI, S.K.; DWIVEDI, S.K.; PANDEY, V.N.; DUBEY, N.K. Effect of essential oils of some higher plants on *Aspergillus flavus* Link. Infesting stored seeds of guar [*Cyamopsis tetragonoloba* L.(Taub.)]. *Flavour and Fragrance Journal*, v.6, n.4, p.295-297, 1991.

- FERNANDEZ, E.; ROSOLEM, C.A.; MARINGONI, A.C.; OLIVEIRA, D.M.T. Fungus incidence on peanut grains as affected by drying method and Ca nutrition. *Field Crops Research*, v.52, n.1, p.9-15, 1997.
- LANGANAU, I.E.E. *The essential oils*. Huntington. New York, 1979, v.1, 227 p.
- MAEDA, J.A.; LAGO, A.A.; GERIN, M.A.N. Tratamento com fungicida no comportamento de sementes de amendoim. *Bragantia*, Campinas, v.54, n.1, p.103-111, 1995.
- MAHMOUD, A.L.E. Antifungal action and antiaflatoxigenic properties of some essential oil constituents. *Letters in Applied Microbiology*, v.19, p.110-113, 1994.
- MISHRA, D.; CHATURVEDI, R.D.; TRIPATHI, S.C. The fungitoxic effect of the essential oil of the herb *Nardostachys jatamansi* DC *Tropical Agriculture*, v.72, n.1, p.48-52, 1995.
- MISHRA, D.; DUBEY, N.K. Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. *Applied and Environmental Microbiology*, v.60, n.4, p.1101-1105, 1994.
- MORAIS, L.A.S. *Atividade antimicrobiana de extratos de algumas plantas medicinais sobre fitopatógenos do tomateiro (Lycopersicon esculentum Mill.)*. 2000. 109 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
- PIMENTEL GOMES, J.I. *Curso de estatística experimental*. São Paulo. Nobel, 1996. 404 p.
- REDING, C.L.C.; HARRINSON, M.A. Possible relationship of succinate dehydrogenase and fatty acid synthetase activities to *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production. *Mycopathologia*, v.127, n.3, p.175-181, 1994.
- RIBEIRO JÚNIOR, J.I. *Análises estatísticas no SAEG*. Viçosa. UFV, 2001. 301 p.
- RIBEIRO, L.F.; BEDENDO, I.P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v.56, n.4, p.90-101, 1999.
- ROSSETTO, C.A.V.; LIMA, T.M.; VIEGAS, E.C. Contaminação fúngica do amendoim em função das doses de calcário e das épocas de amostragem. *Bragantia*, Campinas, v.62, n.3, p.437-415, 2003.
- WILSON, C.L.; SOLAR, J.M.; EL-GHAOUTH, A.; WISNIEWSKI, M.E. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Disease*, v.81, n.2, p.204-210, 1997.
- VANZOLINI, S.; TORRES, R.M.; PANIZZI, R.C. Efeito do tamanho, da densidade e do tratamento fungicida sobre a qualidade de sementes de amendoim. *Revista Ceres*, Viçosa, v.47, n.274, p.603-612, 2000.