

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEIO AMBIENTE E RECURSOS
HÍDRICOS

INFLUÊNCIA DE EXTRATOS VEGETAIS AQUOSOS EM
MICROORGANISMOS DE IMPORTÂNCIA AGRÍCOLA E AMBIENTAL

MARIANA MOREIRA DOMINGOS

ITAJUBÁ (MG)

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEIO AMBIENTE E RECURSOS
HÍDRICOS

MARIANA MOREIRA DOMINGOS

INFLUÊNCIA DE EXTRATOS VEGETAIS AQUOSOS EM
MICROORGANISMOS DE IMPORTÂNCIA AGRÍCOLA E AMBIENTAL

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Recursos Hídricos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências em Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

Área de Concentração: Meio Ambiente e Recursos Hídricos

Orientador: Prof. Dr. Rogério Melloni

Coorientador: Prof. Dr. Gustavo Magno dos Reis Ferreira

ITAJUBÁ (MG)

2020



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



QUADRO DEMONSTRATIVO DE APURAÇÃO

Defesa de Dissertação de Mestrado em Meio Ambiente e Recursos Hídricos

Título do trabalho: "Influência de extratos vegetais aquosos no comportamento de microrganismos de importância agrícola e ambiental"

Autor(a): Mariana Moreira Domingos

JULGAMENTO (PRESENCIAL)

Examinador(a)	Nome Completo	Conceito
2 ^{o(a)}	Gustavo Magno dos Reis Ferreira	A
3 ^{o(a)}	Hisaias de Souza Almeida	A
4 ^{o(a)}	Rogério Melloni	A

Conforme Art. 57, da Norma de Programas de Pós-Graduação da Universidade Federal de Itajubá:

- (1) O trabalho será considerado aprovado se todos os examinadores atribuírem conceito "A";
 - (2) O trabalho será considerado reprovado se for atribuído pelo menos dois conceitos "R";
 - (3) O trabalho será considerado insuficiente (I) se for atribuído um único conceito "R".
- No caso (3), a Comissão Examinadora definirá como avaliar a nova versão da dissertação, que deverá ser submetida novamente num período de até 3 (três) meses.

Resultado Final: A.

*Responder com "A", "R" ou "I".

Conceito Final: Aprovado.

*Responder com "Aprovado", "Reprovado" ou "Insuficiente".

Observações:

Itajubá, 11 de março de 2020.

Gustavo Magno dos Reis Ferreira

2^{o(a)} Examinador(a) - Coorientador(a) - GM Engenharia e Meio Ambiente

Hisaias de Souza Almeida

3^{o(a)} Examinador(a) - UNIFEI



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



Página 2 de 2

Rogério Melloni

4^o(a) Examinador(a) - Orientador(a) - UNIFEI

DEDICO

Aos meus pais Marina e Florisvaldo “*in memoriam*”, pela dedicação e amor.

AGRADEÇO

Agradeço do fundo do meu coração á minha mãe, a melhor mãe do mundo, meu exemplo em tudo na vida. Mãe, foi graças à senhora que aprendi a nunca desistir. Você sempre estará na minha vida e no meu coração. Te amo!

Quero agradecer ao meu pai, que ainda estando comigo por um curto tempo, conseguiu passar suas experiências e ensinamentos. Obrigada Pai!

Agradeço imensamente a toda minha família, por ter acreditado nos meus sonhos e por ter estado ao meu lado em toda os momentos. Em especial gostaria de destacar meus tios Vander, Eunice, Marisa, Dalva, Laudicéia e Geny.

Também quero agradecer aos meus irmãos por todo o apoio e incentivo. Obrigada Luzia, Irene e Carlos.

Agradeço ao Danilo por ter trazido amor e felicidade á minha vida e por estar sempre me apoiando.

Agradeço á Ana, o Tadeu, á Samira, Breno e á Ana Luiza por terem se tornado minha segunda família. Muito obrigada.

Ao Pither, Mirtes, Gafanhota, Tatu e Samba minha eterna gratidão. Depois que vocês entraram na minha vida ela ficou muito mais feliz. Amo vocês meus filhotes.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rogério Melloni, pela oportunidade, confiança, inspiração e ensinamentos.

Ao meu co-orientador Dr. Gustavo Magno dos Reis Ferreira, por toda ajuda.

Aos professores do mestrado que contribuíram para a minha formação.

Aos queridos funcionários da Unifei – Haroldo e Paulo, pela presteza, amizade e, principalmente, pelas risadas.

À Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI), pela oportunidade da realização do mestrado.

Ao centro de estudos em qualidade ambiental (CEQUAM) pela estrutura oferecida.

Aos meus amigos, pelo companheirismo, carinho e por tornar a caminhada mais leve.

À república Amazona e todos seus moradores.

A todos que, de certa forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

"O segredo da vida é o solo, porque do solo dependem as plantas, a água, o clima e nossa vida. Tudo está interligado. Não existe ser humano sadio se o solo não for sadio e as plantas bem nutridas".

Ana Primavesi

RESUMO

Dentre os métodos alternativos aos agrotóxicos utilizados nos cultivos agroecológicos, o uso de subprodutos de plantas medicinais é uma importante estratégia para o manejo de pragas e doenças. As plantas medicinais apresentam alta diversidade de metabólitos secundários que estão envolvidos em funções específicas para a proteção contra organismos invasores e atração de polinizadores. Muitos destes possuem ação fungitóxica, eliciadora, inibitória do crescimento micelial e germinação de esporos, e ação indutora de fitoalexinas. A utilização de extratos vegetais e óleos essenciais, dependendo da concentração, pode proporcionar relações de sinergismo, causando efeito antagônico a determinadas espécies de microrganismos e alelopatia a determinadas espécies vegetais. Poucos estudos sobre a influência dos metabólitos secundários vêm sendo conduzidos sobre a microbiota do solo e os formadores de simbiose mutualística. Diante disso, o presente trabalho tem por objetivo analisar os efeitos de extratos vegetais aquosos de *Mentha spicata*, *Tagetes patula*, *Cymbopogon nardus* e *Allium sativum* sobre: 1) a microbiota do solo, de forma geral e 2) sobre o microrganismo fitopatogênico *Fusarium oxysporum* e analisar os efeitos do extrato *Allium sativum* sobre 3) aqueles formadores de simbiose mutualística como os fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Para a obtenção do extrato aquoso, foram adicionados 100 mL de água destilada sobre 10 g de biomassa seca para resultar no extrato aquoso bruto. Para a avaliação do efeito na microbiota do solo (1), determinaram-se atividade, biomassa e coeficiente metabólico, sendo os extratos diluídos em água destilada para 10,0, 7,5, 5,0 e 2,5% m/v. Para a avaliação da atividade antifúngica dos extratos em *F. oxysporum* (2), os mesmos foram incorporados em meio de cultura BDA onde um disco de micélio do fitopatógeno foi repicado para o centro de cada placa. Foi determinada a percentagem de inibição do crescimento micelial. A avaliação do extrato vegetal na formação micorrízica (3) foi realizada em recipientes plásticos, os quais tiveram seu volume preenchido por substrato composto por amostra de solo e areia. Cada substrato foi infestado com 50 esporos de FMA. Após a semeadura, os vasos receberam a aplicação do extrato vegetal nas suas respectivas concentrações. Foram avaliadas a colonização e intensidade de colonização micorrízica pelos FMA. Ao contrário da biomassa microbiana, os extratos vegetais influenciaram negativamente os indicadores metabólicos. Os extratos aquosos de *A. sativum*, *M. spicata* e *C. nardus* apresentaram atividade fungistática sobre o desenvolvimento de *F. oxysporum*, sendo o extrato de *A. sativum* o que apresentou maior efeito na porcentagem de inibição do crescimento micelial. As concentrações do extrato aquoso de *A. sativum* interferiram negativamente na colonização micorrízica do FMA *Gigaspora rosea* e na intensidade de colonização micorrízica dos FMA *Gigaspora rosea* e *Rhizophagus clarus* inoculados em plantas de milho. No geral, a espécie de fungo micorrízico arbuscular *R. clarus*, nas condições experimentais, proporcionou maior altura e produção de matéria seca da parte aérea das plantas colonizadas.

Palavras-chave: *Fusarium* sp. Microbiota do solo. Fungos micorrízicos arbusculares.

ABSTRACT

Among the alternative methods to pesticides used in agroecological crops, the use of medicinal plants by-products is an important strategy for the management of pests and diseases. Medicinal plants have a high diversity of secondary metabolites that are involved in specific functions to protect against invading organisms and attract pollinators. Many of these have fungitoxic, eliciting, inhibiting mycelial growth and spore germination, and phytoalexin inducing action. The use of plant extracts and essential oils, depending on the concentration, can provide synergistic relationships, causing an antagonistic effect to certain species of microorganisms and allelopathy to certain plant species. Few studies on the influence of secondary metabolites have been conducted on soil microbiota and the formation of mutualistic symbiosis. Therefore, this work aims to analyze the effects of aqueous plant extracts of *Mentha spicata*, *Tagetes patula*, *Cymbopogon nardus* and *Allium sativum* on: 1) the soil microbiota, in general; 2) on the phytopathogenic microorganism *Fusarium oxysporum* and 3) those forming mutualistic symbiosis such as arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). To obtain the aqueous extract, 100 mL of distilled water was added over 10 g of dry biomass to result in the crude aqueous extract. To evaluate the effect on the soil microbiota (1), activity, biomass and metabolic coefficient were determined, with the extracts diluted in distilled water to 10.0, 7.5, 5.0 and 2.5% w/v. For the evaluation of the antifungal activity of the extracts in *F. oxysporum* (2), they were incorporated in a BDA culture medium where a phytopathogenic mycelium disk was peaked in the center of each plate. The percentage of inhibition of mycelial growth was determined. The evaluation of the plant extract in the mycorrhizal formation (3) was carried out in plastic containers, which had their volume filled by substrate composed of soil and sand sample. Each substrate was infested with 50 spores of AMF. After sowing, the pots received the application of the plant extract in their respective concentrations. Colonization and intensity of mycorrhizal colonization by AMF were evaluated. Unlike microbial biomass, plant extracts negatively influenced metabolic indicators. The aqueous extracts of *A. sativum*, *M. spicata* and *C. nardus* showed fungistatic activity on the development of *F. oxysporum*, with *A. sativum* extract having the greatest effect on the percentage of inhibition of mycelial growth. The concentrations of the aqueous extract of *A. sativum* interfered negatively in the mycorrhizal colonization of AMF *Gigaspora rosea* and in the internality of mycorrhizal colonization of AMF *Gigaspora rosea* and *Rhizophagus clarus* inoculated in corn plants. The species of arbuscular mycorrhizal fungus *R. clarus*, under the experimental conditions, provided greater height and dry matter production of the aerial part of the colonized plants.

Keywords: *Fusarium* sp. Soil microbiota. Arbuscular Mycorrhizal Fungi.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática das estruturas dos FMA nas raízes.	31
Figura 2 - Processo de obtenção do extrato bruto aquoso das folhas de <i>Mentha spicata</i> , <i>Tagetes patula</i> , <i>Cymbopogon nardus</i> e bulbos de <i>Allium sativum</i>	35
Figura 3 - Esquema apresentando as etapas do preparo das amostras não irradiadas para o ensaio de determinação de atividade e biomassa microbianas.	36
Figura 4 - Esquema apresentando as etapas do preparo das amostras irradiadas para o ensaio de determinação de atividade e biomassa microbianas.	38
Figura 5 - Frascos de vidro na câmara de incubação.....	38
Figura 6 - Esquema apresentando as etapas da titulação com HCl 1,0 mol L ⁻¹	39
Figura 7 - Montagem do experimento. A- Recipiente plástico com três sementes de milho. B- Disposição dos recipientes plásticos na casa de vegetação. C- Germinação das sementes de milho. D- Plantas de milho com 8 dias. E- Recipientes com uma planta.	43
Figura 8 - Aplicação do extrato de alho.	43
Figura 9 - Acondicionamento, secagem e pesagem das amostras parte aérea do milho. A- Amostras identificadas. B- Secagem em estufa. C- Pesagem das amostras em balança analítica.	44
Figura 10 - Determinação da massa da matéria fresca da raiz. A- Secagem da raiz. B- Diferença visual no desenvolvimento das raízes. C- Pesagem da raiz em balança analítica.	44
Figura 11 - Procedimento de coloração das raízes. A- Acondicionamento das raízes em cassetes. B- Aquecimento em solução de KOH 10% a 90 °C em banho-maria. C- Coloração em solução de azul de tripano 0,05%, ácido clorídrico 0,5% e glicerol.....	45
Figura 12 - Análise da porcentagem de colonização radicular. A- Raízes disposta em placa quadriculada e visualização no microscópio estereoscópico. B- Imagem do microscópio estereoscópico.....	46
Figura 13 - Análise da intensidade de colonização radicular. A- Preparação da lâmina de microscopia com 10 segmentos de raízes. B- Visualização em microscópio óptico. C, D e E- Imagens do microscópio óptico hifas fúngica colonizando a raiz de planta.	47
Figura 14 - Biomassa microbiana em relação a diferentes concentrações do extrato aquoso. A- Extrato aquoso de <i>Allium sativum</i> . B- Extrato aquoso de <i>Mentha spicata</i> . C- Extrato aquoso de <i>Cymbopogon nardus</i> . D- Extrato aquoso de <i>Tagetes patula</i>	48

Figura 15 - Atividade microbiana em relação a diferentes concentrações do extrato aquoso. A- Extrato aquoso de <i>Allium sativum</i> . B- Extrato aquoso de <i>Mentha spicata</i> . C- Extrato aquoso de <i>Cymbopogon nardus</i> . D- Extrato aquoso de <i>Tagetes patula</i>	50
Figura 16 - Quociente metabólico em relação a diferentes concentrações de extrato aquoso. A- Extrato aquoso de <i>Allium sativum</i> . B- Extrato aquoso de <i>Mentha spicata</i> . C- Extrato aquoso de <i>Cymbopogon nardus</i> . D- Extrato aquoso de <i>Tagetes patula</i>	51
Figura 17 - Inibição do crescimento micelial de <i>Fusarium oxysporum in vitro</i> na presença de extratos vegetais na concentração de 10% no último dia de avaliação.	55
Figura 18 - Percentual de colonização micorrízica de raiz de plantas de milho.	56
Figura 19 - Intensidade de colonização micorrízica de plantas de milho.....	58
Figura 20 - Raízes de milho tratadas com extrato aquoso de <i>Allium sativum</i> e inoculadas com FMA. A e B -Vesículas e hifas de FMA (índice de colonização). C - Hifas extraradiculares... ..	59
Figura 21 - Escala de notas de intensidade de colonização radicular por FMA.	59
Figura 22 - Crescimento do milho micorrizado com as espécies <i>Gigaspora rosea</i> e <i>Rhizopahgus clarus</i> . A- Altura de plantas de milho (cm). B- Matéria seca da parte aérea (g). Médias com as mesmas letras não diferem pelo teste de Scott-Knott a $p>0,05$ de probabilidade.	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Diferenças entre o sistema convencional e Orgânico na produção de alimentos.....	19
Tabela 2 - Relatos, na literatura, que comprovam a atividade antifúngica das plantas <i>Allium sativum</i> , <i>Mentha</i> ssp., <i>Cymbopogon nardus</i> e <i>Tagetes patula</i>	25
Tabela 3 - Fatores que influenciam na formação e na ocorrência de FMA.....	32
Tabela 4 - Caracterização química da amostra de solo utilizada na composição do experimento.	35
Tabela 5 - Efeito de extratos aquosos de <i>Allium sativum</i> , <i>Mentha spicata</i> , <i>Cymbopogon nardus</i> e <i>Tagetes patula</i> a 10% de concentração, na porcentagem de inibição do crescimento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> em meio sólido <i>in vitro</i>	53
Tabela 6 - Comparação de médias pelo teste de Scott-knott para a variável percentual de colonização micorrízica de raiz de plantas de milho frente às doses crescentes de extrato aquoso de <i>Allium sativum</i> e inoculação com fungos micorrizicos.....	56
Tabela 7 - Comparação de médias pelo teste de Scott-Knott para a variável intensidade de colonização micorrízica de plantas de milho frente às doses crescentes de extrato aquoso de <i>Allium sativum</i> e inoculação com fungos micorrizicos.	58
Tabela 8 - Teste de variância para a concentração do extrato de <i>Allium sativum</i> na variável biomassa microbiana do solo.....	79
Tabela 9 - Teste de variância para a concentração do extrato de <i>Mentha spicata</i> na variável biomassa microbiana do solo.....	79
Tabela 10 - Teste de variância para a concentração do extrato de <i>Cymbopogon nardus</i> na variável biomassa microbiana do solo.....	79
Tabela 11 - Teste de variância para a concentração do extrato de <i>Tagetes patula</i> na variável biomassa microbiana do solo.....	79
Tabela 12 - Teste de variância para a concentração do extrato de <i>Allium sativum</i> na variável atividade microbiana do solo.....	80
Tabela 13 - Teste de variância para a concentração do extrato de <i>Mentha spicata</i> na variável atividade microbiana do solo.....	80
Tabela 14 - Teste de variância para a concentração do extrato de <i>Cymbopogon nardus</i> na variável atividade microbiana do solo.....	80
Tabela 15 - Teste de variância para a concentração do extrato de <i>Tagetes patula</i> na variável atividade microbiana do solo.....	80

Tabela 16 - Teste de variância para a concentração do extrato de <i>Allium sativum</i> na variável coeficiente metabólico microbiano do solo.	81
Tabela 17 - Teste de variância para a concentração do extrato de <i>Mentha spicata</i> na variável coeficiente metabólico microbiano do solo.	81
Tabela 18 - Teste de variância para a concentração do extrato de <i>Cymbopogon nardus</i> na variável coeficiente metabólico microbiano do solo.	81
Tabela 19 - Teste de variância para a concentração do extrato de <i>Tagetes patula</i> na variável coeficiente metabólico microbiano do solo.	81
Tabela 20 - Análise de variância para porcentagem de inibição do crescimento micelial de <i>F. oxysporum</i> submetido a diferentes extratos vegetais, em diferentes épocas de avaliação.	82
Tabela 21 - Teste de variância para porcentagem de colonização micorrízica.	82
Tabela 22 - Teste de variância para a variável intensidade de colonização micorrízica.	82
Tabela 23 - Teste de variância para altura de plantas de milho inoculadas com os fungos micorrízicos arbusculares.	82
Tabela 24 - Teste de variância para matéria seca da parte aérea de plantas de milho inoculadas com os fungos micorrízicos arbusculares.	83
Tabela 25 - Teste de variância para matéria fresca de raiz de plantas de milho inoculadas com os fungos micorrízicos arbusculares.	83

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	OBJETIVOS.....	15
2.2	Objetivo geral	15
2.3	Objetivos específicos	15
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
3.1	A modernização da agricultura no Brasil.....	16
3.2	Sistemas de produção sustentáveis e a Produção Orgânica.....	17
3.3	Teoria da Trofobiose.....	19
3.4	Alternativas para o controle de pragas e doenças na Produção Orgânica.....	20
3.5	Efeitos de extratos vegetais na microbiota do solo.....	26
3.6	Fungo fitopatogênico <i>Fusarium</i> sp.	28
3.7	Efeitos de extratos vegetais nos FMA	30
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	34
4.1	Coleta do material vegetal	34
4.2	Obtenção dos extratos vegetais.....	34
4.3	Amostra de solo	35
4.4	Avaliação do efeito dos extratos vegetais na atividade microbiana, biomassa e coeficiente metabólico	36
4.5	Avaliação da atividade antifúngica dos extratos vegetais	40
4.6	Avaliação do extrato vegetal na colonização micorrízica.....	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	48
5.1	Avaliação do efeito dos extratos vegetais na atividade microbiana, biomassa e coeficiente metabólico	48
5.2	Avaliação da atividade antifúngica dos extratos vegetais sobre o fungo <i>Fusarium oxysporum</i>	52
5.3	Avaliação do extrato vegetal na colonização micorrízica.....	55
5.3.1	Variáveis de crescimento.....	60
6	CONCLUSÃO.....	62
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
	ANEXO A	79

1 INTRODUÇÃO

A utilização de produtos derivados da indústria química para o controle de pragas, doenças e plantas daninhas tem sido questionada pela sociedade, em decorrência dos efeitos adversos causados por esses (JAMAL et al., 2008). O uso inadequado das tecnologias, principalmente dos agrotóxicos, tem promovido diversos danos ambientais, como a contaminação do solo, água, animais (incluindo os insetos benéficos e inimigos naturais), entre outros. Esses produtos também podem causar o desenvolvimento de resistência de patógenos, de pragas e de plantas invasoras, o surgimento de doenças iatrogênicas (as que ocorrem devido ao uso de agrotóxicos), desequilíbrio biológico, alterando a ciclagem de nutrientes e da matéria orgânica, eliminação de organismos benéficos e a redução da biodiversidade (BETTIOL; MORANDI, 2009).

Diante dessa realidade e do avanço dos sistemas agroecológicos de produção, surgiu a necessidade de desenvolver práticas agrícolas de baixo impacto ambiental, que substituíssem os métodos convencionais de controle de pragas e doenças. Na busca de alternativas de controle menos agressivos, tem-se verificado que muitos dos extratos de plantas medicinais, condimentares e aromáticas apresentam propriedades antifúngicas (SILVA et al., 2009).

Os benefícios do uso dos produtos naturais na agricultura são inúmeros. Segundo Duke et al. (2002), vale a pena salientar três deles: 1) São produtos que apresentam uma meia-vida curta já que as estruturas químicas estão presentes na natureza e são, portanto, de fácil degradação; 2) O risco do desenvolvimento de novos mecanismos de resistência devido ao uso contínuo diminui muito se os produtos forem aplicados na forma de extratos com mais de um princípio ativo; e 3) São produtos que possuem poucos halogênios ligados em suas moléculas e, portanto, apresentam menor risco de impacto ambiental.

Vários extratos de plantas já foram testados sobre fungos fitopatogênicos em diversos trabalhos (CARNELOSSI et al., 2009; VENTUROSIO et al., 2011; KOONA; BUDIDA, 2011; BIGATON et al., 2013; BONA et al., 2014), mostrando seu potencial no controle de fitopatógenos. Embora a literatura relate vários casos de controle de doenças pelo uso de extratos vegetais e óleos essenciais de diversas plantas, são escassos os estudos desses métodos alternativos de controle sobre a microbiota do solo.

O solo é um sistema vivo e heterogêneo, composto de muitas associações microbianas. Estas associações são sensíveis a modificações físicas e químicas tais como alterações no modo de cultivo, uso de agrotóxicos ou de substâncias biologicamente ativas que podem afetar o equilíbrio microbiano. Entre os organismos afetados estão os fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Esses simbiontes atuam como extensões do sistema radicular das plantas, aumentando

sua capacidade em absorver nutrientes (principalmente os íons de baixa mobilidade no solo), melhorando seu estado nutricional e fisiológico. Os FMA possuem função ecológica bastante ampla, atuando na ciclagem de nutrientes, na estabilidade de agregados do solo, na diminuição da ocorrência de doenças e na capacidade de suportar estresse hídrico (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

2 OBJETIVOS

2.2 Objetivo geral

Analisar o efeito de extratos aquosos vegetais sobre microrganismos de importância agrícola e ambiental, presentes no solo.

2.3 Objetivos específicos

- Determinar atividade, biomassa e quociente metabólico (qCO_2) em amostras de solo tratadas com extratos vegetais;
- Identificar extratos vegetais que possuem ação antifúngica sobre o fungo *Fusarium oxysporum*, *in vitro*;
- Determinar o efeito de concentrações do extrato vegetal que apresentar maior ação antifúngica sobre o fungo *Fusarium oxysporum*, na formação de micorriza e crescimento vegetativo de milho como planta-teste.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 A modernização da agricultura no Brasil

A agricultura é uma das práticas mais antigas e importantes para a humanidade e foi responsável por diversas mudanças econômicas, sociais e ambientais de sua história. Inicialmente desenvolvida com a formação de pequenos grupos sociais e com pequena demanda em termos de produtividade, a atividade foi se modificando ao longo do tempo.

Em meados do século XX a agricultura sofreu intensificadas alterações no modo de ser conduzida com o objetivo de uma ampliação da produção mundial de alimentos e por interesses inseridos dentro de um processo histórico no qual a indústria, que tinha sua produção voltada para a produção bélica, começou a produzir fungicidas, inseticidas, herbicidas e fertilizantes para abastecer o mercado que estava em expansão (FOLEY et al., 2005; TSCHARNTKE et al., 2005; ANDRADES; GANIMI, 2007; ALBERGONI; PELAEZ, 2007; CARNEIRO et al., 2015; PELAEZ; TERRA; SILVA, 2010).

Essa modernização, denominada *Revolução Verde*, teve início na década de 1950, nos Estados Unidos, e foi baseada no incremento e incentivo ao uso de agrotóxicos e fertilizantes e na tecnologia investida na produção de maquinário e controle genético para o uso agrícola (SIQUEIRA et al., 2013; TILMAN, 1999; ANDRADES; GANIMI, 2007; LONDRES, 2011). Para Altieri (2002), esses pilares contribuíram para a prática da monocultura que implicou na diminuição da biodiversidade, gerando, como resultado, um ecossistema artificial que requer constante intervenção humana por meio do uso de insumos agroquímicos, com elevados custos ambientais e problemas sociais não desejados.

No Brasil, esse movimento chegou na década de 1960 e, com a implantação do Programa Nacional de Defensivos Agrícolas (PNDA), ganhou impulso nos anos de 1970. O programa vinculava a utilização dessas substâncias à concessão de créditos agrícolas (JOBIM et al., 2010).

Entre os anos de 1980 e 1990, a crise macroeconômica no Brasil forçou uma recessão da política de crédito agrícola, o que, todavia, não se traduziu em proporcional redução da produtividade média nacional (PELAEZ; TERRA; SILVA, 2010). O bom desempenho da agricultura nacional nesse período e no período subsequente dos anos 2000 levou o Brasil aos maiores índices mundiais de consumo de agrotóxicos. De fato, desde 1975, o país sempre esteve entre os seis maiores mercados de agrotóxicos do mundo (TERRA, 2008).

Desta forma, segundo Santos e Silveira (2008, p.120), “houve uma desvalorização das agriculturas alimentares básicas e de tradição nacional (como arroz, feijão e mandioca), com a colaboração do crédito público, da informação, da propaganda e dos novos consumos”. A terra passou a ser utilizada para o cultivo de produtos exportáveis.

A utilização deste pacote moderno acarretou efeitos negativos, prejudiciais à saúde do homem e da natureza. Surgiram vários problemas no ecossistema, como a compactação do solo e alteração da flora microbiana do solo; absorção desequilibrada de nutrientes; perda ou redução acentuada do potencial produtivo do solo; poluição e um encarecimento do custo de produção devido ao aumento dos insumos básicos como os fertilizantes, agrotóxicos e os maquinários agrícolas (BONILLA, 1992).

Primavesi (1997, p.159) escreve que “arrancou-se a agricultura do seu contexto biológico inserindo-a no capitalismo. Era a última atividade econômica que não estava ainda encaixada no sistema técnico-científico”. Ainda segundo a autora, “desenvolvem-se novas tecnologias agrícolas aumentando o mercado para a indústria, mas não se sabe como manter os solos produtivos, uma vez que a produção não depende somente de agroquímicos, híbridos e irrigação, mas também da vida no solo”.

Em 1962 foi publicado o livro "Primavera Silenciosa" de Rachel Carson, considerado um marco do movimento ambientalista na década de 1970 e, até hoje, é uma referência teórica. Seu alerta desencadeou um debate nacional sobre o uso de pesticidas químicos, sobre a responsabilidade da ciência e sobre os limites do progresso tecnológico, dando início a uma transformação na relação entre os seres humanos e o mundo natural e incitando o despertar da consciência ambiental (BONZI, 2013).

Devido a todos os danos causados pela agricultura convencional surgiu uma preocupação perante a sociedade e novas discussões sobre estes problemas ganharam força. Modelos contrários à agricultura convencional somente ganharam espaço no Brasil após a consolidação do processo de ‘modernização da agricultura’, quando os resultados negativos desse modelo foram identificados e disseminados à sociedade.

3.2 Sistemas de produção sustentáveis e a Produção Orgânica

Em 2003 foi criado, no Brasil, a Lei nº 10.831 como uma alternativa de controle do uso intensivo de agrotóxicos, a qual dispõe sobre o sistema orgânico de produção, compreendendo sistemas de produção sustentáveis, tais como orgânicos, ecológicos e agroecológicos. Tais modelos de agricultura contribuem com a redução dos impactos ao meio ambiente, preservam os recursos naturais e possibilitam a produtividade no longo prazo (GLIESSMAN et al., 2007; GLIESSMAN, 2010). O Decreto nº 7.794 regulamentou a Lei e constituiu, em 2012, o Plano Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica (PLANAPO), incentivando a produção livre de agrotóxicos e definindo normas técnicas para a produção orgânica e sua estrutura de gestão a partir da integração de políticas, programas e ações em apoio à transição agroecológica e à

agricultura orgânica e de base ecológica, orientadas ao desenvolvimento rural sustentável (CIAPO, 2013).

Agricultura sustentável refere-se à possibilidade de se utilizar biomassa de um sistema perpétuo, passível de se renovar ou ser renovado sem prejuízos. As práticas que podem ser incorporadas ao sistema produtivo para garantir a sustentabilidade da agricultura relacionam-se à ciclagem de nutrientes, uso de materiais locais e fontes de energia renováveis, manejo integrado de pragas, reestabelecimento de interações biológicas, consideração do potencial produtivo das culturas e limitações físicas da paisagem, adaptação da biologia e genética de plantas e animais para as condições ecológicas locais, valorização da saúde geral do agroecossistema e conservação integrada do solo, água, energia e recursos biológicos (GLIESSMAN et al., 2007).

A Agricultura Orgânica é uma forma sustentável de produção, que promove e estimula a biodiversidade, os ciclos biológicos e a atividade biológica do solo. Essa agricultura baseia-se no uso mínimo de insumos externos e em métodos que recuperam, mantêm e promovem a harmonia ecológica (KOECHLIN, 2003).

O cultivo orgânico não utiliza agrotóxicos e fertilizantes químicos sintéticos; pelo contrário, empenha-se em desenvolver um solo saudável, fértil e sadias rotações de culturas. Desse modo, a propriedade permanece biologicamente equilibrada, com uma ampla variedade de insetos e outros organismos que agem como predadores naturais de pragas, e um solo pleno de microrganismos que mantêm a sua vitalidade (PENTEADO, 2000).

A Tabela 1 mostra as diferenças entre os sistemas de produção convencional e o sistema de Produção Orgânico (PENTEADO, 2007).

Tabela 1 - Diferenças entre o sistema convencional e Orgânico na produção de alimentos.

Convencional (Tecnologia de produtos)	Orgânico (Tecnologia de processos)
Cultivo baseado na aquisição de insumos para a produção agrícola.	Leva em consideração a relação planta-solo-ambiente, aproveitando os recursos locais (sustentabilidade).
Uso de pesticidas agressivos, que contaminam o homem e a natureza. Emprego de adubos químicos de alta solubilidade, que desequilibram as plantas, liberando radicais livres.	Ativa a defesa natural e emprega defensivos alternativos, que favorecem a resistência da planta. Uso de adubos orgânicos e de lenta liberação de nutrientes.
Falta de cobertura de proteção do solo. Monocultura. Falta de manejo adequado da água, solo e das ervas nativas do terreno. Erradicação das ervas nativas.	Mantém a cobertura do solo, seja viva com plantas (adubos verdes ou ervas nativas manejadas), ou cobertura morta. Biodiversidade ou rotação de cultivos. Preservação dos mananciais de água, sem contaminantes e manejo das ervas nativas.
Erosão do solo via mecanização excessiva, causando empobrecimento quanto ao húmus e vida microbiana. Solo com baixa capacidade de reservas de água e nutrientes.	Equilíbrio do solo e ambiente. Rico em matéria orgânica e vida microbiana. Solos com elevada capacidade de retenção de água e nutrientes.
Erradicação dos inimigos naturais, devido ao emprego de agrotóxicos e falta de áreas de refúgio.	Presença de inimigos naturais, que favorecem o controle fitossanitário, com redução da necessidade de controle.
Desequilíbrio nutricional da planta, sendo obrigado o emprego de fertilizantes foliares de alto custo.	Equilíbrio nutricional, plantas rústicas e produtivas, uma vez que há alta disponibilidade de nutrientes para a planta no solo, pela matéria orgânica.
Alimentos contaminados, com sabor e aroma alterados pelos insumos químicos e baixa conservação.	Alimentos saudáveis, com sabor e aroma característicos e maior conservação em pós-colheita.
Contaminação e deterioração do ecossistema. Preços instáveis no mercado. Produto sem garantia de qualidade. Produtor não tem garantia de comercialização pelo preço justo. Alto risco de descapitalização na atividade.	Ecossistema equilibrado, com menor necessidade de intervenção do produtor (adubação e proteção). Sistema autossustentável, com menor custo de produção. Alimentos de alta qualidade e elevada cotação no mercado. Vantagens na comercialização, com venda direta e preços estáveis e mais elevados. Atividades de menor risco.

Fonte: Penteadó (2007).

3.3 Teoria da Trofobiose

De acordo com a Teoria da Trofobiose, formulada pelo cientista francês Francis Chaboussou, pragas e doenças só proliferam em plantas com desequilíbrio metabólico através de níveis exagerados de aminoácidos livres e açúcares solúveis na seiva. Numa planta sadia esses

níveis são baixos, visto que a síntese de proteínas (proteossíntese) e sua degradação (proteólise) estão equilibradas. Os níveis exagerados de aminoácidos podem acontecer por inibição da proteossíntese ou aceleração da proteólise, podendo ocorrer por erros de manejo da cultura, nutrição desequilibrada ou forte influência da presença de fatores que conduzam ao desequilíbrio, como os agrotóxicos (PASCHOAL, 1996; POLITO, 2005).

Segundo Primavesi (1994), os parasitas só aparecem porque encontram condições favoráveis para sua alimentação, maturação e reprodução. Todos os fatores desfavoráveis à formação de novo citoplasma, proteínas, vitaminas, enzimas, açúcares, graxas, hormônios, substâncias aromáticas, fenóis e outros, e que provocam a acumulação de substâncias solúveis na seiva, como substâncias nitrogenadas, aminoácidos, açúcares simples etc., favorecem a nutrição e procriação de microorganismos e insetos.

De acordo com Paschoal (1996), ao contrário dos fertilizantes minerais solúveis, os adubos orgânicos fornecem os macros e micronutrientes que as plantas precisam e em doses proporcionais, sem excessos nem carências. Por isso, culturas adubadas organicamente tende a ser equilibradas, não ocorrendo acúmulos de substâncias solúveis, o que as tornam mais resistentes à ação deletéria de organismos. A base da sustentabilidade da agricultura é a conservação da fertilidade do solo, com atenção para o papel fundamental da matéria orgânica e dos microorganismos do solo (como a associação micorrízica e as bactérias fixadoras de nitrogênio) (PAULUS, 1999).

A teoria da trofobiose está diretamente relacionada ao manejo agroecológico das culturas, contribuindo para a resistência fisiológica vegetal e sustentabilidade dos agroecossistemas (VILANOVA; SILVA JÚNIOR, 2009). Na agroecologia, torna-se evidente a necessidade de se adotar um enfoque holístico e sistêmico em todas as intervenções que visem transformar ecossistemas em agroecossistemas (ALTIERI, 2002; CAPORAL; COSTABEBER, 2004). A abordagem sistêmica visa ao estudo do desempenho total de sistemas, em vez de se concentrar isoladamente nas partes. Na agricultura, o enfoque sistêmico tem-se tornado cada vez mais necessário, devido à crescente complexidade de sistemas organizados e manejados pelo homem e da emergência do conceito de sustentabilidade (PINHEIRO, 2000).

3.4 Alternativas para o controle de pragas e doenças na Produção Orgânica

Embora as práticas do sistema orgânico envolvam o manejo do solo e práticas culturais que mantêm a saúde do solo e os serviços ecossistêmicos, buscando o equilíbrio ecológico e a prevenção de problemas fitossanitários (SOUZA; RESENDE, 2006), frequentemente, os produtores orgânicos enfrentam problemas com pragas e doenças em suas culturas

(LETOURNEAU; BRUGGEN, 2006). Nesse caso, como última opção, o produtor pode usar medidas curativas para manter a população da praga e doenças sob controle, porém, isso deve ser feito respeitando os princípios agroecológicos (ZEHNDER et al., 2007). Este sistema segue uma abordagem diferenciada quanto às formas de controle de pragas e doenças, onde produtos químicos sintéticos comumente utilizados em sistemas convencionais são substituídos por alternativas naturais à base de fungos, bactérias, insetos e extratos vegetais (LETOURNEAU; BRUGGEN, 2006; SOUZA; RESENDE, 2006; MAPA, 2016). A legislação brasileira da produção orgânica trata de forma diferenciada os insumos destinados à agricultura orgânica, como objetivo de simplificar e agilizar o processo de registro (BRASIL, 2003; BRASIL, 2007), sem deixar de lado a preocupação com a saúde, meio ambiente e a eficiência agrônoma (MAPA, 2011; MAPA/ANVISA/IBAMA, 2011; MAPA, 2014). Estes insumos recebem a denominação de “produto fitossanitário com uso aprovado para a agricultura orgânica” (MAPA/ANVISA/IBAMA, 2011).

A principal vantagem da utilização dos extratos vegetais para a proteção de plantas, quando comparados aos agrotóxicos, deve-se ao fato de gerar novos compostos, os quais os patógenos não se tornaram capazes de inativar além das substâncias produzidas pelas plantas serem rapidamente degradadas (não se acumulando no meio natural), apresentar ação rápida, baixa toxicidade a mamíferos, seletividade (geralmente menos danosos a insetos benéficos), baixa fitotoxicidade e possui um amplo modo de ação (FERRAZ; LOPES; AMORA, 2008).

Os extratos vegetais são preparações líquidas ou em pó obtidas da retirada dos princípios ativos de matéria-prima vegetal por diversas metodologias (SONAGLIO et al., 2003). Esses princípios ativos são compostos químicos que participam da atividade alelopática dos vegetais, denominados de aleloquímicos, sendo produzidos no metabolismo secundário das plantas e apresentam funções específicas para sua proteção contra pragas e doenças e atração de polinizadores. Muitos destes possuem ação eliciadora (atuação em mecanismos de defesa), ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de conídios, e ação indutora de fitoalexinas (BRAGA, 2008; SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; CRUZ, 2000).

Segundo De Conti et al. (2011), a alelopatia é um fenômeno de ocorrência natural, resultante da liberação de substâncias capazes de estimular ou inibir o desenvolvimento de outras plantas e organismos. Vale a pena ressaltar que o efeito alelopático depende de qual composto é adicionado ao ambiente. Segundo Ferreira e Aquila (2000), todas as plantas produzem metabólitos secundários, que variam em qualidade e quantidade de espécie para espécie. O que se sabe desses aleloquímicos é que desempenham um papel importante nas interações complexas entre organismos vivos e ambiente natural e quando liberados no ambiente podem ser absorvidos

por outras plantas, influenciando no processo de germinação, crescimento e desenvolvimento por ações em processos fisiológicos podendo provocar efeito direto ou indireto, benéfico ou danoso (SAMPIETRO, 2016; EINHELLIG, 2002; FERREIRA, 2004).

A utilização de metabólitos secundários na forma de extratos vegetais de plantas, além de poder causar de efeito antagônico a determinadas espécies de microrganismos (BATISH et al., 2008) e alelopatia a determinadas espécies vegetais (GOETZE e THOMÉ, 2004; CRUZ; NOZAKI; BATISTA, 2000; FERREIRA; AQUILA, 2000;) também podem estimular ou inibir fungos benéficos como os micorrízicos e o desenvolvimento de micorrizas (AKIYAMA; MATSUZAKI; HAYASHI, 2005).

Os extratos vegetais são uma alternativa promissora para uso no controle de fitopatógenos devido à grande variedade de compostos metabólicos produzidos, incluindo alcalóides, flavonóides, isoflavonóides, taninos, cumarinas, glicosídeos, terpenos, fenilpropanonas e ácidos orgânicos. O fato de serem constituídos por uma grande variedade de compostos confere-lhes outras vantagens, como ter diferentes modos de ação, o que dificulta o desenvolvimento da resistência pelo patógeno, além de amplo espectro de ação (CABRAL et al., 2013).

Pesquisas desenvolvidas com extratos vegetais e/ou óleo essencial de plantas medicinais indicam o potencial das mesmas no controle de alguns fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de compostos com características elicitoras (SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; CRUZ, 2000). Mesmo possuindo essas características químicas, os extratos podem apresentar algumas limitações, como a baixa estabilidade dos compostos orgânicos e o não monitoramento de possíveis substâncias tóxicas presentes nas plantas ou resultantes da decomposição dos produtos durante sua manipulação. Além disso, alguns produtos vegetais podem ser tóxicos a insetos não-alvo e peixes, como é o caso da rotenona e da nicotina. Também, os compostos podem variar conforme a espécie e variedade da planta e elementos climáticos (como luz, temperatura, umidade relativa e chuvas). Essas limitações instigam a necessidade de pesquisas mais aprofundada dos extratos de plantas sob o meio ambiente, organismos não-alvo, pragas alvo, alimentos e ao ser humano, bem como o desenvolvimento de produtos com maior nível tecnológico, para que produtores e consumidores possam ter segurança na utilização de extratos brutos (SILVA et al., 2005; SAITO; SCRAMIN, 2000).

Na literatura tem-se verificado o registro da eficiência de extratos vegetais, obtidos de diversas espécies botânicas na promoção da inibição do desenvolvimento de vários fitopatógenos de natureza fúngica.

Allium sativum L. pertence à família Liliaceae e, a depender da região, pode ter várias sinonímias como alho-comum, alho bravo, alho-do-reino e alho branco (LORENZI; MATOS, 2002). É uma planta bulbosa e herbácea, com folhas estreitas, longas e pontiagudas, lineares, subuladas, fistulosas, com inflorescência em umbela, pedunculada, com flores alvas ou levemente esverdeadas (GALANTE, 2008). A característica marcante é o bulbo (cabeça) que é envolvido por invólucros que reúnem os bulbilhos (dentes), que por sua vez também são envoltos por invólucros próprios que podem ter coloração esbranquiçada, rósea ou violeta. Possui forte cheiro e sabor sendo usado pelo homem ao longo da história na culinária e como recurso terapêutico (VIEIRA, 1992; SILVA; DINIZ; OLIVEIRA, 2002).

O extrato e o óleo essencial de alho vêm sendo utilizados como bactericida, fungicida, vermífugo, antiviral e antiprotozoário e isso ocorre devido aos componentes terapêuticos presentes na cultura. Entre esses componentes a aliína (um aminoácido) forma a alicina (dialiltiosulfinato), que é uma substância que confere o aroma e atua na defesa no momento em que a planta é atacada por patógenos. Esse efeito proporcionado pela alicina se estende contra diversos microrganismos, justificando sua grande utilização (SOUZA; BLUM, 2013; SOUZA; ARAÚJO, NASCIMENTO, 2007).

A capacidade fungitóxica do extrato de alho vem sendo relatada na literatura, provando ser eficiente como agente antimicrobiano sobre o crescimento micelial, capaz de diminuir a germinação de esporos e de conídios de diversos fungos fitopatogênicos, podendo, ainda, induzir ou ativar o mecanismo de defesa da planta devido à presença de alicina (SOUZA; BLUM, 2013; ANTONIAZZI; DESCHAMPS, 2007).

Mentha piperita L. pertence à família Lamiaceae sendo popularmente conhecida como hortelã-comum ou hortelã-verde. É uma planta herbácea e perene, podendo atingir até 60 cm de altura possuindo folhas pubescentes e aromáticas (LORENZI; MATTOS, 2008; DESCHAMPS et al., 2008; GARLET, 2007).

As espécies da família Lamiaceae, pelo rico grau em óleos essenciais, têm sido grandemente pesquisadas e estudadas tanto sob o ponto de vista agrônomo quanto químico, não somente pelo fato de potencializar seu conteúdo em óleo essencial, como também à variação dos constituintes importantes desses óleos (MARTINS, 1998; VALMORBIDA et al., 2006). Quimicamente, os 18 óleos essenciais de *Mentha* sp. apresentam uma grande diversidade, entretanto são os monoterpenos (mentol, mentona, carvona, linalol e acetato de linalila) os componentes de maior valor econômico (GARLET et al., 2007; SANTOS et al., 2012; DESCHAMPS et al., 2013).

Cymbopogon nardus L., popularmente conhecida como citronela, é uma planta pertencente à família Poaceae, perene, cultivada em regiões tropicais e reconhecida por suas propriedades aromáticas. O cultivo no Brasil é muito importante para o mercado de produtos naturais, sendo este óleo muito utilizado como repelente, na indústria cosmética e farmacêutica (ROCHA; MING; MARQUES, 2000).

O óleo essencial de citronela contém componentes como citronelal (cerca de 40%), geraniol e limoneno (PEREIRA, 2008). A substância, citrionelol, apresenta uma excelência como aromatizante e repelente de insetos, ademais apresenta ação antimicrobiana local e acaricida (MATTOS, 2000). Sua fungitoxicidade deve-se à presença de monoterpenos e sesquiterpenos. A produção desses metabólicos secundários pode variar com as relações ecológicas e genéticas da planta (OOTANI et al., 2011; CASTRO et al., 2010).

Tagetes patula L. ou “cravo de defunto”, pertencente à família Asteraceae, é uma planta herbácea anual, possuindo caule baixo, de 20-30 cm de altura, de folhagem de coloração verde escura e com cheiro característico. Suas flores estão dispostas em capítulos simples ou dobrados, solitários, as quais podem apresentar três tonalidades: amarelo, alaranjado e marrom-avermelhado (LORENZI; SOUZA, 1995).

Das folhas, flores e sementes de *T. patula* extrai-se o óleo essencial, rico em terpenoides, flavonóides, alcalóides, tiofenos e ácidos graxos entre outro. Além de ornamental, apresenta propriedades nematicida, inseticida, bactericida, fungicida, sendo também utilizada como planta medicinal e como corantes de alimentos (VASUDEVAN; KASHYAP; SHARMA, 1997).

Na literatura tem-se verificado o registro da eficiência de extratos vegetais obtidos de diversas espécies botânicas, como é o caso do alho, hortelã, citronela e cravo-de-defunto, na promoção da inibição do desenvolvimento de vários fitopatógenos de natureza fúngica (Tabela 2).

Tabela 2 - Relatos, na literatura, que comprovam a atividade antifúngica das plantas *Allium sativum*, *Mentha* ssp., *Cymbopogon nardus* e *Tagetes patula*.

Planta de Origem do Extrato	Fungos fitopatogênicos inibidos	Referência
<i>Allium sativum</i>	<i>Colletotrichum musae</i>	Almeida et al. (2006)
	<i>Colletotrichum acutatum</i>	Almeida et al. (2009)
	<i>Elsinoe ampelina</i>	Botelho et al. (2009)
	<i>Sclerotium cepivorum</i>	Lozano et al. (2000)
	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Alves (2008)
	<i>Fusarium proliferatum</i>	Souza et al. (2007)
	<i>Fusarium oxysporum</i>	Morais et al. (2010)
<i>Mentha</i> ssp.	<i>Fusarium solani</i>	Venturoso et al. (2011)
	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Carnelossi et al. (2009)
	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. flavus</i>	Pereira et al. (2006)
	<i>Rhizopus solani</i> , <i>Alternaria solani</i> , <i>A. alternata</i> , <i>Rhizopus</i> sp., <i>Aspergillus flavus</i> e <i>A. niger</i>	Hussain et al. (2010)
	<i>Fusarium moniliforme</i>	Diniz et al. (2008)
<i>Cymbopogon nardus</i>	<i>Fusarium solani</i>	Perreira et al. (2006)
	<i>Sclerotinia</i> sp.	Diniz et al. (2008)
	<i>Colletotrichum coffeicola</i>	Pereira et al. (2011)
	<i>Cereus jamacaru</i>	Mata et al. (2009)
	<i>Phakopsora pachyrhizi</i>	Medice (2007)
	<i>Pyricularia grisea</i>	Perini et al. (2011)
<i>Tagetes patula</i>	<i>Fusarium subglutinans</i>	Seixas et al. (2011)
	<i>Botrytis cinerea</i> e <i>Penicillium digitatum</i>	Romagnoli et al. (2005)
	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	Didwania et al. (2013)
	<i>Sitophilus zeamais</i>	Santos et al. (2016)

Confome descrito na Tabela 2, existe pesquisas relacionando os efeitos alelopáticos dos extratos vegetais das mais variadas espécies de plantas e seus efeitos sobre fitopatógenos, porém

pouco se sabe sobre esses efeitos em relação a comunidade microbiana edáfica, em especial aos fungos micorrízicos.

3.5 Efeitos de extratos vegetais na microbiota do solo

Os extratos vegetais são muito utilizados para o controle de pragas e doenças, principalmente no período de conversão agroecológica de áreas de cultivo convencional (FERNANDES; LEITE; MOREIRA, 2008). No entanto, a utilização desses extratos se dá, principalmente, no contexto de simples substituição de insumos (ROSSET; ALTIERI, 1997), o que pode igualmente desencadear problemas ambientais e para o homem. Em muitos casos, assume-se que estes produtos são inócuos. No entanto podem apresentar ação antimicrobiana e pouco se sabe sobre o efeito destas sobre o ambiente, especialmente sobre a microbiota do solo (TEIXEIRA et al., 2017).

O solo é frequentemente descrito como um componente complexo, vivo e em transformação dentro de um agroecossistema (GLIESSMAN, 2009). Os organismos do solo, também denominados biota do solo, englobam todos os grupos de microrganismos como fungos, bactérias e actinomicetos e, podem ser classificados em micro, meso e macrofauna (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). No solo, os microrganismos representam a parte viva e mais ativa de sua matéria orgânica, sendo os responsáveis por processos importantes como a ciclagem biogeoquímica de nutrientes e energia, a decomposição de matéria orgânica, produção de húmus, intemperização de minerais, fixação biológica do nitrogênio, solubilização de nutrientes, formação da matéria orgânica e estrutura do solo, produção de fitos-hormônios, decomposição dos xenobióticos e controle biológico de pragas e antagonistas do solo (BRUSSAARD et al., 2007; CARDOSO; ANDREOTE, 2016). Assim, os processos microbianos são de fundamental importância para o funcionamento dos sistemas ecológicos de produção, executando funções diretamente relacionadas com sua produtividade e sustentabilidade (DE-POLLI; PIMENTEL, 2005).

Como componente mais dinâmico do solo, a comunidade microbiana pode ser afetada diferentemente pelas práticas de manejo e alterações ambientais (TÓTOLA; CHAER, 2002). Desta forma, a resposta das populações microbianas do solo à aplicação de produtos alternativos pode servir de indicador do efeito destes extratos no ambiente (TEIXEIRA et al., 2017). Os atributos microbianos do solo, tais como a diversidade de microrganismos, atividade enzimática, biomassa microbiana do solo, nitrogênio mineralizável, respiração basal do solo, o quociente microbiano e o quociente metabólico são indicadores sensíveis que podem ser utilizados no

monitoramento de alterações ambientais decorrentes do uso agrícola (EPELDE et al., 2014; FERREIRA et al., 2010; FERREIRA; WENDLAND; DIDONET, 2011).

A biomassa microbiana é definida como o componente vivo da matéria orgânica do solo (VANCE et al., 1987) excluindo-se a macrofauna e as raízes das plantas. A proporção de células microbianas vivas contendo carbono geralmente compreende de 1 a 5 % do carbono orgânico total (COT) enquanto para o nitrogênio compreende de 1 a 6 % do nitrogênio total (NT) (ARAÚJO et al., 2012).

A biomassa microbiana controla funções importantes no solo, como a decomposição e o acúmulo de matéria orgânica, ou transformações envolvendo os nutrientes minerais. Representa, ainda, uma reserva considerável de nutrientes, os quais são continuamente assimilados durante os ciclos de crescimento dos diferentes organismos que compõem o ecossistema (ARAÚJO; MONTEIRO, 2007). Consequentemente, os solos que mantêm alto conteúdo de biomassa microbiana são capazes não somente de estocar, mas também de ciclar nutrientes de forma mais eficiente (GREGORICH et al., 1994).

A respiração ou atividade microbiana é um dos atributos que representa a oxidação da matéria orgânica por organismos aeróbicos do solo, ou seja, que usam o O₂ como acceptor final de elétrons até CO₂. A partir dos dados de respiração e a biomassa microbiana pode-se calcular o quociente metabólico $q\text{CO}_2$ liberado por unidade de C microbiano ($\mu\text{g C-CO}_2$ liberado g^{-1} mg de C-biomassa h^{-1}) (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Pesquisas demonstram que esse índice pode auxiliar na avaliação da qualidade dos solos, pois indica o nível de estresse da biomassa microbiana, que apresentará quocientes metabólicos mais altos, indicando maior consumo de energia para sua sobrevivência (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Por outro lado, em ecossistemas estáveis, onde predominam condições favoráveis, há tendência de aumento da biomassa microbiana e, em consequência, o $q\text{CO}_2$ tende a diminuir (POWLSON et al., 1987). Segundo Araújo e Monteiro (2007), durante um estresse na biomassa microbiana, haverá direcionamento de mais energia para a manutenção celular, em lugar do crescimento, de forma que uma proporção de carbono da biomassa será perdida como CO₂.

Portanto, indicadores microbiológicos são ferramentas bastante úteis no monitoramento da poluição do solo. Texeira et al. (2017) concluíram que a aplicação de extratos vegetais modificou o padrão de respiração microbiana do solo interferindo no metabolismo dos microrganismos, tendo os extratos de alho, pimenta e sabão e de fumo desencadeados estresse mais pronunciado nas populações microbianas.

Apesar do crescente interesse em alternativas naturais para o controle de pragas e doenças agrícolas, trabalhos sobre o impacto de diferentes extratos vegetais na biomassa e atividade microbiana dos solos são poucos. Estudos relacionando com os efeitos causados por compostos aleloquímicos é fundamental para uma agricultura mais consciente de seus impactos, visando o desenvolvimento de tecnologia de produção sustentável.

3.6 Fungo fitopatogênico *Fusarium* sp.

Microrganismos fitopatogênicos são aqueles que, assim como endófitos, habitam o interior dos tecidos vegetais. Estes, por sua vez, habitam o interior da planta, mas não causam danos aparentes ao hospedeiro (HALLMANN et al., 1997). No entanto, os microrganismos denominados como fitopatogênicos, diante de estresses bióticos e abióticos, tornam-se patógenos e causam doenças nas plantas por meio de distúrbios em seu metabolismo celular (BOMFIM et al., 2013).

Doenças em plantas causadas por fungos são responsáveis por perda de 10% na produção agrícola mundial, o que causa grande impacto na economia (STRANGE; SCOTT, 2005; BRZEZINSKA, 2014). Dentre os fungos de grande importância para a agricultura mundial encontra-se os do gênero *Fusarium* sp., não só por causar patologias em plantas, mas também, porque algumas espécies produzem toxinas como tricotecenos, fumonisinas, zearalenona, moniliformina e o ácido fusárico (TINOCO, 2010).

Esse gênero exibe alto grau de diversidade em relação a atributos morfológicos, fisiológicos e ecológicos podendo ser encontrado nas mais diversas regiões geográficas do mundo (BURGESS et al., 1997). Esse patógeno ocorre, especialmente, em locais de climas tropicais e subtropicais e é capaz de sobreviver por longos períodos no solo pela formação de estruturas chamadas clamidósporos. O fungo pode colonizar ramos, folhas, inflorescências e frutos através de seus conídios, que são disseminados pelo ar, pela água, equipamentos agrícolas, pela complexidade do sistema solo e pela diversidade de espécies existentes nesse ambiente (MILANESI, 2009).

Espécies de *Fusarium* sp. são associadas a doenças de grande importância como: *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, causador do mal-do-panamá em bananeira; *Fusarium solani* causador da podridão do caule em café, da podridão de fusário em *Citrus* sp. e da podridão-radicular-vermelha em soja; *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* causador da murcha-do-fusário em feijão, *Fusarium oxysporum* f.sp. *glycines* causador da murcha-do-fusário em soja, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* causador da murcha-do-fusário em tomateiro (MICHEREFF; ANDRADE; MENEZES, 2005).

Como vários outros fitopatógenos, *Fusarium oxysporum* tem várias f. spp. que infectam muitos hospedeiros causando diversas doenças. *F. oxysporum* é uma espécie com considerável variação morfológica e fisiológica. O interesse nesses fungos surge por causa de sua habilidade em causar doenças de importância econômica na planta hospedeira (ARMSTRONG e ARMSTRONG, 1981).

Os sintomas da doença caracterizam-se pela clorose e queda prematura de folhas, redução do crescimento e, finalmente, murcha e morte das plantas. A murcha é mais comum na fase reprodutiva da planta, podendo ocorrer também em plantas jovens, que em determinadas situações apresentam um rápido murchamento que precede a morte da planta (POLTRONIERI; TRINDADE; SILVA, 1994). Os tecidos vasculares adquirem coloração castanha escura e pode haver formação de intumescências na parte mais baixa do caule.

Pesquisas relacionadas ao uso de extratos e/ou óleos essenciais têm demonstrado a viabilidade de utilização destes produtos naturais para o controle de doenças causadas pelo fungo do gênero *Fusarium* sp. Souza et al. (2007) constataram que os extratos de alho e capim-santo reduziram a taxa de crescimento micelial e a germinação dos esporos, como também a incidência de *Fusarium proliferatum* em grãos de milho, aumentando a germinação das sementes e também controlando o tombamento e a podridão do colmo das plântulas.

Morais et al. (2010) determinaram os efeitos fungistáticos dos extratos de alho e agave sobre o fungo *Fusarium oxysporum* S. Os extratos inibiram a germinação de conídios e o crescimento micelial do fungo na medida em que se aumentaram as concentrações, tornando o efeito fungitóxico mais evidente. Os autores também observaram na cultura de feijão-vagem, em solo não estéril, menor incidência de plântulas afetadas quando tratadas com extratos de alho e agave um dia após o plantio. Venturoso et al. (2011) também verificaram *in vitro* atividade antifúngica aos fitopatógenos *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Colletotrichum* sp., *Phomopsis* sp., *Fusarium solani* e *Cercospora kikuchii*, apenas com a utilização dos extratos aquosos de cravo-da-índia, alho e canela. Dado parecido também foi verificado por Oliveira (2008), em experimento avaliando o manejo pré e pós-colheita da fusariose em abacaxi, que o extrato hidroalcoólico de alho mostrou-se eficiente na diminuição da esporulação de *Fusarium subglutinans* nos frutos, independentemente de sua concentração.

Estudos realizados por Diniz et al. (2008) demonstraram que o óleo essencial de hortelã, em concentração de 100 µL, foi capaz de inibir em 100% o desenvolvimento dos fungos *Aspergillus* sp., *Penicillium rubrum*, *Sclerotinia* sp., *Fusarium moniliforme* e *Corynespora cassiicola*. Perreira et al. (2006) encontraram resultados parecidos, onde o óleo essencial de hortelã inibiu o desenvolvimento micelial do fungo *Fusarium* sp. Nas concentrações de 500 e

1000 mg/mL Hussain et al. (2010) observaram elevada ação fungitóxica do óleo essencial de hortelã-pimenta sobre o desenvolvimento do fitopatógeno *Fusarium solani*.

Seixas et al. (2011) concluíram que o óleo essencial de citronela, nas alíquotas de 15, 20 e 25 µL, reduziu em 100% o crescimento micelial do fungo *Fusarium subglutinans*, aos 2 e 4 dias após repicagem.

Dessa forma, já tem sido bem relatada na literatura o efeito negativo de diversos extratos vegetais no controle de fungos e, indiretamente, na ocorrência de doenças.

3.7 Efeitos de extratos vegetais nos FMA

Micorrizas arbusculares (MA) são associações simbióticas entre fungos pertencentes ao filo Glomeromycota e raízes de plantas da maioria dos gêneros das Gimnospermas e Angiospermas, e alguns representantes das Briófitas e Pteridófitas. Essa simbiose entre plantas e microrganismos heterotróficos são umas das inter-relações biológicas estabelecidas no solo (SPATAFORA et al., 2016; SMITH; READ, 2008; SCHÜBLER; SCHWARZOTT; WALKER, 2001; MORTON; BENNY, 1990).

Entre os diferentes tipos de associações micorrízicas encontradas, 80% são formadas por espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Estes microrganismos interagem com as plantas formando associações simbióticas mutualísticas, onde a planta disponibiliza ao fungo compostos fotoassimilados que permitem seu crescimento e reprodução, enquanto que o fungo provê uma gama de serviços às plantas, destacando-se o incremento na nutrição mineral (especialmente P e N), viabilizando maior crescimento e produtividade, além da proteção contra patógenos, resistência à seca e ao estresse por poluentes no solo. Além das vantagens diretas para a planta, esses fungos também influenciam nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo (BERBARA; SOUZA; FONSECA, 2006; SMITH; READ, 1997; SOUZA et al., 2006; CARDOSO et al., 2010).

Através das hifas e micélios do FMA, a planta consegue realizar a absorção de nutrientes fora da zona de esgotamento do sistema radicular (região que surge devido à maior absorção de nutrientes pelas raízes), promovendo aumento da atividade biológica além do sistema radicular das plantas devido à manutenção de condições favoráveis neste ambiente e pela exsudação promovida pelos micélios (SCHÜBLER, 2002). A melhor ramificação do sistema radicular das plantas, em consequência da massa de micélios formada, é um parâmetro morfológico acentuado em raízes micorrizadas (ATKINSON; BERTA; HOOKER, 1994; BERTA et al., 1995) o que resulta em melhoria de absorção de nutrientes do solo e fornecimento de fontes de carbono da

planta para o FMA, garantindo a manutenção da MA (GRIGERA; DRIJBER; WIENHOLD, 2007).

A simbiose entre FMA e raízes de plantas é obrigatória para que esses fungos completem o seu ciclo de vida (BENTIVENGA et al., 2013). Durante a simbiose, ocorre a formação dos arbúsculos, uma estrutura característica e diferenciada, que se desenvolve entre a parede celular e a membrana plasmática da célula vegetal e é responsável pela maioria das trocas que acontecem entre o fungo e a planta (SOUZA et al., 2006).

A colonização das raízes pelos FMA ocorre através de três possíveis fontes de inóculos: esporos, fragmentos de raízes colonizadas e hifas presentes no solo (SMITH; READ, 2008). As hifas formam estruturas de penetração nas raízes do tipo apressório, onde através de uma degradação parcial da parede celular das células radiculares, ocorre a penetração das hifas, e posterior colonização das células do córtex, onde são formados os arbúsculos, que são consideradas as estruturas responsáveis por suprir o fungo com o carbono e os fotoassimilados da planta, e onde a planta obtém os nutrientes e a água retirados do solo pelo fungo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). As vesículas são estruturas globosas ou elípticas, que armazenam lipídeos e glicogênio, e servem como órgãos de reserva para o fungo, e podem ser formadas dentro ou entre as células do córtex das raízes (Figura 1).

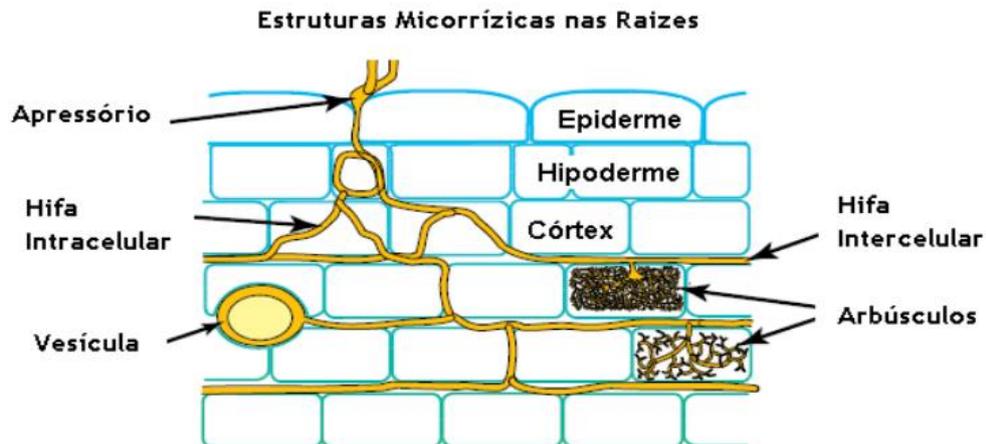


Figura 1 - Representação esquemática das estruturas dos FMA nas raízes.

Os FMA reproduzem-se, principalmente, de forma assexuada por clonagem de seus esporos, denominados de glomerosporos (GOTO; MAIA, 2006), que constitui sua principal via de propagação (SOUZA et al., 2010). Se os glomerosporos são as estruturas fundamentais para o início do ciclo de vida dos FMA, a germinação e o crescimento das hifas constituem as

principais etapas no processo de estabelecimento da simbiose e de sobrevivência desses fungos (MAIA; SILVA; GOTO, 2010).

Os esporos são considerados bons indicadores de processos ecológicos e da influência antrópica sobre as comunidades de FMA, já que suas presenças nos ambientes indicam uma colonização radicular eficaz, embora não se façam presentes durante todo o ciclo de vida do fungo (SOUZA; SILVA; BERBARA, 2008).

Considerando as diversas inter-relações ecológicas entre fungo-planta-ambiente, das quais os FMA são parte integrante, e que tais interações estão estritamente relacionadas, é de se supor que os FMA sofram grande influência de fatores ambientais externos (Tabela 3), afetando direta e indiretamente na sua formação, funcionamento e ocorrência. Alguns fatores que influenciam a diversidade, ocorrência e eficiência da simbiose dos FMA são as condições ambientais, como a temperatura (MCGONIGLE; MILLER, 1999), a umidade (OLIVEIRA FILHO; CARVALHO, 1993), além da relação genótipo-hospedeiro (MELLONI; SIQUEIRA; MOREIRA, 2003), as quais podem atuar nos propágulos fúngicos. Outras condições que afetam a colonização das raízes e a produção de esporos de FMA são a utilização de fertilizantes e agrotóxicos, intensidade de luz e defoliação, pois reduzem o suprimento de carbono pela diminuição da fotossíntese (CAVALCANTE; GOTO; MAIA, 2009).

Tabela 3 - Fatores que influenciam na formação e na ocorrência de FMA.

Componente	Principais Fatores
Solo	Disponibilidade de nutrientes, pH, elementos tóxicos, salinidade, textura, estrutura e agregação, densidade, umidade e organismos.
Hospedeiro	Espécies, variedade, cobertura vegetal, estado nutricional, idade, ciclo e taxa de crescimento, alelopatia, sistema radicular, exsudação e senescência.
Ambiente	Intensidade luminosa, temperatura, sazonalidade, precipitação, poluição atmosférica e do solo e estresses diversos.
Manejo	Histórico da área, tipo de cultivo, erosão, irrigação, fertilizantes e corretivos, controle de ervas daninhas, pastejo, mudanças na vegetação e agrotóxicos.

Fonte: Moreira e Siqueira (2006).

Poucos estudos sobre a influência dos metabólitos secundários no desenvolvimento de fungos micorrízicos vêm sendo conduzidos com o objetivo de verificar se há bioestimulação dessas substâncias na germinação dos esporos, no crescimento dos FMA nos tecidos internos das

raízes, na formação de micélio extra-radicular e no estabelecimento de simbiose (STEFFEN et al., 2012; BAINARD; BROWN; UPADHYAYA, 2009; FARIA et al., 2009).

A manutenção de uma comunidade de FMAs diversa e ativa na rizosfera das plantas é importante para a sustentabilidade dos agrossistemas (BETHLENFALVAY; LINDERMAN, 1992). Em áreas onde ocorre a aplicação de compostos químicos de origem natural, a comunidade micorrízica pode ser afetada, tornando-se importante conhecer as espécies vegetais a serem escolhidas no controle fitossanitário dessas áreas, visto que sua utilização pode alterar as características químicas, físicas e microbiológicas do solo. Tal preocupação foi a linha mestre do desenvolvimento deste trabalho.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta do material vegetal

Para a obtenção dos extratos, folhas frescas de *Mentha spicata* L. (hortelã-comum) e *Tagetes patula* L. (cravo-de-defunto), partes aéreas de *Cymbopogon nardus* L. (citronela) e bulbos de *Allium sativum* L. (alho), foram coletados em janeiro de 2019 pela manhã, com o objetivo de eliminar o efeito temporal sobre o teor das substâncias bioativas sintetizadas pelas plantas (SILVA et al., 1999), em uma propriedade de produção orgânica situada na zona rural de Itajubá-MG (coordenadas: latitude 22°22'35.6" S e longitude 45°33'27.7" W). As folhas e os bulbos foram submetidos à triagem visível com a finalidade de selecionar amostras íntegras (ausência de fungos, degradação por insetos, entre outros) e encaminhadas ao Centro de Estudos em Qualidade Ambiental (Cequam), na Universidade Federal de Itajubá, para o processamento.

O material vegetal foi lavado com água corrente e disposto sobre papel toalha em uma bancada para secagem, por um período de 12 horas. Em seguida, as folhas e os bulbos (sem casca) foram colocados em sacos de papel kraft e permaneceram em estufa de ventilação forçada a 45 °C até peso constante. Este procedimento minimiza as reações enzimáticas (hidrólise de glicosídeos, por exemplo) que ocorrem com o tempo. As amostras foram trituradas separadamente em um moinho de facas até a obtenção de um pó fino e armazenado em frascos de vidro herméticos, em temperatura ambiente, para utilização em todos os ensaios (COSTA et al., 2005). Nesta etapa, ocorre a ruptura de estrutura bruta do material, de forma que o torna mais homogêneo e com maior área superficial, permitindo uma melhor penetração do solvente e, conseqüentemente, uma maior eficiência na etapa seguinte de extração (PEREIRA et al., 2016).

4.2 Obtenção dos extratos vegetais

Para a obtenção do extrato aquoso, foram adicionados 100 mL de água destilada sobre 10 g de biomassa seca para resultar no extrato aquoso bruto (10% m/v), permanecendo por 24 h em temperatura ambiente e ao abrigo da luz, agitado 1 vez ao dia. Após esse período, foi realizada a filtração em papel filtro. O extrato resultante foi recolhido em um béquer e, a partir dele, foram feitas diluições em água destilada para 10,0, 7,5, 5,0 e 2,5% m/v (Figura 2) (UHLMANN; OLIVEIRA; SANTOS, 2018; GRISE et al., 2012). Os extratos aquosos, em todos os ensaios, foram utilizados no mesmo dia da filtração, permanecendo em refrigeração até o momento da aplicação.



Figura 2 - Processo de obtenção do extrato bruto aquoso das folhas de *Mentha spicata*, *Tagetes patula*, *Cymbopogon nardus* e bulbos de *Allium sativum*.

Fonte: o autor (2019).

4.3 Amostra de solo

As amostras de solo utilizadas neste estudo tiveram origem de um Argissolo vermelho distrófico latossólico de textura argilosa e média. Esse material foi coletado nas seguintes coordenadas: latitude 22°24'18.93" S e longitude 45°25'42.18" W, altitude 889 metros, em mediações do perímetro urbano da cidade de Itajubá-MG. As análises das amostras do solo foram realizadas para determinar sua composição química (Tabela 4). Esse solo foi escolhido por ser característico da região de Itajubá-MG.

Tabela 4 - Caracterização química da amostra de solo utilizada na composição do experimento.

pH	K	P	Na	Ca	Mg	Al	H + AL
	----- (mg/dm ³) -----			----- (cmol./dm ³) -----			
4,77	36,18	1,62	-	0,45	0,23	1,36	8,56

SB	t	T	V	m	Matéria Orgânica	P remanescente
	----- (cmol./dm ³) -----		----- (%) -----		(dag/kg)	(mg/L)
0,77	2,13	9,33	8,46	63,85	2,30	19,53

As amostras de solo foram coletadas a uma profundidade entre 0-10 cm, logo abaixo da camada de vegetação que compunha o local da coleta. Em seguida, esse material foi peneirado em partículas de tamanho inferior a 2,0 mm e submetido à refrigeração ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) para a manutenção da umidade correspondente ao momento da coleta. É importante ressaltar que foi necessário processar essa amostra de solo recém-coletado imediatamente, para fins de

determinação de umidade e posterior conservação a $\pm 4^{\circ}\text{C}$. A determinação da umidade de solo é essencial para atividade microbiana, biomassa e coeficiente metabólico.

4.4 Avaliação do efeito dos extratos vegetais na atividade microbiana, biomassa e coeficiente metabólico

Para esse ensaio foram utilizados os extratos aquosos de alho, hortelã, citronela e cravo-de-defunto nas concentrações de 2,5, 5, 7,5 e 10,0% m/v em duas etapas, conforme metodologia proposta por Ferreira, Camargo e Vidor (1999): uma onde as amostras de solo não foram submetidas à irradiação por micro-ondas e outra, quando estas foram irradiadas.

Para as amostras não irradiadas, foram pesados 40,0 g do material em frascos de vidro com capacidade para 1,0 L, as quais receberam, individualmente, 1,0 mL da solução que continha os extratos para cada concentração empregada. Foram utilizadas quatro repetições por tratamento. Um conjunto de quatro amostras de solo foram mantidas sem os extratos (dose 0), na qual se adicionou 1,0 mL de água destilada, visando assim, manter as mesmas condições de umidade para todas as amostras não irradiadas. Um controle também foi preparado em quadruplicada e o que o diferia das outras amostras é que os seus respectivos frascos de vidro não apresentavam as amostras de solo em seu interior (para descontar o CO_2 presente na amostra de ar interno).

Em seguida, um béquer de 50,0 mL de plástico foi introduzido nos frascos de vidro e, no interior destes béqueres, foram adicionados 10,0 mL de uma solução de NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, visando a captação do CO_2 liberado pela biomassa presente nas amostras de solo. A partir daí esses frascos foram fechados e lacrados usando fita adesiva transparente (Figura 3).



Figura 3 - Esquema apresentando as etapas do preparo das amostras não irradiadas para o ensaio de determinação de atividade e biomassa microbianas.

Fonte: o autor (2019).

Já para o preparo das amostras irradiadas, pesaram-se, primeiramente, 40,0 g deste material em uma placa de Petri de massa conhecida ($P1$) para, em seguida, submetê-la à radiação infravermelha máxima (2450 MHz) no interior de um micro-ondas por um período de 2 minutos (FERREIRA; CAMARGO; VIDOR, 1999). Após esse procedimento, aguardou-se esse material chegar à temperatura ambiente para ser novamente pesado ($P2$), visando assim, obter o valor, em massa de água, que as amostras de solo perdiam com o processo de irradiação por micro-ondas ($P3$). A partir desses resultados, foi possível calcular, por meio da fórmula 1, de forma isolada, quanto em massa de água foi novamente ser reintroduzida em cada amostra de solo, mantendo, assim, a umidade relativa de todas as amostras (irradiadas ou não) ao conduzir o ensaio.

$$P1 + P2 = P3 \quad (1)$$

Onde:

$P1$ = é o peso da placa de Petri (Po) somado ao peso da amostra de solo (PA)

$P2$ = é o peso da placa de Petri com a amostra de solo após a fumigação

$P3$ = é o peso de água estimado, em gramas, que a amostra de solo perdeu

Como a densidade da água é $1,0 \text{ g/cm}^3$ a 25°C , a partir deste dado foi possível converter $P3$ em volume e verificar quanto de água deveria ser adicionado em cada uma das amostras.

Após fazer o ajuste da umidade nos frascos de vidro, foi necessário adicionar aos mesmos 2,0 g de amostra de solo, agora com a finalidade de inocular esse material que deve estar livre de organismos após a irradiação. A partir daí, foram seguidos os mesmos procedimentos aplicados anteriormente nas amostras não irradiadas quanto ao número de repetições, emprego de soluções de mesma concentração dos extratos, utilização de quatro amostras não enriquecidas, à colocação dos béqueres no interior dos frascos de vidro, adição de $\text{NaOH } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$ aos béqueres, vedação dos recipientes e uso de quatro controles (Figura 4).



Figura 4 - Esquema apresentando as etapas do preparo das amostras irradiadas para o ensaio de determinação de atividade e biomassa microbianas.

Fonte: o autor (2019).

Estando todos os frascos de vidro devidamente vedados (amostras de solo não irradiadas, irradiadas e controles), os mesmos foram levados a uma incubadora, onde permaneceram, na ausência da luz, por um período de 14 dias a 28 °C (Figura 5).



Figura 5 - Frascos de vidro na câmara de incubação.

Fonte: o autor (2019).

Passado esse intervalo de incubação, retiraram-se os recipientes e, em seguida, os seus respectivos béqueres, anteriormente preenchidos com uma solução de NaOH 1,0 mol L⁻¹, receberam 5,0 mL de uma solução de BaCl₂ 1,0 mol L⁻¹, com o objetivo de estabilizar o titulado e, ao final, adicionou-se uma gota de solução alcoólica de fenolftaleína 1%, como indicador. A titulação foi realizada sob agitação, com o uso de um agitador magnético sem aquecimento e uma

bureta graduada de 10,0 mL preenchida com uma solução de HCl 1,0 mol L⁻¹ padronizada (Figura 6).



Figura 6 - Esquema apresentando as etapas da titulação com HCl 1,0 mol L⁻¹.
Fonte: o autor (2019).

A liberação de CO₂ retida na solução de NaOH 1,0 mol L⁻¹ foi calculada pela fórmula 2 (STOTZKY, 1965), visando assim, determinar a atividade microbiana (que corresponde à respiração basal nas amostras não irradiadas e irradiadas).

$$\text{mg CO}_2 = (B - V) \times M \times E \quad (2)$$

Onde:

B = o volume de HCl necessário para titular o excedente de NaOH da prova em branco;

V = o volume de HCl necessário para titular o excedente da amostra;

M = a molaridade do HCl 1,0 mol L⁻¹;

E = o peso equivalente do carbono.

Chegaram-se aos valores do carbono (C) presentes na biomassa microbiana por meio da fórmula 3, sendo que o C foi determinado após à relação C/CO₂.

$$C_{mic} = (CI - CNI) / KC = \mu\text{g g}^{-1} \text{ de C no solo} \quad (3)$$

Onde:

C_{mic} = carbono presente na biomassa microbiana do solo;

CI = carbono presente na amostra fumigada ou irradiada;

CNI = carbono presente na amostra não fumigada ou não irradiada;

Kc = fator de conversão de 0,45 (DE-POLLI; GUERRA, 1996).

E, finalizando os cálculos, o quociente metabólico (qCO_2) foi obtido por meio da fórmula 4.

$$qCO_2 = mg CO_2 / C_{mic} \quad (4)$$

Onde:

$mg CO_2$ = atividade microbiana;

C_{mic} = carbono da biomassa microbiana (FERREIRA; CAMARGO; VIDOR, 1999).

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($p < 0,05$) (SHAPIRO; WILK, 1965) e à análise de variância (ANOVA), utilizando-se o *software* SISVAR, versão 5.3 (FERREIRA, 2011). Posteriormente, os valores foram comparados pelo teste de Scott-Knott a $p > 0,05$ e realizadas análises de regressão, pelo mesmo *software*. Para os dados que não seguiram o pressuposto da normalidade, aplicou-se a transformação $\sqrt{x+0,5}$ (STORCK et al., 2016).

4.5 Avaliação da atividade antifúngica dos extratos vegetais

O isolado de *Fusarium oxysporum* foi obtido na Universidade Federal de Lavras (UFLA), no Departamento de Fitopatologia. Após a obtenção do isolado, discos de 5 mm do fungo foram repicados em meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) para obtenção de cultura pura. Em seguida, as placas foram identificadas e levadas em incubação em câmara de crescimento, com fotoperíodo de 12, sob temperatura de $25^\circ C \pm 2^\circ C$, por 10 dias, onde permaneceram até a condução do experimento.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 4 x 2 sendo quatro extratos aquosos (alho, citronela, hortelã e cravo-de-defunto) e duas concentrações de cada extrato (0 e 10,0%) onde a concentração 0 corresponde ao tratamento controle. Foram usadas quatro repetições para avaliação do crescimento micelial onde cada repetição foi constituída por uma placa de Petri.

Os extratos obtidos conforme o item 4.2. foram esterilizados por filtração em membrana Millipore de 0,22 mm de diâmetro e incorporados em meio de cultura BDA já autoclavado e semi-fundentes para obter a concentração de 10%. Os meios de cultura contendo os extratos foram vertidos de placas de Petri e, após a sua solidificação, um disco de micélio (5 mm de diâmetro) do fitopatógeno, com 8 dias de idade, retirados de colônias puras, foi repicado para o centro de cada placa, que foram vedadas com filme plástico e colocadas em câmara de incubação a uma temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas. O tratamento controle foi representado pelo cultivo dos discos de micélio do fungo em meio de cultura puro.

As avaliações foram realizadas por meio da medição do diâmetro das colônias (mm) (média de duas medidas diretamente opostas) com um paquímetro manual no sentido horizontal e vertical da colônia a cada 48 horas, a partir da instalação do experimento, perdurando até três avaliações (2, 4 e 6 dias de incubação), ou seja, até o momento em que as colônias fúngicas do tratamento testemunha atingiram toda a superfície do meio de cultura (7 dias após a montagem do teste). A partir dos dados obtidos foi determinada a percentagem de inibição do crescimento micelial (PICM) por meio da fórmula 5, para cada tratamento, em relação ao tratamento controle (CELOTO, 2005).

$$\text{PICM} = [(DTE - DTR) / DTE] \times 100 \quad (5)$$

Onde:

DTE = diâmetro da testemunha;

DTR = diâmetro do tratamento.

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk ($p < 0,05$) (SHAPIRO; WILK, 1965) e à análise de variância pelo teste F (ANOVA). As médias dos tratamentos foram comparadas por meio do teste de Scott-Knott a $p > 0,05$ de probabilidade e submetidas a uma regressão. As análises foram realizadas pelo programa SISVAR, versão 5.3 (FERREIRA, 2011).

4.6 Avaliação do extrato vegetal na colonização micorrízica

Para esse ensaio, os tratamentos constaram de duas espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMA), previamente identificados como *Gigaspora rosea* e *Rhizophagus clarus*. As espécies de FMA fazem parte da coleção da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Universidade de São Paulo, Departamento de Ciência do Solo, Laboratório de Microbiologia do Solo. A identificação destes fungos foi baseada em informações da Coleção

Internacional de Fungos Micorrízicos (Vesículo) Arbusculares disponíveis no *site* do INVAM (<http://invam.caf.wvu.edu/>), em conjunto com metodologias tradicionais que utilizam a morfologia do esporo, como presença ou ausência de características (por exemplo, tubo germinativo e células auxiliares), tipo de formação do esporo e estruturação de sua parede celular (GERDEMANN; TRAPPE, 1974; WALKER; SANDERS, 1986; MORTON; BENNY, 1990).

O experimento foi instalado e conduzido em casa de vegetação, com ventilação forçada de ar, sob temperatura controlada, na Universidade Federal de Itajubá. Foi empregado o delineamento inteiramente casualizado (DIC), organizado em esquema fatorial 1 x 5 sendo o fator 1 correspondente ao extrato vegetal que apresentou melhor atividade antifúngica (item 4.2) e o fator 2 correspondente às cinco doses do extrato (0, 2,5, 5,0, 7,5 e 10%), com quatro repetições por tratamento, totalizando 20 unidades experimentais. Foi montado um ensaio para cada espécie de FMA.

Cada unidade experimental foi composta por recipientes plásticos de 700 cm³, os quais tiveram seu volume preenchido por substrato composto por amostra de solo (mesmas amostras obtidas no item 4.3) e areia média, na proporção de 2:1, esterilizado em autoclave. A esterilização das amostras de solo que receberam a inoculação foi realizada em autoclave com elevada temperatura e pressão (121°C - 1atm) por uma hora, seguida de repouso da amostra em temperatura ambiente durante a noite. Este processo foi repetido por dois dias consecutivos.

Cada substrato foi infestado com 50 esporos de FMA, veiculado por porções de terra do material recebido, a 1,5 cm de profundidade. Posteriormente, cada recipiente plástico recebeu três sementes de milho orgânico (*Zea mays* L.) variedade BRS Caimbé, previamente desinfestadas com álcool a 70% e hipoclorito de sódio a 1%, de acordo com Lazarotto, Muniz e Santos (2010). Nessa pesquisa optou-se em utilizar sementes de milho orgânico por não apresentarem tratamento químico.

Foram aplicados 60 mL de solução nutritiva de Hoagland (Hoagland e Arnon, 1950) com 1/3 da dose de P. Foi aplicado baixa dose de fosforo, pois pequena quantidade desse elemento favorece a colonização e esporulação dos FMAs (FERNANDES et al., 1987). A umidade dos substratos foi mantida em torno de 60% da capacidade de campo, sendo a sua correção feita com água destilada após pesagens constantes. O número de sementes germinadas foi verificado 8 dias após a semeadura, quando foi realizado o desbaste para uma planta por vaso (Figura 7).

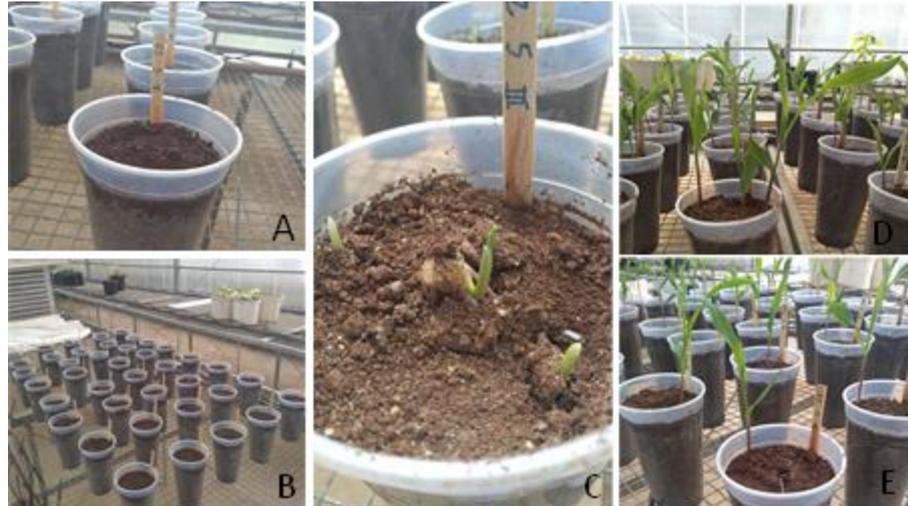


Figura 7 - Montagem do experimento. A- Recipiente plástico com três sementes de milho. B- Disposição dos recipientes plásticos na casa de vegetação. C- Germinação das sementes de milho. D- Plantas de milho com 8 dias. E- Recipientes com uma planta.
Fonte: o autor (2019).

O extrato vegetal, nas suas respectivas concentrações, foi aplicado sobre o substrato dos tratamentos correspondentes, com uma pipeta graduada, dez e trinta dias após o plantio. As plantas receberam 20 mL de extrato (Figura 8) (FARIA et al., 2009). Para o tratamento dose 0, foi aplicada água destilada.



Figura 8 - Aplicação do extrato de alho.
Fonte: o autor (2019).

As avaliações do experimento foram realizadas aos 45 dias após a infestação do substrato. Para a avaliação do crescimento vegetal do milho foram determinadas e analisadas as seguintes variáveis: altura da muda (cm), massa seca da parte aérea (mg) e massa da matéria fresca das raízes (mg).

A altura foi determinada com paquímetro, sendo obtida pela distância do colo da planta até a extremidade das últimas axilas foliares. Posteriormente, separou-se a parte aérea do sistema radicular das plantas, cortando-se com tesoura o colo da planta, rente à superfície do solo, e

acondicionadas, individualmente, em sacos de papel devidamente identificados. A matéria seca da parte aérea do milho foi determinada após secagem em estufa de circulação de ar forçado, à temperatura de 60 °C, onde permaneceram até peso constante (Figura 9).



Figura 9 - Acondicionamento, secagem e pesagem das amostras parte aérea do milho. A- Amostras identificadas. B- Secagem em estufa. C- Pesagem das amostras em balança analítica.
Fonte: o autor (2019).

A massa da matéria fresca das raízes do milho foi determinada pesando-se a raiz, após lavagem em água corrente (Figura 10).

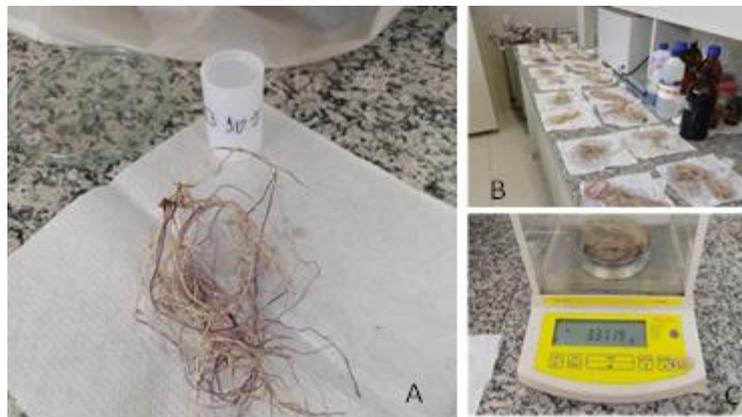


Figura 10 - Determinação da massa da matéria fresca da raiz. A- Secagem da raiz. B- Diferença visual no desenvolvimento das raízes. C- Pesagem da raiz em balança analítica.
Fonte: o autor (2019).

Após a pesagem da massa da matéria fresca das raízes, estas foram acondicionadas em frascos com álcool 70% identificadas e armazenadas à temperatura ambiente. Para a determinação da colonização radicular pelos FMA, foram determinadas intensidade e porcentagem de colonização micorrízica.

As raízes finas foram lavadas em água corrente para retirar o excesso de álcool, cortadas com o auxílio de um bisturi em pedaços de 1 cm, acondicionadas em cassetes plásticos identificados e imersas em solução de KOH 10%. As amostras permaneceram em banho-maria a 90 °C por 25 minutos.

As amostras de raízes foram removidas do banho-maria, lavadas em água corrente e cobertas com ácido acético 7% (CH₃COOH) por 3 minutos para acidificar, facilitando a posterior impregnação do corante “Triphan Blue”. Após o processo de clareamento, as raízes foram lavadas em água corrente em abundância para a remoção de todos os reagentes e posteriormente foram adicionadas em solução de azul de tripano 0,05%, ácido clorídrico 0,5% e glicerol, e fervidas em banho-maria a 90 °C por 2 minutos, observando-se a intensidade da coloração das amostras (Figura 11) (PHILLIPS; HAYMAN, 1970).



Figura 11 - Procedimento de coloração das raízes. A- Acondicionamento das raízes em cassetes. B- Aquecimento em solução de KOH 10% a 90 °C em banho-maria. C- Coloração em solução de azul de tripano 0,05%, ácido clorídrico 0,5% e glicerol.

Fonte: o autor (2019).

Ao retirar as amostras do banho maria, o excesso de corante foi descartado e as amostras de raízes coradas foram armazenadas em tubos contendo solução de ácido láctico, água destilada e glicerina (1:1:1) até o momento da determinação da porcentagem e intensidade de colonização.

Após a coloração das raízes, foi determinada a porcentagem de colonização micorrízica com auxílio de microscópio estereoscópico (lupa) com aumento mínimo de 40x, utilizando o método de intercessão das linhas cruzadas (*grid line method*). Este método é baseado na observação de fragmentos de raízes em placa quadriculada (1 cm por 1 cm) e determinação de fragmentos colonizados e não colonizados pelo FMA, para o cálculo da porcentagem de raízes colonizadas (%CM) na amostra (GIOVANETTI; MOSSE, 1980). Foi anotado, em cada interseção, se as raízes

eram positivas ou negativas para as características das micorrizas arbusculares, a presença de arbúsculos, vesículas e hifas (Figura 12). Os valores obtidos foram aplicados na seguinte fórmula (7):

$$\% \text{ de colonização micorrízica} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de interseções positivas}}{\text{n}^\circ \text{ de positivas + negativa}} \times 100 \quad (7)$$



Figura 12 - Análise da porcentagem de colonização radicular. A- Raízes disposta em placa quadriculada e visualização no microscópio estereoscópico. B- Imagem do microscópio estereoscópico.
Fonte: o autor (2019).

Para avaliação da intensidade de colonização radicular, lâminas de microscópio foram montadas contendo 10 segmentos de raiz de aproximadamente 1 cm e analisadas em microscópio óptico em aumento total de 100x. Foram atribuídas notas de 0 a 100%, conforme a ocupação da área radicular pelas estruturas fúngicas (Figura 13) (BETHLENFALVAY et al., 1981).

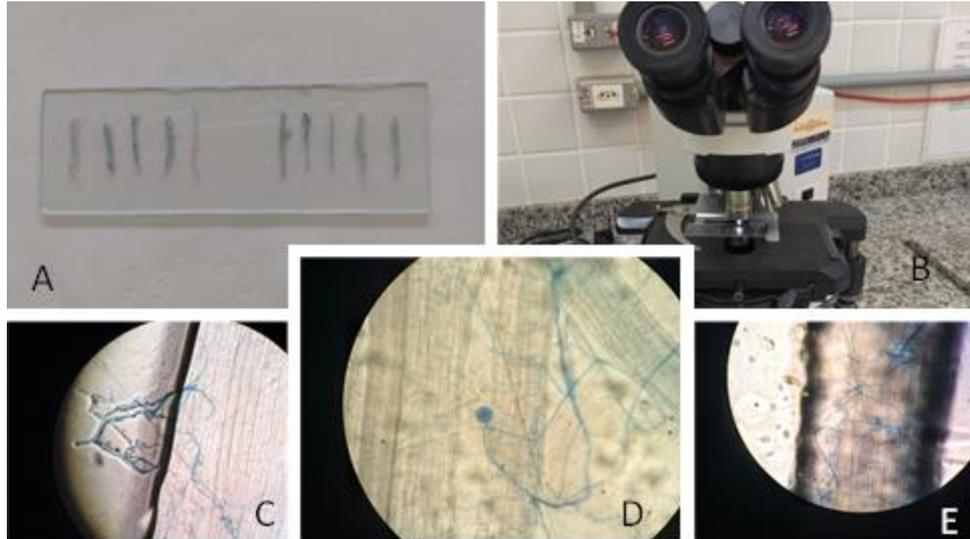


Figura 13 - Análise da intensidade de colonização radicular. A- Preparação da lâmina de microscopia com 10 segmentos de raízes. B- Visualização em microscópio óptico. C, D e E- Imagens do microscópio óptico hifas fúngica colonizando a raiz de planta.

Fonte: o autor (2019).

Os dados obtidos de todos os atributos analisados foram submetidos ao teste de normalidade por Shapiro-Wilk ($p < 0,05$) (SHAPIRO; WILK, 1965) e à análise de variância pelo teste F (ANOVA), utilizando-se o *software* SISVAR, versão 5.3 (FERREIRA, 2011), para avaliação das fontes de variação. Posteriormente, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a $p > 0,05$ e realizadas análises de regressão envolvendo o comportamento de FMA em função das doses de extratos, pelo mesmo *software*. Para os dados que não seguiram o pressuposto da normalidade, aplicou-se a transformação $\sqrt{x+0,5}$ (STORCK et al., 2016).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos nesse trabalho estão sendo apresentados seguindo a ordem descrita na metodologia, ou seja, o efeito dos extratos vegetais na microbiota do solo, no controle do fungo *Fusarium oxysporium* e em FMA e formação de micorriza. A análise dos resultados será apresentada para cada extrato e suas concentrações. Não se fez a comparação dos efeitos entre extratos por se entender que cada um atua de forma diferente, conforme já apresentado na fundamentação teórica.

5.1 Avaliação do efeito dos extratos vegetais na atividade microbiana, biomassa e coeficiente metabólico

Não houve efeito das concentrações de nenhum extrato vegetal na variável biomassa microbiana, ou seja, pela metodologia de irradiação por micro-ondas, as doses testadas não interferiram na quantidade de microrganismos presente na amostra de solo, conforme mostra as Tabelas 8, 9, 10 e 11 (anexo).

O comportamento da biomassa microbiana (C_{mic}) submetida as doses de cada extrato encontra-se na Figura 14. Houve ajuste significativo apenas para o extrato aquoso de *Tagetes patula* com comportamento representativo em regressão linear crescente.

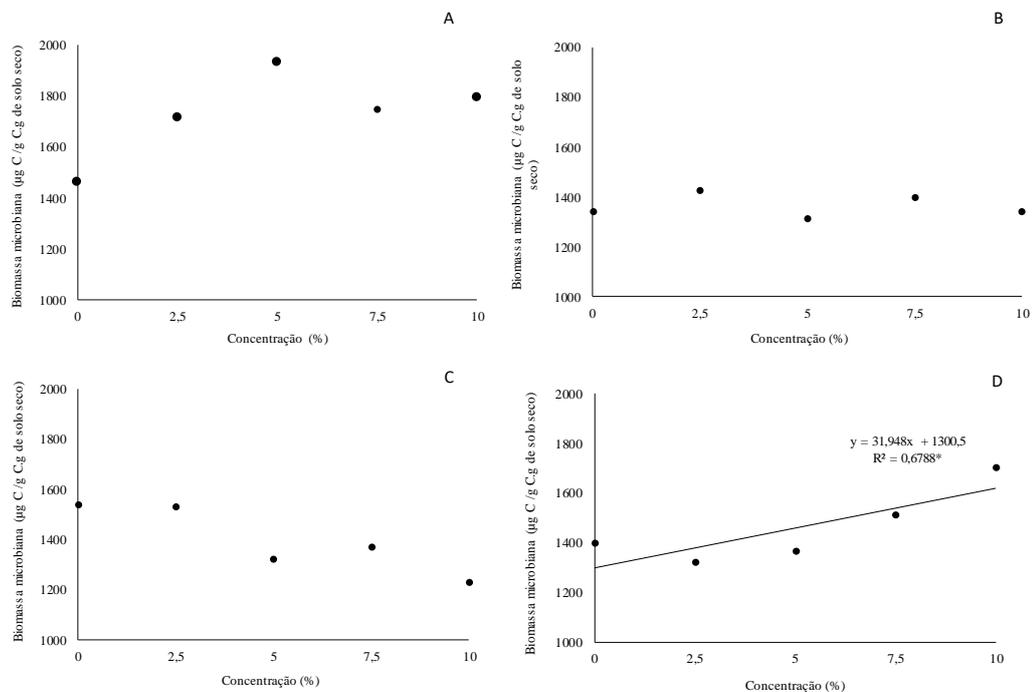


Figura 14 - Biomassa microbiana em relação a diferentes concentrações do extrato aquoso. A- Extrato aquoso de *Allium sativum*. B- Extrato aquoso de *Mentha spicata*. C- Extrato aquoso de *Cymbopogon nardus*. D- Extrato aquoso de *Tagetes patula*.

Fonte: o autor (2019).

Moreira e Siqueira (2006) elencam três principais razões para a estabilidade ou manutenção da biomassa microbiana após uma interferência: i) o material celular dos microrganismos afetados e mortos pelos produtos pode tornar-se substrato disponível para os sobreviventes que, por não sofrerem competição no solo tratado, proliferam; ii) os resíduos dos produtos podem servir de fonte de carbono, energia e nutrientes para os sobreviventes; iii) os produtos podem promover modificações físico-químicas no solo, favorecendo a proliferação microbiana.

Alguns trabalhos relataram efeitos adversos de compostos a grupos diferentes de microrganismos do solo. Por exemplo, um efeito tóxico sobre as comunidades fúngicas do solo pode resultar em menor competição para degradação de compostos orgânicos, favorecendo o crescimento de comunidades bacterianas heterotróficas (CYCON et al., 2006; MUÑOZ-LEOZ et al., 2012). Ademais, outros tipos de microrganismos edáficos que apresentam comportamento fungívoro, como os protozoários, também podem se beneficiar do enfraquecimento ou redução das comunidades de fungos (GEISEN et al., 2016).

Desse modo, as concentrações dos extratos vegetais utilizadas: i) podem não ter promovido efeito na biomassa pelos compostos aplicados apresentarem baixa toxicidade, necessitando de altas doses para promover efeito tóxico ou ao método usado na extração do extrato e composição química da planta coletada ou ii) pela susceptibilidade dos microrganismos, podendo ter afetado grupos específicos, os quais, no geral, não foi suficiente para uma variação na biomassa microbiana total (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; REGNAULT-ROGER; ISMAN, 2000; HAMRAOUI, 1995). Para a avaliação do efeito em grupos específicos, a técnica utilizada teria que ser adaptada, ora adicionando fungicida para avaliar a biomassa bacteriana, ora uma droga antibacteriana para avaliar a biomassa fúngica.

Diferentemente dos resultados para biomassa microbiana, os extratos e suas concentrações afetaram a atividade microbiana das amostras de solo (Tabelas 12, 13, 14 e 15 em anexo). A Figura 15 mostra o comportamento da atividade microbiana ao longo das concentrações dos extratos, com suas respectivas regressões. Houve ajustes significativos para todos os extratos aquosos testados com comportamento representativo em regressão linear positiva, mostrando que, à medida que as doses do extrato aumentaram, diretamente houve aumento da atividade microbiana.

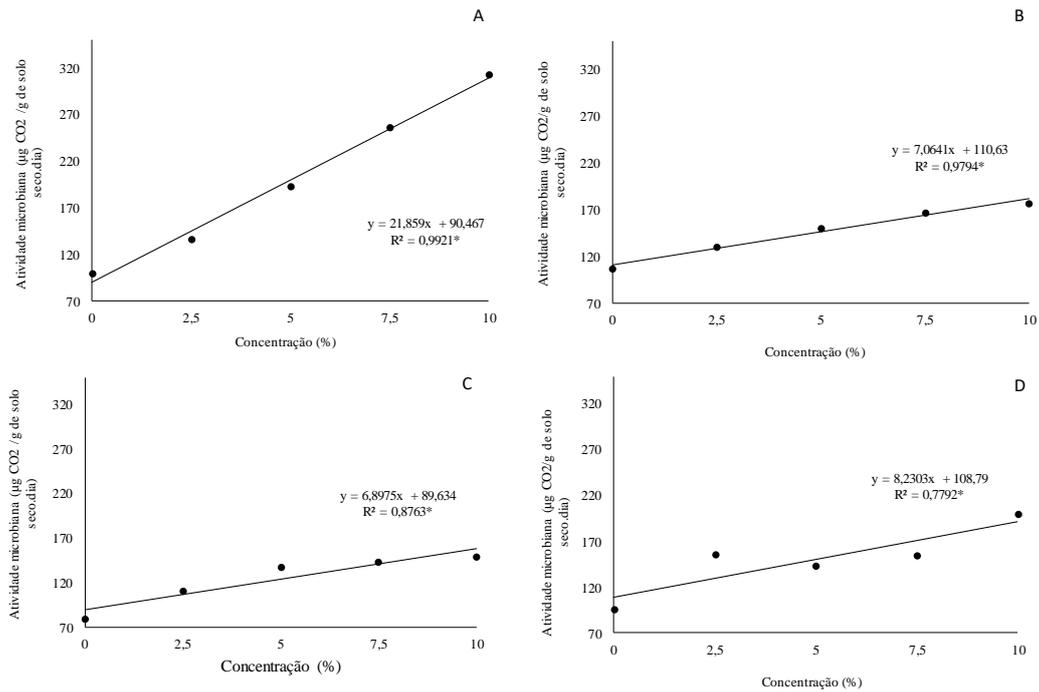


Figura 15 - Atividade microbiana em relação a diferentes concentrações do extrato aquoso. A- Extrato aquoso de *Allium sativum*. B- Extrato aquoso de *Mentha spicata*. C- Extrato aquoso de *Cymbopogon nardus*. D- Extrato aquoso de *Tagetes patula*.

Fonte: o autor (2019).

A atividade respiratória quantifica o carbono em forma de CO₂ advindo da respiração de organismos do solo e, portanto, a atuação destes na decomposição da matéria orgânica adicionada (ALEF; NANNIPIERI, 1995). Como não foi observada inibição deste atributo nas doses analisadas (Figura 15), os extratos foram utilizados como fonte de carbono pela comunidade microbiana.

Em experimento semelhante, Teixeira et al. (2017) verificaram que a aplicação de caldas vegetais modificou o padrão de respiração microbiana do solo, tendo as caldas de alho, pimenta e sabão e de extrato de fumo desencadeado estresse mais pronunciado nas populações microbianas. Para os autores, esse resultado está relacionado primariamente com a atividade antimicrobiana de alguns componentes presentes nestas caldas.

Os efeitos desses extratos sobre a respiração do solo revelam uma alteração no metabolismo dos microrganismos submetidos à sua presença, contrário ao observado para biomassa microbiana. Dessa forma, a manutenção da biomassa microbiana e um aumento da atividade microbiana podem indicar uma possível condição de estresse (TEIXEIRA et al., 2017), o que pode ser revelado pelo quociente metabólico (ALVES et al., 2011).

Nesse sentido, houve efeito de todas as concentrações dos extratos para o quociente metabólico (Tabelas 16, 17, 18 e 19 em anexo). Mais sensível à variação de manejo agrícola do que a biomassa e atividade microbianas, o quociente metabólico (qCO_2) é usualmente utilizado como indicador ecofisiológico das mudanças na comunidade microbiana do solo, representando a relação entre as quantidades de CO_2 produzidas por unidade de C da biomassa microbiana, por unidade de tempo (ANDERSON, 2003).

A Figura 16 mostra o comportamento do quociente metabólico mediante as doses dos extratos vegetais por meio de regressão. Observou-se que os extratos aquosos de *Allium sativum* e *Mentha spicata* apresentaram comportamento dose independente, isto é, com o aumento da concentração de cada extrato, maior foi o quociente metabólico. Os extratos de *Cymbopogon nardus* e *Tagetes patula* apresentaram comportamento representativo em regressão linear positivo, mostrando que à medida que as doses aumentaram houve diretamente aumento dos valores de qCO_2 .

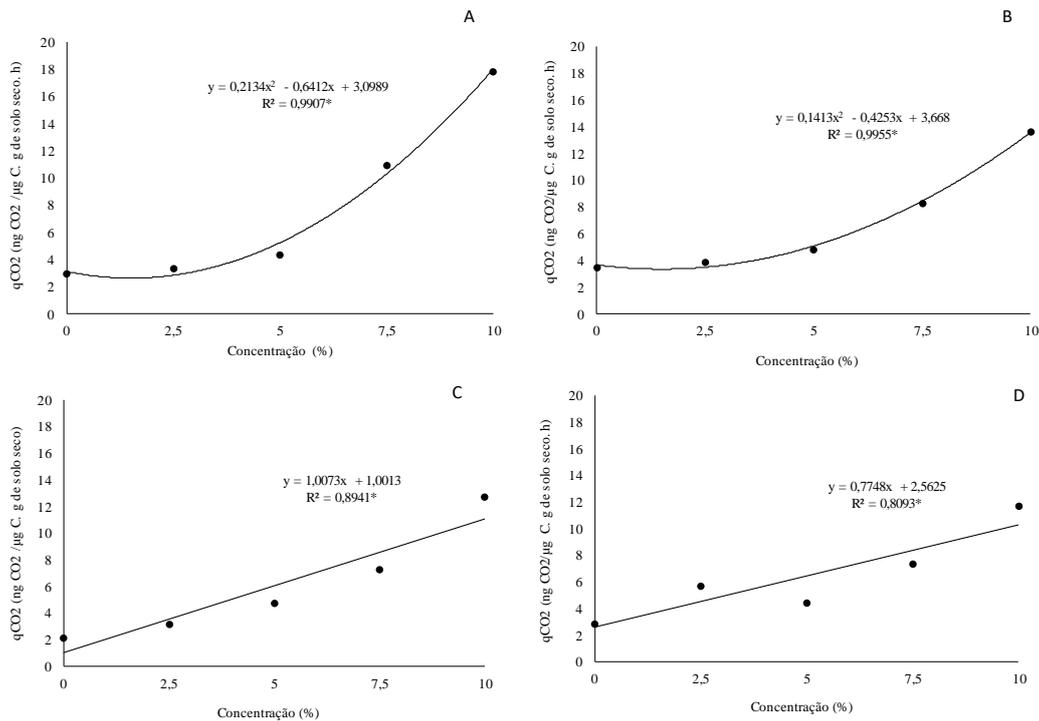


Figura 16 - Quociente metabólico em relação a diferentes concentrações de extrato aquoso. A- Extrato aquoso de *Allium sativum*. B- Extrato aquoso de *Mentha spicata*. C- Extrato aquoso de *Cymbopogon nardus*. D- Extrato aquoso de *Tagetes patula*.

Fonte: o autor (2019).

Para o extrato de *Tagetes patula*, houve um aumento na biomassa (Figura 14) e um aumento na atividade microbiana (Figura 15), entretanto o acréscimo da biomassa não foi

suficiente para minimizar o estresse nos microrganismos, uma vez que o quociente metabólico também aumentou (Figura 16). Valores elevados do quociente metabólico podem significar condições de estresse para as comunidades microbianas que, utilizando uma maior quantidade de recursos energéticos para a própria sobrevivência, acabam por promover uma menor conversão do carbono orgânico em biomassa microbiana (ANDERSON; DOMSCH, 1985; MUÑOZ-LEOZ et al., 2013).

Ambientes com algum fator de estresse, como os extratos vegetais adicionados ao solo, podem causar um distúrbio no metabolismo do solo, elevando o qCO_2 pela menor eficiência dos organismos na incorporação de carbono orgânico à biomassa, e talvez afetando a mineralização e imobilização de nutrientes importantes para a fertilidade do solo (ANDERSON; DOMSCH, 1993; BUSSE et al., 2001).

Esta observação indica que a utilização destes extratos, no curto espaço de tempo deste experimento (14 dias), interferiu na comunidade microbiana do solo. No entanto, o ambiente solo é extremamente heterogêneo e dinâmico, recomendando-se que novos períodos sejam avaliados, para acompanhar o impacto dos extratos vegetais e suas sucessivas doses e/ou concentrações.

5.2 Avaliação da atividade antifúngica dos extratos vegetais sobre o fungo *Fusarium oxysporum*

Os resultados da análise de variância revelaram interação significativa entre o fator extratos vegetais, pelo teste F a 5% de probabilidade (Tabela 20 em anexo). Sendo assim, a atuação dos princípios ativos dos vegetais utilizados difere em relação ao controle no crescimento micelial do *F. oxysporum*.

Os resultados referentes à porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM) de *F. oxysporum* pelos quatro extratos vegetais incorporados em meio de cultura sólido estão apresentados na Tabela 5.

Com relação à inibição do crescimento micelial de *F. oxysporum* os extratos aquosos de alho, hortelã e citronela na concentração de 10% inibiram o desenvolvimento do fungo *in vitro*, diferindo significativamente ao nível de 5% de probabilidade em relação à testemunha (Tabela 5). Observou-se que o melhor resultado foi obtido com o extrato de alho, que reduziu o crescimento micelial em 76,90% diferido estatisticamente das demais plantas testadas. Este resultado pode indicar a existência de compostos secundários biologicamente ativos com capacidade de exercer ação antifúngica sobre o patógeno.

Tabela 5 - Efeito de extratos aquosos de *Allium sativum*, *Mentha spicata*, *Cymbopogon nardus* e *Tagetes patula* a 10% de concentração, na porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* em meio sólido *in vitro*.

Tratamento	% Inibição do Crescimento Micelial
Testemunha	0,00 d
Extrato <i>Allium sativum</i>	76,90 a
Extrato <i>Mentha spicata</i>	54,72 b
Extrato <i>Cymbopogon nardus</i>	22,69 c
Extrato <i>Tagetes patula</i>	0,00 d
CV (%)	25,22

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott $p > 0,05$ de probabilidade.

A toxicidade de extratos vegetais de alho sobre patógenos tem sido constatada por diversos pesquisadores. Morais et al. (2010) concluíram que os extratos de alho nas concentrações de 10 e 20% inibiram o crescimento micelial do fungo de *F. oxysporum*, onde pôde ser verificado que em todos os tratamentos os efeitos fungitóxicos se manifestaram a partir do segundo dia do ensaio. Chalfoun e Carvalho (1991) obtiveram redução no crescimento de *Fusarium moniliforme* em concentrações acima de 8% de extrato de bulbo de alho *in vitro*.

Stauffer et al. (2000), estudando o efeito de extratos de 98 espécies vegetais sobre o crescimento micelial de 9 fungos fitopatogênicos, citaram o alho, como o extrato de maior efeito sobre os patógenos, inibindo 7 dos 9 fungos testados, são eles: *Penicillium italicum* Welrmer; *Aspergillus flavus* Link; *Fusarium* sp.; *Rhizoctonia solani* Kühn; *Alternaria* sp.; *Colletotrichum* sp.; e *Pythium* sp.

Lorenzi e Matos (2002) indicam que ervas aromáticas como o alho possui ação bactericida e fungicida, pois apresentam em sua constituição química a alicina e a inulina, conferindo a esta planta um alto potencial de controle de variados fitopatógenos.

O extrato aquoso de hortelã promoveu 54,72% de inibição do crescimento micelial do fungo *F. oxysporum*. Resultados semelhantes foram encontrados por Silva et al. (2012), que constataram para o extrato de hortelã o controle do crescimento micelial dos seguintes fitopatógenos *C. gloeosporioides*, *P. oryzae* e *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*.

A efetividade da ação antifúngica sobre o desenvolvimento do fitopatógeno *in vitro* evidenciou que os compostos presentes nas plantas de alho e hortelã utilizadas no estudo, na forma de extratos aquosos, apresentam potencial de utilização no controle alternativo dos fungos fitopatogênicos.

Constatou-se que o extrato de cravo-de-defunto para o qual havia relatos de propriedades antifúngicas (MAIA; DONATO; FRAGA, 2015; ROMAGNOLI et al., 2005; DIDWANIA et al., 2013, SANTOS et al., 2016) não proporcionou a inibição do crescimento de *F. oxysporum* no presente trabalho (Tabela 5). Há de se destacar as divergências nos trabalhos que visam avaliar a atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o crescimento de fitopatógenos, mesmo àqueles que estudam a mesma planta. A diferença nestes resultados pode estar associada às condições edafoclimáticas em que as plantas foram cultivadas, ou ainda, à época do ano em que as mesmas foram coletadas. Di Stasi (1996) afirma ainda que a concentração de princípios ativos não se apresenta uniforme no decorrer do ciclo da planta, podendo apresentar variações conforme as condições de cultivo, a colheita e o processamento do material vegetal.

A ação das fitoalexinas sobre os fungos inclui a granulação citoplasmática, a desorganização dos conteúdos celulares, inibição da germinação e alongação do tubo germinativo por algumas enzimas, com conseqüente inibição ou redução do crescimento micelial (LO et al., 1996).

Ressalta-se que há necessidade de mais estudos sobre esse assunto, envolvendo testes de amostras da mesma planta coletada em diferentes regiões geográficas, diferentes épocas do ano e diferentes horas do dia para: determinar a parte da planta onde se concentra maior quantidade da substância antifúngica, determinar a substância antifúngica presente, as doses dos extratos e a toxicologia das plantas e avaliar os extratos em condições de campo e a toxicidade ao ambiente e ao homem.

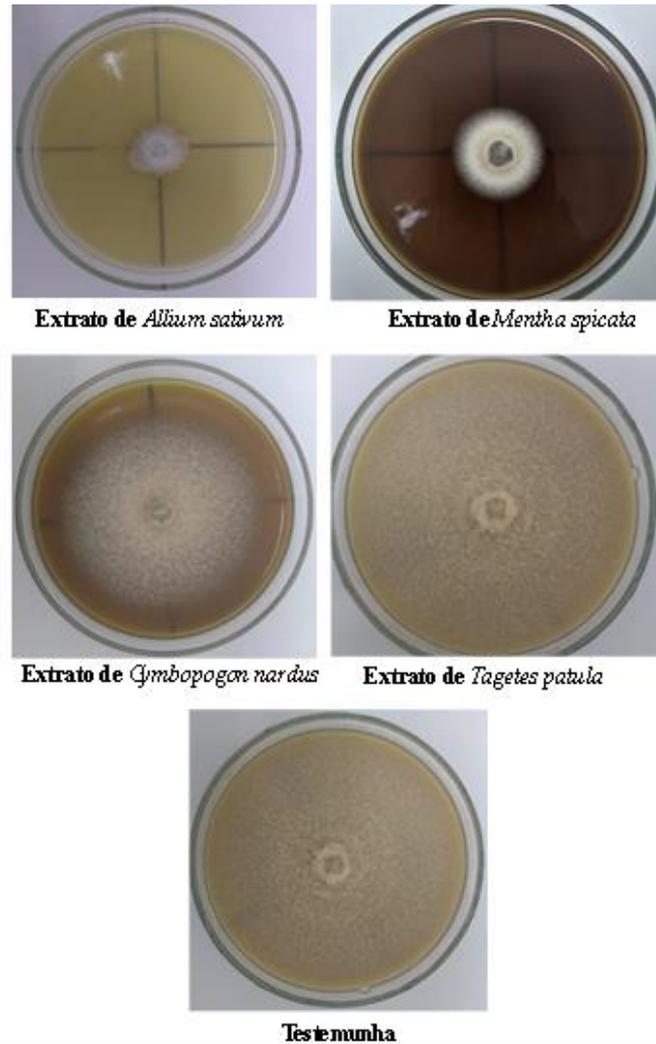


Figura 17 - Inibição do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum in vitro* na presença de extratos vegetais na concentração de 10% com 7 dias de cultivo.

5.3 Avaliação do extrato vegetal na colonização micorrízica

Como demonstrado no tópico anterior (5.2), o extrato aquoso de alho foi o tratamento que apresentou maior porcentagem de inibição do crescimento micelial do fungo fitopatogênico *F. oxysporum* e, em virtude disso, esse extrato foi escolhido para os testes com os FMA.

Os resultados da análise de variância demonstram interação significativa do efeito do extrato de alho e suas concentrações para a espécie fúngica e sua capacidade de formar micorriza (colonização) em milho pelo teste F a 5% de probabilidade, conforme a 21 (anexo).

Os dados de comparação de médias da porcentagem de colonização micorrízica do milho inoculado com FMA, ao longo das doses do extrato de alho, encontram-se na Tabela 6, enquanto o comportamento por meio de regressão pode ser visto na Figura 18. Observou-se comportamento diferenciado dos FMA ante às doses do extrato de alho na formação de micorriza, sendo de alta sensibilidade para *G. rosea* e sem efeito para *R. clarus* (Tabela 6).

Para *G. rosea* houve redução acentuada na porcentagem de colonização ao longo das doses, o que pode ser representado por regressão quadrática, enquanto para *R. clarus* houve baixo efeito da formação de micorriza, representado por regressão linear, sempre com os maiores valores de colonização em relação à primeira espécie (Figura 18).

Tabela 6 - Comparação de médias pelo teste de Scott-knott para a variável percentual de colonização micorrízica de raiz de plantas de milho frente às doses crescentes de extrato aquoso de *Allium sativum* e inoculação com fungos micorrízicos.

Concentração do extrato aquoso de <i>Allium sativum</i> (%)	Fungo micorrízico arbuscular	
	<i>Gigaspora rosea</i>	<i>Rhizophagus clarus</i>
0	71,4029 a	85,8324 a
2,5	16,7107 b	74,4561 a
5,0	6,6367 b	80,4429 a
7,5	5,4374 b	66,6860 a
10,0	3,1231 b	54,4118 a

Médias seguidas pelas mesmas letras na linha não diferem pelo teste de Scott-Knott a $p > 0,05$ de probabilidade. Dados transformados $\sqrt{Y + 0,5}$.

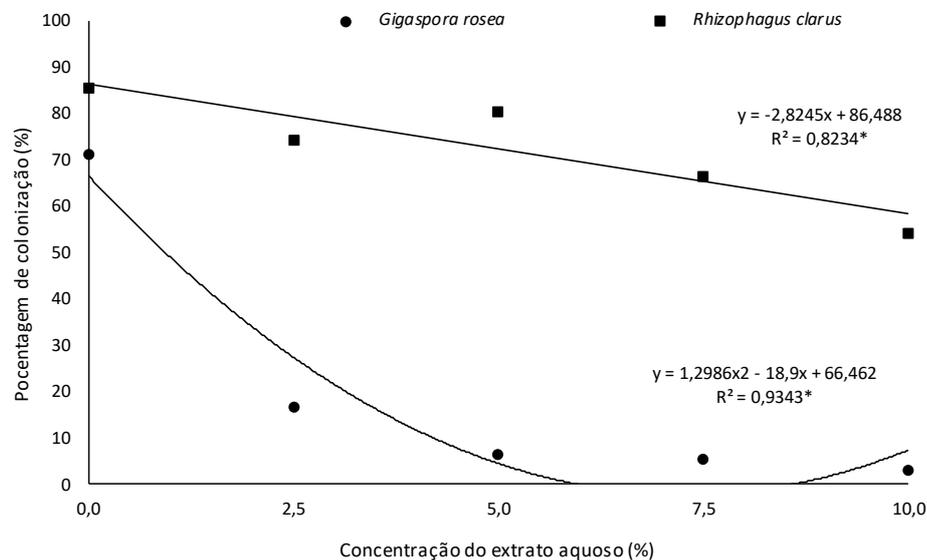


Figura 18 - Percentual de colonização micorrízica de raiz de plantas de milho. Fonte: o autor (2019).

Esse resultado evidencia o impacto negativo imediato das doses do extrato na formação da micorriza pelo fungo *Gigaspora rosea* em milho. No entanto, apesar do efeito negativo linear das doses para *Rhizophagus clarus*, esta espécie apresentou menor sensibilidade e manutenção de sua eficiência na colonização do milho

As maiores taxas de colonização nem sempre retratam maior efetividade. Esta, por sua vez, está relacionada aos benefícios adquiridos pelo vegetal com a presença do micobionte, tais como maior crescimento, produtividade e absorção de nutrientes. Por outro lado, a colonização pode contribuir na manutenção de propágulos de FMA no solo aumentando, sobretudo, as chances de permanência do fungo no solo (LINO, 2014).

A colonização micorrízica é uma característica que pode ser afetada, segundo Afek et al. (1990), por inúmeros fatores, como a espécie vegetal, a idade da planta, a densidade de raízes, número dos propágulos de FMA, a eficiência de colonização de FMA e o manejo do solo, dentre outros. Assim sendo, as diferentes concentrações do extrato aquoso de alho empregados no presente trabalho mostram interferência negativa na colonização com o aumento das concentrações.

Algumas espécies de plantas podem interferir com espécies próximas por liberarem compostos aleloquímicos. Faria et al. (2009) concluíram que os extratos aquosos de *Pinus* sp., milheto (*Pennisetum americanum* (L.) Leeke) e mucuna (*Stizolobium aterrimum* Piper & Tracy) reduziram a colonização micorrízica e o número de esporos de fungos micorrízicos arbusculares em soja, milho e feijão. O número de esporos diminuiu com o aumento das doses dos extratos utilizados. A adição desses extratos, possivelmente contendo compostos alelopáticos, pode ter provocado alterações no meio, tornando-o não favorável aos FMA.

Bainard et al. (2009) observaram que extratos aquosos de raízes e de caule de *Sisymbrium loeselii* quando adicionados em meio de cultura, inibiram a germinação de esporos de *Glomus intradices*. Em condições de campo, a presença de *S. loeselii* acarretou a redução do potencial de inoculação de FMA no solo e impossibilitou a associação destes com as demais espécies vegetais existentes. O extrato utilizado reduziu o potencial de inóculo no solo, sugerindo que a *Sisymbrium loeselii* produz aleloquímicos que afetam diretamente o fungo. Piotrowskia, Morfordb e Rilliga (2008) constataram que a colonização de fungos micorrízicos arbusculares nativos foi reduzida pelo extrato aquoso de *Populus trichocarpa*, onde a colonização foi negativamente correlacionada com as concentrações do extrato.

Os resultados da análise de variância para intensidade de colonização micorrízica também demonstram haver efeito da espécie fúngica e doses do extrato do alho pelo teste F a 5% de probabilidade (Tabela 22 em anexo).

A Tabela 7 contém a comparação de média entre as espécies de FMA em função das doses do extrato de alho utilizadas para a intensidade de colonização micorrízica. A intensidade de colonização foi maior no milho inoculado com o fungo *Rhizophagus clarus* quando comparada à outra espécie utilizada em todas as doses testadas, mostrando que o extrato vegetal afetou de

maneira diferente os FMA, assim como já evidenciado para a porcentagem de colonização micorrízica.

Tabela 7 - Comparação de médias pelo teste de Scott-Knott para a variável intensidade de colonização micorrízica de plantas de milho frente às doses crescentes de extrato aquoso de *Allium sativum* e inoculação com fungos micorrízicos.

Concentração do extrato aquoso de <i>Allium sativum</i> (%)	Fungo micorrízico arbuscular	
	<i>Gigaspora rosea</i>	<i>Rhizophagus clarus</i>
0	5,5000 b	23,0218 a
2,5	0,4750 b	9,6500 a
5,0	0,4250 b	9,3000 a
7,5	0,5312 b	4,6125 a
10,0	0,3000 b	3,6000 a

Médias seguidas pelas mesmas letras na linha não diferem pelo teste de Scott-Knott a $p > 0,05$ de probabilidade. Dados transformados $\sqrt{Y + 0,5}$.

No entanto, independentemente do FMA, houve efeito negativo das doses, assim como observado anteriormente, cujo comportamento pode ser representado por regressão linear para *Rhizophagus clarus* e regressão quadrática para *Gigaspora rosea* (Figura 19).

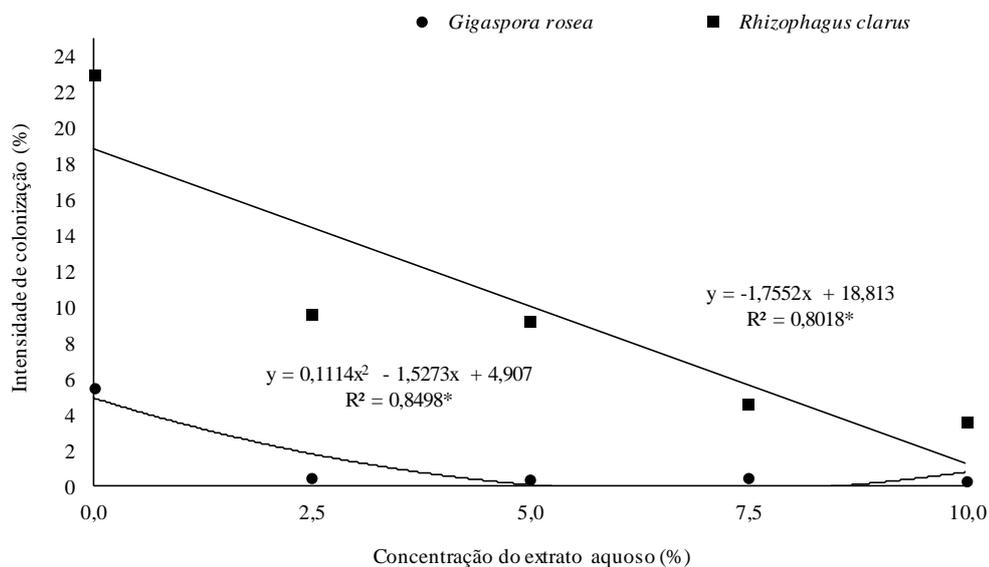


Figura 19 - Intensidade de colonização micorrízica de plantas de milho. Fonte: o autor (2019).

Os resultados da colonização e intensidade de colonização indicam que a aplicação do extrato vegetal de alho afeta negativamente a resposta ao FMA e a formação da micorriza.

Portanto, diante de situações de estresse edáfico, plantas pulverizadas com esse produto podem não responder à simbiose. No entanto, o experimento aqui foi feito com apenas uma espécie fúngica. No solo, em condições naturais, as plantas são expostas a várias espécies fúngicas ao mesmo tempo, o que, provavelmente, teriam respostas diferentes daquelas obtidas utilizando inoculação simples como a realizada.

São apresentadas, na Figura 20, as estruturas fúngicas observadas nas raízes de milho inoculadas com os FMA. A Figura 21 apresenta uma escala de colonização radicular, onde foram atribuídas notas de 0 – 100 %, em função da área colonizada por FMA no interior da raiz (BETHLENFALVAY et al., 1981), para avaliar a intensidade de colonização radicular. Não foram encontradas raízes com 100 % de colonização.



Figura 20 - Raízes de milho tratadas com extrato aquoso de *Allium sativum* e inoculadas com FMA. A e B - Vesículas e hifas de FMA (índice de colonização). C - Hifas extraradiciais.
Fonte: o autor (2019).

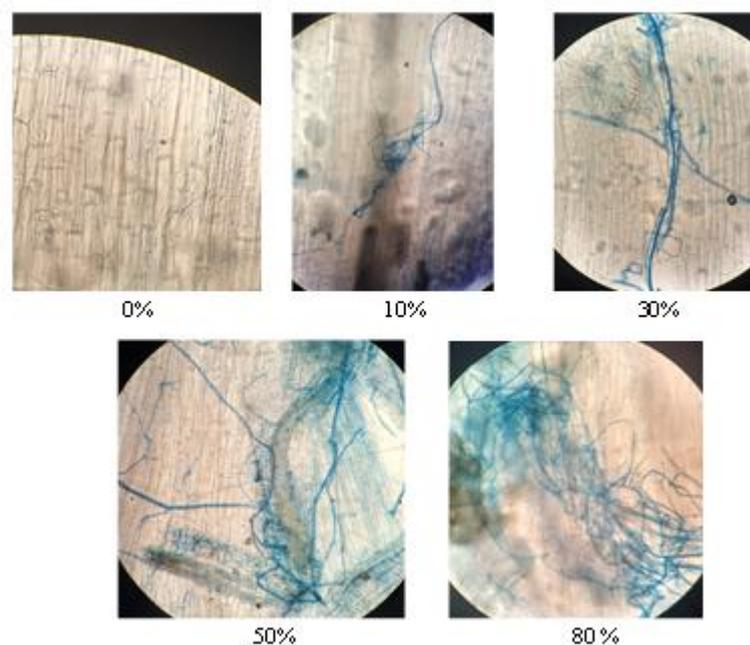


Figura 21 - Escala de notas de intensidade de colonização radicular por FMA.
Fonte: o autor (2019).

5.3.1 Variáveis de crescimento

Para as variáveis altura de planta e massa seca da parte aérea houve interação significativa somente para o fator inoculação de FMA pelo teste F a 5% de probabilidade, conforme pode ser observado nas Tabelas 23 e 24 (anexo). Não houve efeito significativo para a variável matéria fresca de raiz (Tabela 25 em anexo).

Os valores médios de altura de planta e massa seca da parte aérea das mudas de milho inoculadas com os FMA podem ser observados na Figura 22. Houve diferença significativa pelo teste de Scott-knott $p > 0,05$ entre as duas espécies de FMA para altura de planta e massa seca da parte aérea. Os resultados demonstraram que as plantas inoculadas com o fungo *Rhizophagus clarus* apresentaram aumento significativo no crescimento quando comparadas às inoculadas com a outra espécie de FMA.

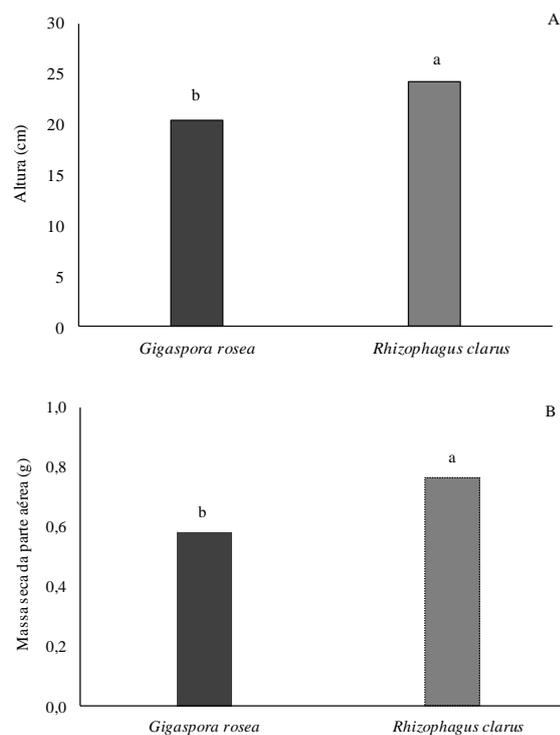


Figura 22 - Crescimento do milho micorrizado com as espécies *Gigaspora rosea* e *Rhizophagus clarus*. A- Altura de plantas de milho (cm). B- Matéria seca da parte aérea (g). Médias com as mesmas letras não diferem pelo teste de Scott-Knott a $p > 0,05$ de probabilidade.

Fonte: o autor (2019).

O valor médio da altura das plantas encontrado nesse trabalho, 20,37 cm para plantas inoculadas *Gigaspora rosea* e 24,23 cm para as inoculadas com *Rhizophagus clarus*, é próximo aos dados obtidos por Campos et al. (2010) que tiveram uma média de 23,82 cm na altura das plantas de milho submetidos à inoculação de FMA, 45 dias após a emergência.

Os efeitos da inoculação com FMA, segundo Smith e Read (1997), podem acarretar diferentes resultados nas plantas hospedeiras, desde pequeno a um ótimo desenvolvimento. A colonização e intensidade micorrizica do fungo *Gigaspora rosea* foi afetada negativamente e de forma mais direta pelas concentrações do extrato vegetal, o que pode ter resultado em um menor crescimento vegetal. Contudo, vale ressaltar que a capacidade do fungo micorrízico de estimular o crescimento das plantas é determinada pelas características e por todos os componentes da simbiose, principalmente do microbionte (fungo) que pode apresentar diferentes graus de eficiência, podendo ser até mesmo ineficaz, dependendo da planta hospedeira e das condições de crescimento da planta (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

Em estudo sobre os benefícios da associação de *Rhizophagus clarus* e adubação fosfatada em cultivares de milho, Schuch (2013) concluiu que o FMA se mostrou eficiente no aumento da altura e matéria seca da parte aérea de planta em doses de fósforo que estimulam a colonização micorrízica. Os maiores valores de massa seca observados para as plantas inoculadas *Rhizophagus clarus* provavelmente estão relacionados ao aumento da absorção de nutrientes, ocasionado pela maior superfície de contato das hifas, e a efeitos fitoprotetores que os fungos micorrízicos oferecem às plantas (BERBARA et al, 2006; GADD, 2007). Esses fatores propiciam um melhor desenvolvimento das plantas, e o aumento de altura e diâmetro do caule destas refletirá em maior biomassa. Novais et al. (2013) avaliaram diversas espécies e genótipos de fungos micorrízicos arbusculares, com relação à colonização das raízes, crescimento e absorção de fósforo em milho, concluindo que a espécie *Rhizophagus clarus* esteve entre as mais eficientes.

Nesse estudo não houve interferência no crescimento inicial das plantas de milho com o aumento da dose de extrato vegetal aplicado, demonstrando que as substâncias aleloquímicas presentes no extrato não apresentaram efeitos negativos no crescimento das plantas. Em muitos estudos, observa-se um efeito alelopático mais pronunciado sobre o desenvolvimento inicial de plântulas (FERREIRA; AQUILA, 2000), porém para Tukey Junior (1969), nem todas as substâncias liberadas pelas plantas são inibidoras, algumas podem ser até estimulantes.

6 CONCLUSÃO

Os extratos aquosos de alho, cravo-de-defunto, hortelã e citronela, nas doses 2,5, 5,0, 7,5 e 10% não provocam efeito negativo na biomassa microbiana. No entanto, influenciam negativamente a atividade microbiana e o quociente metabólico.

Os extratos aquosos de alho, hortelã e citronela, na concentração de 10%, apresentaram atividade fungistática sobre o desenvolvimento de *Fusarium oxysporum*, sendo o extrato de alho o que apresentou maior efeito na porcentagem de inibição do crescimento micelial.

As concentrações do extrato aquoso de alho interferem negativamente na colonização micorrízica do FMA *Gigaspora rosea* e na internsidade de colonização micorrízica dos FMA *Gigaspora rosea* e *Rhizophagus clarus* inoculados em plantas de milho. No geral, a espécie de fungo micorrízico arbuscular *Rhizophagus clarus*, nas condições experimentais, proporciona maior altura e produção de matéria seca da parte aérea das plantas colonizadas).

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFEK, U.; RINALDELLI, E.; MENGE, J. A.; JOHNSON, E. L. V.; POND, E. Mycorrhizal inoculum influence colonization of cotton, onion and pepper seedlings. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 115, n. 1, p. 938-942, 1990.
- ALTIERI, M. **Agroecologia: bases científicas para uma agricultura sustentável**. Guaíba: Agropecuária, 2002. p. 592.
- AKIYAMA, K.; MATSUZAKI, K.; HAYASHI, H. Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. **Nature**, London, v. 435, p. 824–827, June 2005.
- ALEF, K.; NANNIPIERI, P. **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. Londres: Academic Press. 1995. p. 576.
- ALVES, T. S.; LIZIA LENZA CAMPOS, L. L.; ELIAS NETO, N.; MATSUOKA, M.; LOUREIRO, M. F. Biomassa e atividade microbiana de solo sob vegetação nativa e diferentes sistemas de manejos. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 33, n. 2, p. 341-347, 2011.
- ALBERGONI, L.; PELAEZ, V. Da Revolução Verde à agrobiotecnologia: ruptura ou continuidade de paradigmas? **Revista de Economia**, Paraná, v. 33, n. 1, p. 31–53, jun. 2007.
- ALMEIDA, T. F.; CAMARGO, M.; PANIZZI, R. C. Efeito de extratos de plantas medicinais no controle de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da flor preta do morangueiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, n. 3, p. 196-201, 2009.
- ALMEIDA, G. T.; ELOY, A. P.; CALAZANS, C. L.; GOMES, A. K. L.; FURTADO, D. C. Efeito de óleo essencial e extratos vegetais no controle de *Colletotrichum musae in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, p. 197, 2006.
- ALTIERI, M. **Biotecnologia agrícola: mitos, riscos ambientais e alternativas**. Porto Alegre: EMATER – RS. 2002.
- ALVES, K. F. **Controle alternativo da antracnose do pimentão com extratos vegetais**. 47 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2008.
- ANDRADES, T. O.; GANIMI, R. N. Revolução verde e a apropriação capitalista. **CES Revista**, Juiz de Fora, v. 21, p. 43–46, 2007.
- ANTONIAZZI, N.; DESCHAMPS, C. Controle de *Bipolaris sorokiniana* e rendimento de grãos de cevada após aplicação de elicitores e fungicida. **Acta Science Agronomic**, Maringá, v. 29, p. 695-700, 2007.
- ANDERSON, T. H.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient for CO₂ (qCO₂) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as Ph, on the microbial BIOMASS of forest soils. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 25, n. 3, p. 393-395, 1993.

ANDERSON, T. H. Microbial eco-physiological indicators to assess soil quality. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 98, p. 285-293, 2003.

ANDERSON, T.H.; DOMSCH, K. H. Determination of ecophysiological maintenance carbon requirements of soil microorganisms in a dormant state. **Biology and Fertility of Soils**, Heidelberg, v. 1, n. 2, p. 81–89, 1985.

ARAÚJO, E. A.; KER, J. C.; NEVER, J. L.; LAN, J. L. Qualidade do solo: conceitos, indicadores e avaliação. **Applied Research & Agrotechnology**, Guarapuava, v. 5, n. 1, p. 187-206, 2012.

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 3, 2007.

ARMSTRONG, G. M.; ARMSTRONG, J. K. Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In P.E. Nelson, T.A. Toussoun, and R. Cook (ed.). **Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy**. The Pennsylvania State University Press, University Park. 1981. p. 391-399.

ATKINSON, S.; BERTA, G.; HOOKER, J. E. Impact of mycorrhizal colonization on root architecture, root longevity and the formation of growth regulators. In: GIANINAZZI, S.; SCHÜEPP, H. (Ed.). **Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems**. Basel: ALS, Birkhäuser Verlag. 1994. p. 47–60.

BAINARD, L. D.; BROWN, P. D.; UPADHYAYA, M. K. Inhibitory effect of tall hedge mustard (*Sisymbrium loeselii*) allelochemicals on rangeland plants and arbuscular mycorrhizal fungi. **Weed Science**, Atlanta, v. 57, n. 4, p. 386-393, 2009.

BATISH, D. R.; SINGH, H. P.; KOHLI, R. K.; KAUR, S. Eucalyptus essential oil as nature pesticide. **Forest Ecology and Management**, Melbourne, v. 256, n. 12, p. 2166-2174, Dec. 2008.

BENTIVENGA, S. P.; KUMAR, T. K.; KUMAR, L.; ROBERSON, R. W.; MCLAUGHLIN, D. J. CELLULAR organization in germ tube tips of *Gigaspora* and its phylogenetic implications. **Mycologia**, Nova York, v. 105, n. 5, p. 1087-99, 2013.

BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A; FONSECA, H. M. A. C. Nutrição Mineral de Plantas. In: FERNANDES, M. S. **Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição**. Viçosa: SBCS. 2006. p. 432.

BERTA, G.; TROTTA, A.; FUSCONI, A.; HOOKER, J.E.; MUNRO, M.; ATKINSON, D.; GIOVANNETTI, M.; MORINI, S.; FORTUNA, P.; TISSERANT, B.; GIANINAZZIPEARSON, V.; GIANINAZZI, S. Arbuscular mycorrhizal induced changes to plant growth and root system morphology in *Prunus cerasifera*. **Tree Physiology**, Oxford, v. 15, p. 281-293, 1995.

BETHLENFALVAY, G. J.; PACOVSKY, R. S.; BROWN, M. S. Measurement of mycorrhizal infection in soybeans. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 45, p. 871-875, 1981.

- BETHLENFALVAY, G. J.; LINDERMAN, R. G. **Mycorrhizae in sustainable agriculture**. Madison: American Society of Agronomy. 1992. p. 1-25.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas**. Uso e perspectivas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. 2009. p. 332.
- BIGATON, D.; BACCHI, L. M. A.; FORMAGIO, A. S. N.; GAVASSONI, W. L.; ZANELLA, C. S. Avaliação da atividade fungicida de extratos e óleos essenciais sobre ferrugem asiática da soja. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 44, n. 4, p. 757-763, 2013.
- BOMFIM, A. G. J.; ALBUQUERQUE, G. M. R.; BEZERRA, J. D. P.; SILVA, D. C. V.; SVEDESE, V. M.; PAIVA, L. M.; SOUZA-MOTTA, C. M. Fungos fitopatogênicos de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Cultivada em área de floresta tropical seca no Brasil. **Bol. Soc. Latin. Carib. Cact. Suc.**, v. 10, n. 2, p. 27-33, 2013.
- BONA, E. A. M.; SILVA, F. G.; FRUET, T. K.; JORGE, T. C. M.; MOURA, A. C. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v. 81, n. 3, p. 218-225, 2014.
- BONILLA, J. **Fundamentos da agricultura ecológica: sobrevivência e qualidade de vida**. São Paulo: Nobel. 1992.
- BOTELHO, R. B.; MAIA, A. J.; PIRES, E. J. P.; TERRA, M. M. Efeito do extrato de alho na quebra de dormência de gemas de videiras e no controle *in vitro* do agente causal da antracnose (*Elsinoe ampelina* Shear). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 096-102, 2009.
- BONZI, R. S. Meio século de Primavera silenciosa: um livro que mudou o mundo. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, Curitiba, n. 28, p. 207-215, jul./dez., 2013.
- BRAGA, M. R. Fitoalexinas. In: PASCHOLATI, S.; LEITE, B.; STANGARLIN, J. R.; CIA, P. **Interação planta patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba: FEALQ. 2008. p. 305-346.
- BRASIL. **Plano Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica**. Brasília: MDS; CIAPO, 2013.
- BRUSSAARD, L.; RUITER, P. C.; BROWN, G. G. Soil biodiversity for agricultural sustainability. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 121, n. 3, p. 233-244, 2007.
- BRZEZINSKA, M. S., JANKIEWICZ, U., BURKOWSKA, A., WALCZAK, M. Chitinolytic microorganisms and their possible application in environmental protection. **Curr Microbiol**, New York, v. 68, p. 71-81, 2014.
- BURGESS, L. W.; SUMMERELL, B. A.; BACKHOUSE, D.; F. BENYON, F.; LEVIC, J. Biodiversity and population studies on *Fusarium*. **Sydowia**, Wien, v. 30, p. 1-11. 1997.

BUSSE, M. D.; RATCLIFF, G. A.; SHESTAK, C. J.; POWERS, R. F. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control and soil on soil microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 33, n. 6, p. 1777-1789, 2001.

CABRAL, L. C.; PINTO, V. F.; PATRIARCA, A. Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. **International Journal of Food Microbiology**, Wyndmoor, v. 166, n. 1, p. 1-14, 2013.

CÂMARA INTERMINISTERIAL DE AGROECOLOGIA E PRODUÇÃO ORGÂNICA (CIAPO). **Plano Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica - PLANAPO**. Brasília: MDS; CIAPO. 2013.

CAMPOS, D. T. S.; ANDRADE, J. A. C.; CASSIOLATO, A. M. R. Crescimento e micorrização de genótipos de milho em casa de vegetação. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 3, p. 555-562, 2010.

CAPORAL, F. R.; COSTABEBER, J. A. **Agroecologia: alguns conceitos e princípios**. Brasília: MDA/SAF/DATER-IICA. 2004. p.24.

CARDOSO, E. J. B. N.; CARDOSO, I. M.; NOGUEIRA, M. A.; BARRETA, C. R. D. M.; PAULA, A. M. Micorrizas arbusculares na aquisição de nutrientes pelas plantas. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**. Lavras: UFLA. 2010. p. 153-214.

CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2. ed. Piracicaba: São Paulo. 2016. p. 221.

CARNEIRO, F. F. (Org). **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. Rio de Janeiro: EPSJV; São Paulo: Expressão Popular. 2015. p. 624.

CARNELOSSI, P. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Paulínia, v. 11, n. 4, p. 399-406, 2009.

CASTRO, H. G.; PERINI, V. B. M.; SANTOS, G. R.; LEAL, T. C. A. B. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 41, n. 2, p. 308-314, 2010.

CAVALCANTE, U. M. T.; GOTO, B. T.; MAIA, L. C. Aspectos da simbiose micorrízica arbuscular. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônoma**, Recife, vol. 5 e 6, p. 108-208, 2009.

CELOTO, M. I. B. **Atividade antifúngica de extratos de melão-são-caetano (*Momordica charantia* L.) sobre *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) Arx**. 2005. Dissertação (Mestrado em área de concentração em Sistemas de Produção) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São Paulo, 2005.

CHALFOUN, S. M.; CARVALHO V. D. Controle de fungos patogênicos através de extratos

vegetais (Bulbos de alho e folhas de alho e cebola). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 2, p. 30-30, 1991.

COSTA, L. C. B.; CORRÊA, R. M.; CARDOSO, J. C. W.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; FERRI, P. H. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, p.956-959, 2005.

CRUZ, M. E. S.; NOZAKI, M. H.; BATISTA, M. A. Plantas medicinais e alelopatia. **Biociência**, Brasília, v. 15, p. 28-34, jul./ago. 2000.

CYCON, M.; PIOTROWSKA-SEGET, Z.; KACZYNSKA, U.; KOZDRÓJ, J. Microbiological characteristics of a sandy loam soil exposed to tebuconazole and cyhalothrin under laboratory conditions. **Ecotoxicology**, v. 15, n. 8, p. 639–646, 2006.

DE CONTI, D.; FRANCO, E. T. H. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Casearia sylvestris* Sw. na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 17, n. 2-4, p. 193-203, 2011.

DESCHAMPS, C.; MONTEIRO, R.; MACHADO, M. P.; SCHEER, A. P.; COCCO, L.; YAMAMOTO, C. Avaliação de genótipos de *Mentha arvensis*, *Mentha x piperita* e *Mentha* spp. para produção de mentol. **Revista Hortic. Bras.**, Vitória da Conquista, v. 31, n. 2, p. 178-183, 2013.

DESCHAMPS, C.; ZANATTA, J. L.; BIZZO, H. R.; OLIVEIRA, M. D. E. C.; ROSWALKA, L. C. Seasonal evaluation of essential oil yield of mint species. **Ciênc e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 725–30, 2008.

DIDWANIA, N.; SADANA, D.; TRIVEDI, P. C. Antibacterial activity of a few medicinal plants against *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. **International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences**, Tamil Nadu, v. 4, n. 2, p. 177-182, 2013.

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

DI STASI, L. C. Química de produtos naturais: principais constituintes ativos. In: DI STASI, L.C. (Ed.). **Plantas medicinais: arte e ciência**. Um guia de estudos multidisciplinar. São Paulo: Universidade Paulista. 1996. p. 109-127.

DUKE, S. O.; DAYAN, F. E.; RIMANDO, A. M.; SCHRADER, K. K.; ALIOTTA, G.; OLIVA, A.; ROMAGNI, J. G. Chemicals from nature for weed management. **Weed Science**, Gainesville, v. 50, n. 2, p. 138-151, 2002.

EINHELLIG, F. A. The physiology of allelochemical action: clues and views. In: REIGOSA, M.; PEDROL, N. **Allelopathy from molecules to ecosystems**. Vigo: Universidad de Vigo. 2002. p. 1-23.

- EPELDE, L.; BURGESS, A.; MIJANGOS, I.; GARBISU, C. Microbial properties and attributes of ecological relevance for soil quality monitoring during a chemical stabilization field study. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 75, p. 1-12, 2014.
- FARIA, T. M.; GOMES, F. G.; SÁ, M. E.; CASSIOLATO, A. R. Efeitos alelopáticos de extratos vegetais na germinação, colonização micorrízica e crescimento inicial de milho, soja e feijão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, n. 6, v. 33, p. 1625-1633, 2009.
- FERNANDES, M. C. A.; LEITE, E. C. B.; MOREIRA, V. E. **Defensivos Alternativos**. Niterói: Programa Rio Rural. 2008. p. 17.
- FERNANDES, A. B.; SIQUEIRA, J.O.; MENEZES, M.A.; GUEDES, G.A.A. Efeito diferenciado do P sobre o estabelecimento e efetividade da simbiose endomicorrízica em milho e soja. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 11, n. 2, p. 101-108, 1987.
- FERREIRA, A. G. Interferência: competição e alelopatia. In: FERREIRA, A. G, BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed Editora. 2004.
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, São Carlos, v. 12, p. 175-204, nov. 2000.
- FERREIRA, A. S.; CAMARGO, F. A. O.; VIDOR, C. Utilização de microondas na avaliação da biomassa microbiana do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 23, n. 4, p. 991-996, 1999.
- FERREIRA, E. P. B.; SANTOS, H. P.; COSTA, J. R.; DE-POLLI, H.; RUMJANEK, N. G. Microbial soil quality indicators under different crop rotations and tillage management. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 41, n. 2, p. 177-183. 2010.
- FERREIRA, E. P. B.; WENDLAND, A.; DIDONET, A. D. Microbial biomass and enzyme activity of a Cerrado *Oxisol* under agroecological production system. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 4, p. 1-9, 2011.
- FERREIRA; D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.
- FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação do básico ao aplicado**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323 p.
- FERRAZ, S.; LOPES, E. A.; AMORA, D. X. Controle de fitonematoides com o uso de extratos e óleos essenciais de plantas. In: POLTRONIERI, L. S.; ISHIDA, A. K. N. (Ed). **Métodos alternativos de controle de insetos-praga, doenças e plantas daninhas**. Panorama atual e perspectivas na agricultura. Belém: EMBRAPA Amazônia Oriental, 2008. p. 308.
- FOLEY, J. A.; DEFRIRES, R.; ASNER, G. P.; BARFORD, C.; NONAN, G.; CARPENTER, S. R.; CHAPIN, F. S.; COE, M. T.; DAILY, G. C.; GIBBS, H. K.; HELKOWSKI, J. H.; HOLLOWAY, T.; HOWARD, E. A.; KUCHARIK, C. J.; MONFREDA, C.; PATZ, J. A.; PRENTICE, I. C.; RAMANKUTTY, N.; SNYDER, P. K. Global consequences of land use. **Science**, Washington, v. 309, n. 5734, p. 570–574, 2005.

GADD, G. M. Geomycology: biogeochemical transformations of rocks, minerals, metals and radionuclides by fungi, bioweathering and bioremediation. **Mycological Research**, v. 111, p. 3–49, 2007.

GALANTE, R. M. **Extração de Inulina do alho (*Allium sativum* L. var. Chonan) e simulação dos processos em batelada e em leite fixo.** 112 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

GARLET, T. M. B.; SANTOS, O. S.; MEDEIROS, S. L. P.; MANFRON, P. A.; GARCIA, D. C.; BORCIONI, E.; FLEIG, V. Produção e qualidade do óleo essencial de menta em hidroponia com doses de potássio. **Revista de Ciências Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 4, p. 956- 962, 2007.

GEISEN, S.; Koller, R.; HÜNNINGHAUS, M.; DUMACK, K.; URICH, T.; BONKOWSKI, M. The soil food web revisited: Diverse and widespread mycophagous soil protists. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 94, p. 10–18, mar. 2016.

GERDEMANN, J. W.; TRAPPE, J. M. The Endogonaceae of the Pacific Northwest. **Mycology**, Lawrence, v. 5, p. 1–76, 1974.

GIOVANETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytology**, Oxford, v. 84, p. 489-500, 1980.

GLIESSMAN, S. R. **Agroecologia: Processos Ecológicos em Agricultura Sustentável.** 4 ed., Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS. 2009. p. 658.

GLIESSMAN, S. R.; ROSEMEYER, M. **The conversion to sustainable agriculture: principles, processes and practices.** Boca Raton: CRC Press. 2010.

GLIESSMAN S. R.; ROSADO-MAY, F. J.; GUADARRAMA-ZUGASTI, C.; JEDLICKA, J.; COHN, A.; MENDEZ, V. E.; COHEN, R.; TRUJILLO, L.; BACON, C.; JAFFE, R. Agroecología : promoviendo una transición hacia la sostenibilidad. **Ecossistemas**, Norteamérica, v. 16, n. 1, p. 13-23, jan. 2007.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, p. 374-381, 2007.

GOETZE, M.; THOMÉ, G. C. H. Efeito alelopático de extratos de *Nicotiana tabacum* e *Eucalyptus grandis* sobre a germinação de três espécies de hortaliças. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 1, p. 43-50, jan./mai. 2004.

GOTO, B. T.; MAIA, L. C. Glomerospores: a new denomination for the spores of Glomerycota, a group molecularly distinct from the Zygomycota. **Mycotaxon**, Ithaca, v. 96, p.129-132, 2006.

GREGORICH, E. G.; CARTER, M. R.; ANGERS, D. A.; MONREAL, C. M.; ELLERT, B. H. Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. **Canadian journal of soil science**, Ottawa, v. 74, n. 4, p. 367-385, 1994.

GRISE, P. U.; GUALTIERI, S. C. J.; RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. Interferência alelopática da raiz de *Sapindus saponaria* e extratos aquosos de folhas maduras na germinação de diásporos e no crescimento de plântulas de *Lactuca sativa* e *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.35, n.1, p. 1-9, 2012.

GRIGERA, M.S.; DRIJBER, R.A.; WIENHOLD, B.J. Abundance of arbuscular mycorrhizal fungi in soil coincides with the reproductive stages of maize. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 39, p. 1401–1409, 2007.

HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W. F.; KLOEPPER, J. W. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, p. 895-914, 1997.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. **The water culture method of growing plants without soil**. Berkeley: University of California. 1950. p. 32.

HUSSAIN, A.; ANWAR, F.; NIGAM, P. S.; ASHRAF, M.; GILANI, A. H. Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha species*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, p. 1827-1836, 2010.

ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, Louvain, v.19, p.603-608, 2000.

INVAM – INTERNATIONAL CULTURE COLLECTION OF VESICULAR ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGY. Disponível em: <invam.caf.wvu.edu>. Acesso em: 10 de janeiro de 2020.

JAMAL, C. M.; SILVEIRA, D.; RONCHI, R.; ANDRADE, M. A.; BATITUCCI, M. C.; BRASILEIRO, B. G.; SILVA, M. B. O uso de extratos vegetais no controle alternativo da podridão pós-colheita da banana. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO CERRADO, IX, 2008, ParlaMundi. **Anais...** Brasília, DF: EMBRAPA Cerrados, 2008. p. 1-9.

JOBIM, P. F. C.; NUNES, L. N.; GIUGLIANI, R.; CRUZ, I. B. M. Existe uma associação entre mortalidade por câncer e uso de agrotóxicos? Uma contribuição ao debate. **Ciênc. Saúde Colet**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 1, p. 277-288, 2010.

KOECHLIN, F. **Engenharia genética versus agricultura orgânica: o fato e a ficção**. Publicação Original: IFOAM. Instituto Biodinâmico-IBD. 2003. p. 17.

KOONA, S.; BUDIDA, S. Antibacterial potential of the extracts of the leaves of *Azadirachta indica* Linn. **Notulae Scientia Biologicae**, Cluj-Napoca, v. 3, n. 1, p. 65-69, 2011.

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

LETOURNEAU, D.; BRUGGEN, A. Crop protection in organic agriculture. In: KRISTIANSEN, P.; TAJI, A.; REGANOLD, J. **Organic agriculture: a global perspective**. Austrália: CSIRO. 2006. p. 93-121.

LO, S. C.; WEIERGANG, I.; BONHAM, C.; HIPSKIND, J.; WOOD, K.; NICHOLSON, R. L. Phytoalexin accumulation in sorghum: identification of a methyl ether of luteolinidin. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.49, n.1, p.21-31, 1996.

LONDRES, F. **Agrotóxicos no Brasil**: um guia para ação em defesa da vida. 1ª ed., Rio de Janeiro: AS-PTA. 2011. p. 190.

LORENZI, H., MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. 1. ed., Nova Odessa: Editora Plantarum. 2002. p. 512.

LORENZI, H.; MATTOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil - Nativas e Exóticas**. 2 ed., Nova Odessa: Plantarum. 2008.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil. Arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. São Paulo: Plantarum. 1995.

LOZANO, C.; CORDOBA, N.; AVILA-DE-MORENO, C.; VELOSA, M. Evaluacion del efecto de hidrolatos de ajo (*Allium sativum*) y cebolla junca (*Allium fistulosum*) en el desarrollo de los hongos fitopatogenos *Botrytis alli* y *Sclerotium cepivorum*. **Fitopatologia Colombiana**, Cali, v. 24, p. 29-32, 2000.

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

MAIA, L. C; SILVA, F. S. B.; GOTO, B. T. Estrutura, ultraestrutura e germinação de glomerosporos. In: SIQUEIRA, O. J.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. (Ed.). **Micorrizas: 30 Anos de Pesquisa no Brasil**. 1 ed. Lavras: UFLA. 2010.

MAPA-**Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. 2016. Relação dos produtos fitossanitários com uso aprovado para a agricultura orgânica registrados. Brasília, Diário Oficial da União, jul. 2011.

MAPA-**Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. 2014. Instrução Normativa nº 17, de 18 de junho de 2014. Altera a Instrução Normativa nº 46, de 6 de outubro de 2011. Brasília, Diário Oficial da União, 20 jun. 2014.

MAPA/IBAMA/ANVISA – **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis/Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. 2011. Instrução Normativa Conjunta SDA/SDC/ANVISA/IBAMA nº 1, de 24 de maio de 2011. Estabelece os procedimentos para o registro de produtos fitossanitários com uso aprovado para a agricultura orgânica. Brasília, Diário Oficial da União, 25 maio. 2011.

MARTINS, E. R. Estudos em *Ocimum selloi* Benth isoenzimas, morfologia e óleo essencial. In: MING, L. C. et al (Coord). **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares**: avanços na pesquisa agrônômica. Botucatu: Universidade Estadual Paulista. 1998. p. 97-125.

MATA, M. F.; ARAUJO, E.; NASCIMENTO, L. C.; SOUZA, A. F.; VIANA, S. Incidência e controle alternativo de patógenos em sementes de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC,

- Cactaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 7, n. 4, p. 327- 334, out./dez. 2009.
- MATTOS, S. H.; CHAVES, C. M. C.; INNECCO, R.; CRUZ, G. F. Estudos sobre a época de corte e espaçamento de alecrim-pimenta. **Horticultura Brasileira**, Recife, v.18, p. 996-997, 2000.
- MCGONIGLE, T. P.; MILLER, M. H. Winter survival of extraradical hyphae and spores of arbuscular mycorrhizal fungi in the field. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 12, n. 1, p. 41-50, Apr. 1999.
- MEDICE, R. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da *soja Phakopsora pachyrhizi* Syd. e P. Syd. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 83-90, jan./feb. 2007.
- MELLONI, R.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Fungos micorrízicos arbusculares em solos de área de mineração de bauxita em reabilitação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n. 2, p. 267-276, 2003.
- MICHEREFF, S.J.; ANDRADE, E. G. T, D.; MENEZES, M. Importância dos patógenos e das doenças radiculares em solos tropicais. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Eds.). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária. 2005. p. 1-18.
- MILANESI, P. M. **Caracterização, toxicidade e patogenicidade de *Fusarium* spp. em genótipos de soja em sistema plantio direto**. 2009. 91 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.
- MORAIS, M. S.; ARAÚJO, E.; ARAÚJO, A. C.; BELÉM, L. F. Eficiência dos extratos de alho e agave no controle de *Fusarium oxysporum* S. **Rev. Bras. de Agroecologia**, Pelotas, v. 5, n. 2, p. 89-98, 2010.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. Lavras: Ed. UFLA. 2006. p. 83-161.
- MORTON, J. B.; BENNY, G. L. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. **Mycotaxon**, Ithaca, v. 37, p. 471–491, 1990.
- MUÑOZ-LEOZ, B.; GARBISU, C.; CHARCOSSET, J. Y.; SÁNCHEZ-PÉREZ, J. M.; ANTIGUEDAD, I.; RUIZ-ROMERA, E. Non-target effects of three formulated pesticides on microbially mediated processes in a clay-loam soil. **Science of The Total Environment**, v. 449, p. 345– 354, 2013.
- MUÑOZ-LEOZ, B.; GARBISU, C.; ANTIGÜEDAD, I.; RUIZ-ROMERA, E. Fertilization can modify the non-target effects of pesticides on soil microbial communities. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 48, p. 125–134, 2012.

NOVAIS, C. B.; BORGES, W. L.; JESUS, E. C.; JÚNIOR, O.J. S.; SIQUEIRA, J. O. Inter and intra-specific functional variability of tropical arbuscular mycorrhizal fungi isolates colonizing corn plants. **Applied Soil Ecology**, v. 76, p. 78–86, 2013.

OLIVEIRA, M. D. M. **Controle pré e pós-colheita em abacaxizeiro**. 85 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) - Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2008.

OLIVEIRA FILHO, A. T.; CARVALHO, D. A. Florística e fisionomia da vegetação no extremo norte do litoral da Paraíba. **Revista Brasileira de Botânica**, Lavras, v. 16, p. 115-130, 1993.

OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W. S.; MELLO, A. V.; DIDONET, J.; PORTELLA, A. C. F.; NASCIMENTO, I. R. Toxicidade de óleos essenciais de eucalipto e citronela *sobre Sitophilus zeamais Motschulsky* (Coleoptera: Curculionidae). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 4, p. 609-618, 2011.

PAULUS, G. **Do padrão moderno à agricultura alternativa: Possibilidades de Transição**. Dissertação de mestrado – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1999.

PASCHOAL, A. D. **Pragas da agricultura nos trópicos**. 72 p. (ABEAS – Curso de Agricultura Tropical – Módulo 3.1). 1996.

PELAEZ, V.; TERRA, F. H. B.; SILVA, L. R. D. A. A regulamentação dos agrotóxicos no Brasil: entre o poder de mercado e a defesa da saúde e do meio ambiente. **Revista de Economia**, Curitiba, v. 36, n. 1, p. 27–48, jan. 2010.

PEREIRA, R.B. **Potencial de óleos essenciais no manejo de ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro**. 119 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

PEREIRA, M. C.; VILELA, G. R.; COSTA, L. M. A. S.; SILVA, R. F.; FERNANDES, A. F.; FONSECA, E. W. N.; PICCOLI, R. H. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 731-738, 2006.

PEREIRA, R. B.; LUCAS, G. C.; PERINA, F. J.; RESENDE, M. L. V.; ALVES, E. Potencial de óleos essenciais para o controle da Brown Eye Spot em cafeeiros. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 115-23, 2011.

PEREIRA, A. I. A.; TAVARES, W. S.; FREITAS, S. S.; MAFEZOLI, J.; JESUS, F. G.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. Busca por Inseticidas Botânicos no Cerrado: um Argumento para a Conservação do Bioma e a Importância da Faveira (*Dimorphandra mollis* Benth., Fabaceae). In: VIEIRA, B. A. H.; PRADO, J. S. M.; NECHET, K. L.; MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. **Defensivos Agrícolas Naturais: Uso e perspectiva**. Brasília: EMBRAPA, 2016. p. 634.

PERINI, V. B. M.; CASTRO, H. G.; SANTOS, G. R.; AGUIAR, R. W. S.; LEÃO, E. U.; SEIXAS, P. T. Avaliação do efeito curativo e preventivo do óleo essencial do capim citronela no controle de *Pyricularia grisea*. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, Gurupi, v. 2, n. 2, p. 23-27. 2011.

PENTEADO, S. R. **Manual prático de agricultura orgânica**. fundamentos e técnicas. Campinas: Via Orgânica. 2007. p. 213.

PENTEADO, S. R. **Introdução à agricultura orgânica: normas e técnicas de cultivo**. Campinas: Grafimagem. 2000. p. 110.

PINHEIRO, S. L. G. O Enfoque sistêmico e o desenvolvimento rural sustentável: uma oportunidade de mudança da abordagem *Hard-System* para experiências com *Soft-System*. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, Porto Alegre, v.1, n.2, abr/jun, p. 27-37, 2000.

PIOTROWSKIA, J. S.; MORFORD, S. L.; RILLIGA, M. C. Inhibition of colonization by a native arbuscular mycorrhizal fungal community via *Populus trichocarpa* litter, litter extract, and soluble phenolic compounds. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, n. 3, v. 40, p. 709-717, 2008.

POLITO, W. L. **Fitoalexinas e a resistência natural das plantas às doenças**. 2005. Disponível em: <[http://www.inpofos.org/ppiweb/brazil.nsf/\\$webindex/article=D3E4CC9E8325709500820E30DA09CFA2!opendocument](http://www.inpofos.org/ppiweb/brazil.nsf/$webindex/article=D3E4CC9E8325709500820E30DA09CFA2!opendocument)>. Acesso em 24 de abril de 2020.

POLTRONIERI, L. S.; TRINDADE, D. R.; SILVA, J. F. **Principais Doenças do *Caupi Vigna unguiculata* (L.) Walp. no Pará e Recomendações de Controle**. Belém: EMBRAPA-CPATU. 1994.

POWLSON, D. S.; PROOKES, P. C.; CHRISTENSEN, B. T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. **Soil biology and biochemistry**, Oxford, v. 19, n. 2, p. 159-164, 1987.

PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico de pragas e doenças: técnicas alternativas para a produção agropecuária e defesa do meio ambiente**. São Paulo: Nobel. 1994.

PRIMAVESI, A. **Agroecologia: ecosfera, tecnosfera e agricultura**. São Paulo: Nobel. 1997.

ROCHA, S R.; MING, L. C.; MARQUES, M. M. Influência de cinco temperaturas de secagem no rendimento e composição do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt). **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botacatu, v. 3, n. 1, p. 73-78. 2000.

ROMAGNOLI, C.; BRUNI, R.; ANDREOTTI, E.; RAI, M.K.; VICENTINI, C.B.; MARES, D. Chemical characterization and antifungal activity of essential oil of capitula from wild Indian *Tagetes patula* L. **Protoplasma**, Heidelberg, v. 225, p. 57- 65, 2005.

ROSSET, P; ALTIERI, M. A. Agroecology versus input substitution: A fundamental contradiction of sustainable agriculture. **Society and Natural Resources**, v. 10, p. 283-295, 1997.

SAITO, M. L.; SCRAMIN, S. **Plantas aromáticas e seu uso na agricultura**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. 2000. p. 48.

SANTOS, V. M. C. S.; PINTO, M. A. S.; BIZZO, H. R.; DESCHAMPS, C. Seasonal variation of vegetative growth, essential oil yield and composition of menthol mint genotypes at southern Brazil. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 8, n. 5, p. 790- 798, 2012.

SANTOS, P. C.; SANTOS, V. H. M.; MECINA, G. F.; ANDRADE, A. R.; FIGUEIREDO, P. A.; MORAES, V. M. O.; SILVA, L. P.; SILVA, R. M. G. Insecticidal activity of *Tagetes* sp. on *Sitophilus zeamais* Mots. **International Journal of Environmental & Agriculture Research**, Bikaner, v. 2, n. 4, p. 31-38, 2016.

SANTOS, M.; SILVEIRA, M. **O Brasil: território e sociedade no início do século XXI**. 10^a ed. Rio de Janeiro: Record. 2008.

SCHUCH, L. F. **Benefícios da associação com *Glomus clarum* e adubação fosfatada em cultivares crioulas de milho**. 2013. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, Curitiba, v. 30, n. 1/2, p. 129-137, 2000.

SCHÜBLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycological Research**, Cambridge, v. 105, n. 12, p. 1413-1421, 2001.

SCHÜBLER, A. Molecular phylogeny, taxonomy, and evolution of *Geosiphon pyriformis* and arbuscular mycorrhizal fungi. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 244, p. 75–83, 2002.

SEIXAS, P. T. L.; CASTRO, H. C.; SANTOS, G. R.; CARDOSO, D. P. Controle fitopatológico do *Fusarium subglutinans* pelo óleo essencial do capimcitronela (*Cymbopogon nardus* L.) e do composto citronelal. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v. 13, especial, p. 523-526, 2011.

SHAPIRO, S. S; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, London, v. 52, n. 3/4, p. 591-611, dez. 1965.

SILVA, V. M. G.; CRAVEIRO, A. A; ABREU MATOS, F. J.; MACHADO, M. I. L.; ALENCAR, J. W. Chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves. **Fitoterapia**, Carlet, v. 70, n. 1, p. 32-34, 1999.

SILVA, M. G.; DINIZ, M. F. F. M.; OLIVEIRA, R. A. G. **Fitoterápicos: guia do profissional farmacêutico**. João Pessoa: Secretaria e Coordenação Estadual de Saúde. Núcleo de assistência farmacêutica. 2002. p. 36.

SILVA, M. B.; ROSA, M. B.; BRASILEIRO, B. G.; ALMEIDA, V.; SILVA, C. C. A. Desenvolvimento de produtos à base de extratos de plantas para o controle de doenças de plantas. In: VENEZON, M.; PAULA JR., T. J.; PALLINI, A. (Eds.). **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG/CTZM. 2005. p. 221- 246.

SILVA, J. L.; TEIXEIRA, R. N. V.; SANTOS, D. I. P.; PESSOA, J. O. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o crescimento *in vitro* de fitopatógenos. **Revista Verde**, Mossoró, v.7, n.1, p. 80 – 86, 2012.

SIQUEIRA, D. F.; MOURA, R. M.; LAURENTINO, G. E. C.; ARAÚJO, A. J.; CRUZ, S. L. Análise da exposição de trabalhadores rurais a agrotóxicos. **Rev. Bras. Prom. Saúde**, Fortaleza, v. 26, n. 2, p. 182-191, 2013.

SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**. 3rd ed., San Diego: Academic Press, 2008. p. 787.

SMITH, S. E.; READ, D. J. **Micorrhizal Symbiosis**. London: Academic Press. 1997.

SONAGLIO, D.; ORTEGA, G. G.; PETROVICK, P. R.; BASSANI, V. L. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS. 2003. p. 289-326.

SOUZA, J. L.; RESENDE, P. **Manual de horticultura orgânica**. 2ª ed., Viçosa: Aprenda Fácil. 2006. p. 843.

SOUZA, A. E. F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L. C. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 6, p. 465-471, 2007.

SOUZA, T. G.; BLUM, L. E. B. Uso de *Trichoderma harzianum* e condicionador orgânico de solo para controle da podridão por *Sclerotium rolfsii* em alho. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 29, n. 1, p. 1616-1623, nov., 2013.

SOUZA, V. C.; SILVA, R. A.; CARDOSO, G. D.; BARRETO, A. F. Estudos sobre fungos micorrízicos. **Rev. bras. eng. agríc. ambient**, Campina Grande, v. 10, n. 3, p. 612-618, 2006.

SOUZA, F. A.; SILVA, I. C. L.; BERBARA, R. L. L. Fungos micorrízicos arbusculares: muito mais diversos do que se imaginava. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (Ed.). **Biodiversidade do Solo em Ecossistemas Brasileiros**. Lavras: UFLA. 2008.

SOUZA, F. A.; STÜRMER, S. L.; CARRENHO, R.; GOTO, B. T. Classificação e taxonomia de fungos micorrízicos arbusculares, sua diversidade e ocorrência no Brasil. In: SIQUEIRA, O. J.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. Eds. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: UFLA. 2010.

SPATAFORA, J. W. et al. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. **Mycologia**, Nova York, v. 108, n. 5, p. 1028-1046, 2016.

STAUFFER, B. A.; ORREGO, F. A.; AQUINO, J. A. Selección de extractos vegetales con efecto fungicida y bactericida. **Revista Ciencia y Tecnología: Dirección de Investigaciones – UMA**, Madrid, v. 1, n. 2, 2000.

- STEFFEN, R. B.; ANTONIOLLI, Z. I.; STEFFEN, G. P. K.; SILVA, R. F. Óleo essencial de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden no estímulo à micorrização de mudas de sibipiruna (*Caesalpinia peltophoroides* Benth.). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 22, n. 1, p. 69-78, 2012.
- STORCK, L.; GARCIA, D.C.; LOPES, S.J.; ESTEFANEL, V. **Experimentação Vegetal**. 3. ed. Santa Maria: UFSM. 2016.
- STOTZKY, G. Microbial respiration. In: BLACK, C. A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: American Society of Agronomy. 1965. p. 1550-1572.
- STRANGE, R. N.; SCOTT, P. R. Plant disease: a threat to global food security. **Annu Rev Phytopathol**, v. 43, p. 83-116, 2005.
- UHLMANN, L. A. C; OLIVEIRA, R. J; SANTOS, M. G. Efeitos alelopáticos de extratos vegetais de *Hancornia speciosa* Gomes, na germinação de *Lactuca sativa* L. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 2, p. 147-160, 2018.
- VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. Na extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 19, n. 6, p. 703-707, 1987.
- VALMORBIDA, J.; BOARO, C. S. F.; MARQUES, M. O. M.; FERRI, A. F. Rendimento e Composição química de óleos essenciais de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva com diferentes concentrações de potássio. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 4, p. 56-61, 2006.
- VASUDEVAN, P.; KASHYAP, S.; SHARMA, S. Tagetes: a multipurpose plant. **Bioresource Technology**, v. 62, p. 29-35, 1997.
- VENTUROSO, L.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CONUS, L. A.; PONTIM, B. C. A.; BERGAMIN, A. C. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 1, p. 18-23, 2011.
- VIEIRA, L. S. **Fitoterapia da Amazônia**: manual de plantas medicinais. 2 ed., São Paulo: Ed. Agronômica Ceres Ltda. 1992. p. 347.
- VILANOVA, C.; SILVA JÚNIOR, C. D. S. A Teoria da trofobiose sob a abordagem sistêmica da agricultura: eficácia de práticas em agricultura orgânica. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v.4, n.1, p.39-50, 2009.
- TEIXEIRA, F. P.; CAMPOS, A. N. R.; FERREIRA, F. M. C.; MARTINS, G. S. L.; BENEVENUTO, R. B. Caldas caseiras alternativas: efeito na respiração microbiana do solo. **Rev. Bras. de Agroecologia**, Pelotas, v. 12, n. 2, p. 126-132, 2017.
- TILMAN, D. Global environmental impacts of agricultural expansion: The need for sustainable and efficient practices. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 96, n. 11, p. 5995-6000, 1999.

TINOCO, M. L. P. **Silenciamento trans-específico *in vivo* entre fumo e o fungo fitopatogênico *Fusarium verticilloides***. Tese (Doutorado) - Universidade de Brasília, Brasília, 2010.

TÓTOLA, M. R.; CHAER, G. M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade dos solos. In: CURI, N.; MARQUES, J. J.; GUILHERME, L. R. G.; LIMA, J. M.; LOPES, A. S. S.; ALVAREZ V. V. H. **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 2002. p. 195-276.

TSCHARNTKE, T.; KLEIN, A. M.; KRUESS, A.; STEFFAN-DEWENTER, I.; THIES, C. Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity - Ecosystem service management. **Ecology Letters**, Montpellier, v. 8, n. 8, p. 857–874, 2005.

TUKEY JUNIOR, H. B. Implications of allelopathy in agricultural plant science. **Botanical Review**, Bronx, v. 35, p. 1-16, 1969.

WALKER, C.; SANDERS, F. E. Taxonomic concepts in the Endogonaceae: III. The separation of *Scutellospora* gen. nov. from *Gigaspora* Gerd. and Trappe. **Mycotaxon**, Ithaca, v. 27, p. 169–182, 1986.

ZEHNDER, G.; GURR, G.M.; KÜHNE, S.; WADE, M.R.; WRATTEN, S.D.; WYSS, E. Arthropod pest management in organic crops. **Annual Review of Entomology**, Ottawa, v. 52, p, 57-80, 2007.

ANEXO A – Teste de variâncias de todas as análises estudadas.

Tabela 8 - Teste de variância para a concentração do extrato de *Allium sativum* na variável biomassa microbiana do solo.

FV	QM	Fc	Pr<Fc
Concentração	118601,380383	1,899	0,1631
Erro	62468,056458		
CV (%)	14,43		
Média Geral	1731,6917939	Número de Observações 20	

Tabela 9 - Teste de variância para a concentração do extrato de *Mentha spicata* na variável biomassa microbiana do solo.

FV	QM	Fc	Pr<Fc
Concentração	8632,821622	0,178	0,9464
Erro	48546,299367		
CV (%)	16,13		
Média Geral	1365,5626718	Número de Observações 20	

Tabela 10 - Teste de variância para a concentração do extrato de *Cymbopogon nardus* na variável biomassa microbiana do solo.

FV	QM	Fc	Pr<Fc
Concentração	73638,767769	0,891	0,4931
Erro	82624,629164		
CV (%)	20,54		
Média Geral	1399,4896947	Número de Observações 20	

Tabela 11 - Teste de variância para a concentração do extrato de *Tagetes patula* na variável biomassa microbiana do solo.

FV	QM	Fc	Pr<Fc
Concentração	93981,852054	1,963	0,1521
Erro	47866,864332		
CV (%)	14,98		
Média Geral	1460,2756107	Número de Observações 20	

Tabela 12 - Teste de variância para a concentração do extrato de *Allium sativum* na variável atividade microbiana do solo.

FV	QM	Fc	Pr<Fc
Concentração	30100,882247	60,786	0,0000
Erro	495,195348		
CV (%)	11,14		
Média Geral	199,7606931	Número de Observações	20

Tabela 13 - Teste de variância para a concentração do extrato de *Mentha spicata* na variável atividade microbiana do solo.

FV	QM	Fc	Pr<Fc
Concentração	3184,350354	7,808	0,0013
Erro	407,851475		
CV (%)	13,84		
Média Geral	145,9469284	Número de Observações	20

Tabela 14 - Teste de variância para a concentração do extrato de *Cymbopogon nardus* na variável atividade microbiana do solo.

FV	QM	Fc	Pr<Fc
Concentração	3393,364983	6,909	0,0023
Erro	491,124235		
CV (%)	17,85		
Média Geral	124,1215316	Número de Observações	20

Tabela 15 - Teste de variância para a concentração do extrato de *Tagetes patula* na variável atividade microbiana do solo.

FV	QM	Fc	Pr<Fc
Concentração	5432,992459	10,148	0,0003
Erro	535,351324		
CV (%)	15,43		
Média Geral	149,9454744	Número de Observações	20

Tabela 16 - Teste de variância para a concentração do extrato de *Allium sativum* na variável coeficiente metabólico microbiano do solo.

FV	QM	Fc	Pr<Fc
Concentração	165,715547	13,374	0,0001
Erro	12,390908		
CV (%)	44,59		
Média Geral	7,8951030	Número de Observações 20	

Tabela 17 - Teste de variância para a concentração do extrato de *Mentha spicata* na variável coeficiente metabólico microbiano do solo.

FV	QM	Fc	Pr<Fc
Concentração	72,249531	12,510	0,0001
Erro	5,775363		
CV (%)	35,13		
Média Geral	6,8411382	Número de Observações 20	

Tabela 18 - Teste de variância para a concentração do extrato de *Cymbopogon nardus* na variável coeficiente metabólico microbiano do solo.

FV	QM	Fc	Pr<Fc
Concentração	70,923239	11,943	0,0001
Erro	5,938315		
CV (%)	40,36		
Média Geral	6,0378080	Número de Observações 20	

Tabela 19 - Teste de variância para a concentração do extrato de *Tagetes patula* na variável coeficiente metabólico microbiano do solo.

FV	QM	Fc	Pr<Fc
Concentração	46,363553	7,573	0,0015
Erro	6,122401		
CV (%)	38,44		
Média Geral	6,4365245	Número de Observações 20	

Tabela 20 - Análise de variância para porcentagem de inibição do crescimento micelial de *F. oxysporum* submetido a diferentes extratos vegetais, em diferentes épocas de avaliação.

FV	QM	Fc	Pr<Fc
Extratos vegetais	4660,698457	271,974	0,0000
Erro	17,136574		
CV (%)	13,41		
Média Geral	30,8638889	Número de Observações	20

Tabela 21 - Teste de variância para porcentagem de colonização micorrízica.

FV	QM	Fc	Pr<Fc
Fungo	26732,692083	140,720	0,0000
Concentração	2929,092290	15,419	0,0000
Fungo x Concentração	1002,832064	5,279	0,0024
Erro	189,970859		
CV (%)	29,63		
Média Geral	46,5140456	Número de Observações	40

Tabela 22 - Teste de variância para a variável intensidade de colonização micorrízica.

FV	QM	Fc	Pr<Fc
Fungo	737,988379	46,939	0,0000
Concentração	196,472984	12,496	0,0000
Fungo x Concentração	64,257383	4,087	0,0092
Erro	15,722436		
CV (%)	69,06		
Média Geral	5,7415625	Número de Observações	40

Tabela 23 - Teste de variância para altura de plantas de milho inoculadas com os fungos micorrízicos arbusculares.

FV	QM	Fc	Pr<Fc
Fungo	148,996000	7,842	0,0088
Concentração	16,038500	0,844	0,5083
Fungo x Concentração	6,117250	0,322	0,8610
Erro	18,999333		
CV (%)	19,54		
Média Geral	22,3050000	Número de Observações	40

Tabela 24 - Teste de variância para matéria seca da parte aérea de plantas de milho inoculadas com os fungos micorrízicos arbusculares.

FV	QM	Fc	Pr<Fc
Fungo	0,346649	13,324	0,0010
Concentração	0,055787	2,144	0,0997
Fungo x Concentração	0,006475	0,249	0,9081
Erro	0,026016		
CV (%)	24,04		
Média Geral	0,6710425	Número de Observações 40	

Tabela 25 - Teste de variância para matéria fresca de raiz de plantas de milho inoculadas com os fungos micorrízicos arbusculares.

FV	QM	Fc	Pr<Fc
Fungo	2,912383	4,028	0,0538
Concentração	1,677760	2,321	0,0797
Fungo x Concentração	1,048115	1,450	0,2421
Erro	0,722966		
CV (%)	24,37		
Média Geral	3,4889775	Número de Observações 40	