

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

SUIANE SARAIVA DOS SANTOS

**ESTUDOS DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS E
HIDROLATOS DE RESINAS DE *PROTIUM ALTSONII* NO CONTROLE DE
FITOPATÓGENOS**

MANAUS

2024

SUIANE SARAIVA DOS SANTOS

**ESTUDOS DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS E
HIDROLATOS DE RESINAS DE *PROTIUM ALTSONII* NO CONTROLE DE
FITOPATÓGENOS**

Dissertação apresentada ao Programa
Multi-Institucional de Pós-Graduação em
Biotecnologia da Universidade Federal do
Amazonas para a obtenção do título de
Mestre em Biotecnologia.

ORIENTADOR: DR. VALDIR FLORÊNCIO DA VEIGA JUNIOR

CO-ORIENTADOR: DR. PAULO DE TARSO BARBOSA SAMPAIO

MANAUS

2024

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S237e Santos, Suiane Saraiva dos
Estudos da atividade antifúngica dos óleos essenciais e
hidrolatos de resinas de *Protium altsonii* no controle de
fitopatógenos / Suiane Saraiva dos Santos. - 2024.
73 f. : il., color. ; 31 cm.

Orientador(a): Valdir Florêncio da Veiga Junior.
Coorientador(a): Paulo de Tarso Barbosa Sampaio.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Amazonas,
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Manaus, 2024.

1. Biopesticidas.. 2. Propriedades biológicas. 3. Controle
alternativo. 4. Amazônia. I. Veiga Junior, Valdir Florêncio da. II.
Sampaio, Paulo de Tarso Barbosa. III. Universidade Federal do
Amazonas. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. IV.
Título

SUIANE SARAIVA DOS SANTOS

**ESTUDOS DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS E
HIDROLATOS DE RESINAS DE *PROTIUM ALTSONII* NO CONTROLE DE
FITOPATÓGENOS**

Dissertação apresentada ao Programa
Multi-Institucional de Pós-Graduação em
Biotecnologia da Universidade Federal do
Amazonas para a obtenção do título de
Mestre em Biotecnologia.

Aprovada em dezenove de dezembro de dois mil e vinte e quatro.

BANCA EXAMINADORA

Doutor Valdir Florêncio da Veiga Junior (Presidente)

Instituto Militar de Engenharia

Doutor Luiz Antonio de Oliveira (Membro)

Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Doutora Rosany Piccolotto Carvalho (Membro)

Universidade Federal do Amazonas

Ao meu Deus, dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, meu Senhor, e Salvador pelo dom da vida. Por que Ele tem sido minha força, esperança e fé. Meu alento nos momentos difíceis, que milagrosamente, dia após dia, me deu condições para concluir essa jornada tão desafiadora. Sem Ele não teria conseguido. Obrigada meu Pai, meu Amigo e Consolador.

À minha família que sempre foi minha base. À minha mãe Tânia e minha tia Temis por estarem sempre ao meu lado. À minha irmã Rebeca por seu amor e compreensão. Ao meu marido Joel, meu grande incentivador nessa jornada, pelo seu amor e fidelidade. Obrigada pela paciência, compreensão, apoio e por sempre acreditar que eu poderia ir mais longe. Ao meu filho Willian Samuel por me permitir ser sua mãe. Te amo profundamente. Aos meus familiares que longe ou perto sempre torceram por mim.

Agradeço ao meu orientador, profº Drº Valdir Veiga e ao meu co-orientador Drº Paulo de Tarso por acreditarem em mim. Obrigada pelo apoio, paciência e confiança depositados. Apesar dos desafios que enfrentei os senhores sempre me apoiaram e me incentivaram a continuar e finalizar esta pesquisa.

Agradeço ao profº Drº Pedro Queiroz pela oportunidade de realizar parte da pesquisa no Laboratório de Princípios Bioativos de Origem Microbiana de Moléculas. Agradeço especialmente aos meus colegas de laboratório Ingrid Lopes e Kelven Coelho que me auxiliaram pacientemente na realização dos ensaios com fungos fitopatogênicos. Sem a ajuda e apoio de vocês não teria conseguido. Muito obrigada.

Agradeço ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia pela oportunidade de realizar parte da minha pesquisa nos laboratórios e realizar as coletas de campo na Reserva Ducke. Agradeço ao Laboratório de Fitopatologia, especialmente à Antônia e ao querido senhor Luiz (Tirico) por serem tão generosos comigo.

Agradeço aos colegas do Laboratório de Silvicultura e Tecnologias Digitais (INPA) pelo apoio durante a pesquisa de mestrado. Agradeço especialmente a minha colega Gloria Macia que gentilmente me acompanhou na coleta de campo. Agradeço também a minha colega Katiane pela sua amizade, apoio e pelas boas conversas no laboratório.

Agradeço ao parobotânico senhor Edmilson pela ajuda na coleta de resinas na Reserva Ducke.

Agradeço as minhas colegas de mestrado, Nilcivane e Suzane. A amizade de vocês tornou essa jornada mais leve e acolhedora. Obrigada por dividirem comigo as angustias, alegrias, tristezas e vitórias durante esse período desafiador.

Agradeço as minhas amigas Sara Laís e Paloma. Obrigada pelas orações, pelos conselhos e pela torcida. A amizade de vocês é um presente para mim. Agradeço também ao amigo querido Kirk Soares, sempre com uma palavra de fé e esperança.

Agradeço à Universidade Federal do Amazonas e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec) pela oportunidade de realizar esta etapa tão especial na minha formação acadêmica e profissional. Agradeço aos queridos professores e à coordenação do PPGBiotec.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

A todos, que direta ou indiretamente fizeram parte dessa jornada, meu mais profundo e sincero obrigada.

RESUMO

O uso de fungicidas no controle de fungos fitopatogênicos é considerado um grande desafio para a agricultura mundial, pois o uso desses produtos está associado a diversos problemas ambientais e danos à saúde humana. Nesse contexto, os óleos essenciais vegetais são uma alternativa em substituição aos pesticidas sintéticos usados na produção agrícola. As oleorresinas da espécie *Protium altsonii* possuem atividades biológicas promissoras e representam uma alternativa sustentável para o desenvolvimento de biopesticidas eficientes para o controle de fitopatógenos. Este estudo teve como objetivo avaliar o potencial antifúngico de oleorresinas de *Protium altsonii*, seus óleos essenciais e hidrolatos no controle de fungos patogênicos. Foram avaliados os fungos *Alternaria japonica*, *Colletotrichum guaranicola*, *Colletotrichum spp.* e *Pestalotiopsis spp.* As amostras de oleorresinas de *P. altsonii* (28g e 33g) foram submetidas à hidrodestilação em Clevenger por 3 horas. Os óleos essenciais e hidrolatos foram coletados e mantidos sob refrigeração. Os óleos essenciais obtidos foram submetidos à análise por cromatografia em fase gasosa (CG-EM) para quantificação da composição química. A determinação da atividade antifúngica foi realizada pelo método de difusão disco. A determinação da concentração mínima inibitória (CMI) e concentração fungicida mínima (CFM) foram realizadas pelo método de microdiluição em poços e em placas de Petri contendo caldo batata dextrose estéril, respectivamente. As análises de CG-EM possibilitaram a identificação de 34 constituintes para a amostra BRALT01, com predominância de monoterpenos (73,22%) e sesquiterpenos (24,41%). Os constituintes majoritários foram p-cimeno (34,73%), α -felandreno (13,86%), α -pineno (6,85%) e β -acoradieno (9,62%). Na amostra BRALT02, foram identificados 25 constituintes, com predominância de monoterpenos (90,21%) e sesquiterpenos (8,45%). Os componentes majoritários foram p-cimeno (51,6%), trans-dihidro- α -terpineol (15,1%), α -pineno (6,92%), α -terpineno (3,77%) e α -felandreno (3,34%). Os óleos essenciais BRALT01 e BRALT02 apresentam atividade antifúngica para os fungos *Alternaria japonica*, *Colletotrichum guaranicola*, *Colletotrichum spp.* com formação de halos de inibição acima de 1,0 cm. O óleo BRALT02 apresentou melhores resultados para atividade antifúngica (halos de inibição entre 1,70 cm-1,95 cm) em comparação ao óleo BRALT01 (halos de inibição entre 1,19-1,45cm), para *A. japonica*, *C. guaranicola* e *Colletotrichum spp.* Os óleos não apresentaram atividade antifúngica para *Pestalotiopsis spp.* Os hidrolatos não apresentaram atividade antifúngica para nenhum fitopatógeno testado. O óleo BRALT02 foi mais eficiente do que o óleo BRALT01 apresentando os menores valores de CIM e CFM para todos os patógenos testados. Os óleos essenciais de resina de *Protium altsonii* são uma alternativa promissora para o controle de fitopatógenos, representando menor risco à saúde humana e ao meio ambiente.

Palavras-chave: Biopesticidas. Propriedades biológicas. Controle alternativo. Amazônia.

ABSTRACT

The use of fungicides to control phytopathogenic fungi is considered a major challenge for global agriculture, since the use of these products is associated with several environmental problems and harm to human health. In this context, vegetable essential oils are a promising alternative to synthetic pesticides used in agricultural production. Oleoresins from the species *Protium altsonii* have biological activities and represent a sustainable alternative for the development of efficient biopesticides for the control of phytopathogens. This study aimed to evaluate the antifungal potential of *Protium altsonii* oleoresins, its essential oils and hydrolates in the control of pathogenic fungi. The fungi *Alternaria japonica*, *Colletotrichum guaranicola*, *Colletotrichum* spp. and *Pestalotiopsis* spp. were evaluated. The oleoresin samples from *P. altsonii* (28 g and 33 g) were subjected to hydrodistillation in Clevenger for 3 hours. The essential oils and hydrolates were collected and kept under refrigeration. The obtained essential oils were subjected to gas chromatography (GC-MS) analysis to quantify their chemical composition. The determination of antifungal activity was performed by the disk diffusion method. The determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) were performed by the microdilution method in wells and in Petri dishes containing sterile potato dextrose broth, respectively. The GC-MS analyses allowed the identification of 34 constituents for the BRALT01 sample, with a predominance of monoterpenes (73.22%) and sesquiterpenes (24.41%). The major constituents were p-cymene (34.73%), α -phellandrene (13.86%), α -pinene (6.85%) and β -acoradiene (9.62%). In sample BRALT02, 25 constituents were identified, with a predominance of monoterpenes (90.21%) and sesquiterpenes (8.45%). The major components were p-cymene (51.6%), trans-dihydro- α -terpineol (15.1%), α -pinene (6.92%), α -terpinene (3.77%) and α -phellandrene (3.34%). The essential oils BRALT01 and BRALT02 showed antifungal activity against the fungi *Alternaria japonica*, *Colletotrichum guaranicola*, *Colletotrichum* spp. with the formation of inhibition halos above 1.0 cm. The BRALT02 oil showed better results for antifungal activity (inhibition zones between 1.70 cm-1.95 cm) compared to the BRALT01 oil (inhibition zones between 1.19-1.45 cm) for *A. japonica*, *C. guaranicola* and *Colletotrichum* spp. The oils did not show antifungal activity for *Pestalotiopsis* spp. The hydrolates did not show antifungal activity for any phytopathogen tested. The BRALT02 oil was more efficient than the BRALT01 oil, presenting the lowest MIC and CFM values for all pathogens tested. *Protium altsonii* resin essential oils are a promising alternative for the control of phytopathogens, representing a lower risk to human health and the environment.

Keywords: Biopesticides. Biological properties. Alternative control. Amazon.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma das etapas realizadas durante a pesquisa	38
Figura 2. Esquematização do teste de determinação da CMI..	45
Figura 3. Espectro de massas (GC-MS) de <i>P. altsonii</i> (BRALT01).....	47
Figura 4. Espectro de massas (GC-MS) de <i>P. altsonii</i> (BRALT02).....	49
Figura 5. Zonas de inibição de crescimento micelial para fitopatógenos	53

LISTA DE SIGLAS

BDA	Água Batata Dextrose
BOD	<i>Biochemical Oxygen Demand</i>
CAM/UFAM	Central Analítica da Universidade Federal do Amazonas
CG-EM	Cromatografia Gasosa Acoplada ao Espectrômetro de Massa
DMSO	Dimetilsulfóxido ou Sulfóxido de Dimetilo
INPA	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
LASTED	Laboratório de Silvicultura e Tecnologias Digitais
LABCEM	Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas
LPBOM	Laboratório de Princípios Bioativos de Origem Microbiana de Moléculas
NIH	<i>National Institutes of Health</i>
UFAM	Universidade Federal do Amazonas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo Geral	15
2.2	Objetivos Específicos	15
3	REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1	Óleos essenciais	16
3.1.1	Óleos essenciais no controle de fitopatógenos	18
3.2	Gênero <i>Colletotrichum</i> spp.	22
3.3	Gênero <i>Pestalotiopsis</i> spp.	26
3.4	Gênero <i>Alternaria</i> spp.	27
3.5	Família Burseraceae	30
3.6	Gênero <i>Protium</i> Burm. f.	31
3.7	Caracterização química de oleorresinas de breu	32
3.5	Atividades biológicas de oleorresinas de <i>Protium</i>	34
3.6	<i>Protium altsonii</i> Sandwith	35
4	METODOLOGIA	37
4.1	Obtenção das resinas de <i>Protium altsonii</i>	38
4.1.1	Coleta do material vegetal	38
4.1.2	Armazenamento das amostras	38
4.2	Extração do óleo essencial	38
4.2.1	Análise de rendimento em óleos essenciais e densidade	39
4.3	Caracterização química	40
4.3.1	Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas	40
4.3.2	Caracterização química das oleorresinas de <i>P. altsonii</i>	40
4.4	Atividade antifúngica dos óleos essenciais e hidrolatos de <i>P. altsonii</i>	42
4.4.1	Microorganismos e condições de cultivo	42
4.4.2	Padronização dos inóculos fúngicos	42
4.4.3	Determinação da atividade antifúngica	42
4.4.4	Determinação da Concentração Inibitória Mínima	43
4.4.5	Determinação da Concentração Fungicida Mínima	44
4.5	Análise Estatística	44
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1	Rendimento dos óleos essenciais	45

5.2 Perfil químico dos óleos essenciais de <i>P. altsonii</i>.	45
5.3 Atividade antifúngica dos óleos essenciais e hidrolatos de <i>P. altsonii</i>	51
5.3.1 Avaliação da atividade antifúngica por difusão em ágar	51
5.3.2 Concentração Mínima Inibitória e Concentração Fungicida Mínima	52
6 CONCLUSÕES	59
REFERÊNCIAS	60

1 INTRODUÇÃO

Os fungos fitopatogênicos representam provavelmente o grupo mais diverso de ameaças ecologicamente e economicamente relevantes em culturas de plantas. Os fungos patogênicos são micro-organismos parasitas que habitam no interior de tecidos vegetais, causando diversas doenças nas plantas. Esses micro-organismos diminuem o rendimento e qualidade das colheitas e causam enormes prejuízos na produção agrícola mundial (Doehlemann et al, 2017; Peng et al, 2021).

O controle doenças em plantações de alimentos ao redor do mundo é considerado um grande desafio para a agricultura mundial. Doenças causadas por microrganismos levam a grandes perdas e causam prejuízos econômicos significativos. Os fungos patogênicos afetam diversas espécies vegetais e frequentemente causam doenças durante os estágios de produção e pós-colheita em grãos de cereais, frutas, vegetais e em espécies florestais produtoras de madeira (Patriarca; Vaamonde; Fernández Pinto et al, 2014; Patil et al, 2024).

O uso de defensivos químicos como mecanismo de controle de pragas e doenças aliado ao aumento da produção de alimentos, trouxe sérios problemas ambientais e danos à saúde humana. O uso recorrente de fungicidas químicas está associado ao surgimento de patógenos resistentes ocasionando surtos de doenças, ao desequilíbrio no controle biológico natural, contaminação da atmosfera, solo, água, bem como efeitos adversos à saúde humana (Khedhri et al, 2023).

Devido às preocupações ambientais e à crescente necessidade de produzir alimentos mais seguros, torna-se necessário encontrar alternativas para o controle de fitopatógenos. Os pesticidas botânicos, especialmente feitos à base de óleos essenciais vegetais representam uma alternativa em relação aos pesticidas sintéticos, para aplicação em sistemas agrícolas (Campos et al, 2019).

Os óleos essenciais são substâncias naturais voláteis de composição complexa, constituídos principalmente de mono e sesquiterpenos e fenilpropanóides produzidos a partir do metabolismo secundário da planta. A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais está relacionada à composição química de seus componentes, à concentração em que estão presentes e às suas interações, que podem influenciar

suas características bioativas (da Cruz Cabral; Pinto; Patriarca, 2013; Gutiérrez-del-río; Fernández; Lombó, 2018).

A região amazônica é considerada uma fonte de recursos naturais devido a sua biodiversidade, abrigando espécies vegetais produtoras de substâncias bioativas, tais como, os óleos voláteis ou essenciais. As espécies vegetais da família Burseraceae especificamente do gênero *Protium* destacam-se pela sua abundância na região amazônica e produzem uma resina aromática denominada de breu ou almecegueira. Estas oleorresinas destacam-se devido às diversas atividades biológicas e propriedades farmacológicas (Murthy et al, 2016).

Protium altsonii é uma espécie arbórea que ocorre naturalmente na América do Sul e é encontrada nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste do território brasileiro (Daly, 2015). A espécie produz uma resina que exsuda do tronco de coloração branca, transparente, translúcida, de odor almiscarado. A resina e os óleos essenciais obtidos da casca, madeira e folhas são amplamente utilizados na medicina popular (Tostes, 2015). A composição volátil da oleorresina de *Protium altsonii* é formada principalmente de monoterpenos e sesquiterpenos, sendo possível encontrar outras classes de compostos em menor concentração (Zoghbi et al, 2005).

Estudos direcionados para investigar potencial biológico das oleorresinas de *Protium altsonii* são escassos na literatura. Apesar disso, as pesquisas já realizadas apontam atividades biológicas promissoras para os óleos essenciais das resinas desta espécie. As oleorresinas de *Protium altsonii* apresentaram ação antifúngica, potencial leishmanicida e potencial de inibição contra fitopatogênicos *Aspergillus niger* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Santana et al, 2020; Tostes, 2015).

Nesse sentido, o trabalho proposto investigar potencial antifúngico *in vitro* dos óleos essenciais e hidrolatos de *Protium altsonii* no controle dos fitopatógenos *Alternaria japonica*, *Coletotrichum guaranicola*, *Colletotrichum spp.* e *Pestalotiopsis spp.*

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial antifúngico da oleoresina de *Protium altsonii*, seus óleos essenciais e hidrolatos no controle de fungos patogênicos.

2.2 Objetivos Específicos

- I. Identificar os constituintes químicos nos extratos produzidos;
- II. Analisar a atividade antifúngica *in vitro* dos extratos sobre o crescimento micelial sobre os fitopatógenos *Alternaria japonica*, *Colletotrichum guaranicola*, *Colletotrichum spp.* e *Pestalotiopsis spp.*;
- III. Avaliar a concentração mínima inibitória e concentração fungicida mínima dos extratos sobre os fitopatógenos *Alternaria japonica*, *Colletotrichum guaranicola*, *Colletotrichum spp.* e *Pestalotiopsis spp.*;

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Óleos essenciais

As plantas produzem uma grande diversidade de compostos químicos, denominados de metabólitos primários e secundários, que têm um papel fundamental na evolução das plantas e na interação com outros organismos vivos. Os metabólitos primários são produzidos por todas as plantas e que têm um papel direto no seu crescimento e desenvolvimento. Os metabólitos secundários são compostos especializados e são importantes para interação das plantas com o meio ambiente, na mediação entre fatores bióticos e abióticos. Devido a complexa inter-relação entre plantas e insetos e sua forma peculiar de comunicação com a sua biota associada, essas substâncias são também designadas de metabólitos especiais. Os metabólitos secundários pertencem a uma das três principais classes químicas: terpenos, compostos fenólicos e nitrogenados (Gottlieb; Borin, 2012; Pacheco Borges; Alves Amorim, 2020).

As plantas produzem uma alta diversidade de metabólitos secundários, com mais de 100.000 substâncias identificadas, que estão envolvidos na defesa químicas das plantas, resultado da interação das plantas com predadores durante o processo evolutivo ao longo de milhões de anos. Entre essas moléculas, estima-se que aproximadamente 3000 óleos essenciais tenham sido identificados, dos quais 300 são comercialmente importantes e usados para fins alimentícios, farmacêuticos, cosméticos, agrônômicos, sanitários e na perfumaria (Palazzolo et al, 2013; Wink, 1999).

Óleo essencial (OE) é definido pela Organização Internacional de Normatização (*International Organization for Standardization* – ISO) como o produto que é obtido pelo processo de destilação a vapor, destilação a seco, hidrodestilação ou prensagem a frio (frutas cítricas), a partir de partes de uma planta ou uma planta inteira (Rubiolo et al, 2010). Os processos de extração por arraste a vapor e hidrodestilação geram como sub-produto o hidrolato. Os hidrolatos são soluções aquosas contendo principalmente água da destilação (ou água de outros processos), além de traços de óleo volátil. Embora essa solução contenha um teor reduzido de óleo essencial, é o suficiente para fornecer um aroma intenso. Estas

soluções são amplamente utilizadas na indústria de perfumaria, na culinária e na medicina terapêutica (Souza et al, 2007).

A composição dos óleos essenciais envolve uma diversidade de compostos, dentre os quais predominam os terpênicos (monoterpenos e sesquiterpenos) e fenilpropanóides. No entanto, outras classes de compostos químicos estão presentes na composição química dos óleos voláteis. Óleos essenciais possuem composição química muito complexa, um único óleo pode conter 20-200 compostos químicos diferentes (Baser; Buchbauer, 2009; Maleck et al, 2021).

Os terpenos também conhecidos por isoprenóides, são derivados a partir das vias biossintéticas do mevalonato que dá origem aos sesquiterpenos e da via do metileritritol-fosfato que dá origem aos monoterpenos. Os terpenoides são considerados a classe estruturalmente mais variada de produtos naturais vegetais. Os fenilpropanoides são derivados do ácido chiquímico e cumprem uma gama muito ampla de papéis fisiológicos nas plantas (Croteau et al, 2000).

Os óleos essenciais são metabólitos secundários naturais, líquidos lipossolúveis e solúveis em solventes orgânicos não polares, insolúveis em água, de baixo peso molecular. São caracterizados por um forte odor sendo sintetizados por plantas aromáticas. Sua natureza volátil, proveniente de metabólitos secundários, é rica em propriedade biológicas, representando cerca de 90% de sua composição. A presença de outros compostos não voláteis (ácidos, esteróis e ceras), mesmo em pequenas quantidades, pode influenciar em sua bioatividade (Domingos et al, 2023).

Estas moléculas voláteis são armazenadas em células secretoras especiais de plantas que podem ser externas ou interna, cavidades, canais, tricomas glandulares, glândulas, pelos glandulares e dutos. E podem ser encontradas em diversas partes da planta, por exemplo, brotos, flores, folhas, caules, galhos, sementes, frutos, raízes, tronco ou em cascas (Murthy et al, 2016).

Os óleos essenciais são usados na medicina tradicional para o tratamento de doenças como resfriado, gripe, febre, infecções brônquicas e doenças inflamatórias (Hajhashemi et al, 2003; Silva et al, 2003). Diversos estudos estão voltados à caracterização e investigação das propriedades biológicas dos OEs com interesse farmacológico, que incluem atividades antioxidantes e anti-inflamatórias (Miguel, 2010), antimicrobianas, antivirais, antimutagênicas,

anticâncer, imunomoduladoras e antiprotozoárias (Raut; Karuppayil, 2014), potencial para o tratamento distúrbios relacionados ao sistema nervoso central (Perry et al, 2003).

Os óleos essenciais possuem alto valor agregado no mercado, sendo usados principalmente em fragrâncias e muito utilizados nas indústrias de perfumaria e cosméticos. Além disso, os óleos essenciais possuem propriedades terapêuticas, combinados combinadas com óleos vegetais ou em banhos, sendo mais comumente usados na aromaterapia. Apresentam também propriedades antissépticas, ou seja, bactericidas, virucidas e fungicidas, e são empregados na indústria alimentícia em embalsamamento e preservação de alimentos (Alam et al, 2024; Bakkali et al, 2008).

A maioria dessas substâncias voláteis apresentam funções ecológicas importantes, atuando como mensageiros internos para comunicação e na defesa das plantas. Atuam na proteção anti-herbívoros de forma direta, repelindo esses herbívoros ou indiretamente atraindo inimigos naturais para esses herbívoros. Eles atuam como antibacterianos, antifúngicos, antivirais e atraem alguns insetos para favorecer a dispersão de pólen e sementes. Outras funções que os óleos essenciais exercem sobre as plantas incluem proteção contra calor e estresse oxidativo, sinalização entre órgãos da planta, comunicação entre plantas e alelopatia (Baser; Buchbauer, 2009; Murthy et al, 2016; Unsicker et al, 2009).

3.1.1 Óleos essenciais no controle de fitopatógenos

O controle de pragas e doenças em plantações de alimentos ao redor do mundo é considerado um grande desafio para a agricultura mundial, sendo severamente atingida principalmente por doenças causadas por fungos e bactérias patogênicas. As perdas pós-colheitas podem chegar em 50% globalmente, devido aos problemas fitossanitários que esses micro-organismos podem causar. Os fungos são agentes biológicos capazes de colonizar alimentos e causar distúrbios patológicos em plantas, resultando em prejuízos econômicos significativos para os agricultores (da Cruz Cabral; Pinto; Patriarca, 2013; Magro et al, 2006).

Na produção de frutas é possível observar o ataque fúngico durante os estágios de produção e pós-colheita, causando sintomas como manchas pretas, necrose,

podridão e deterioração. Isso torna as frutas impróprias para consumo e consequentemente leva ao descarte (Castro et al, 2017).

O estabelecimento de plantios florestais e a produção de mudas em viveiros enfrentam problemas de surtos de pragas e doenças fúngicas. Mamle e Jolanda (2015) relataram prejuízos econômicas significativas em plantios florestais em Gana, na África Ocidental devido o ataque de fungos fitopatógenos (*Lasiodiplodia theobromae*; *Fusarium solani*; *Colletotrichum capsici* e *Pseudophaeolus baudonii*). Os sintomas mais comuns causados por esses patógenos foram manchas foliares, podridão de raízes e cancro no caule, levando a morte progressivas de espécies ainda em viveiros bem como perda total em diversos plantios estabelecidos na região.

No Brasil, o principal problema fitossanitário relatado em plantios de acácia negra (*Acacia mearnsii*) é a doença conhecida como gomose causada por *Phytophthora nicotianae*, *P. boehmeriae* e *Ceratocystis fimbriata* (Mezzomo et al, 2019; Santos e Luz, 2007). O setor de fruticultura brasileira enfrenta desafios fitossanitários tanto em frutas pós-colheita quanto em plantios em campo. Algumas culturas, por exemplo, abacaxi (*Ananas comosus* (L. Merrill) var. *comosus* (Coopens & Leal), pitaya (*Hylocereus undatus* Haw.), manga (*Mangifera indica*), banana 'prata' [*Musa* spp. (AAB)] e mamão são severamente afetadas por doenças fúngicas (Castro et al, 2017; Sales et al, 2016; Negreiros et al, 2013; Vieira et al, 2006).

O emprego de medidas culturais e o controle genético são comumente utilizadas para minimizar o avanço de doenças patogênicas em culturas, entretanto o controle químico com fungicidas ainda é a principal forma de controle utilizada. No entanto, o uso de controle químico está associado a diversos problemas ambientais, tais como surgimento de patógenos resistentes ocasionando surtos de doenças, desequilíbrio no controle biológico natural, contaminação ambiental, bem como riscos à saúde humana (Khedhri et al, 2023).

A procura por métodos seguros e eficientes para o controle de pragas e doenças na agricultura, têm aumentado, utilizando-se principalmente o controle biológico com o uso de inimigos naturais do campo, além do uso de produtos naturais, como os derivados de plantas. Os pesticidas botânicos, especialmente feitos à base de óleos essenciais vegetais representam uma alternativa em relação aos pesticidas sintéticos, para aplicação em sistemas agrícolas (Campos et al, 2019).

A atividade antimicrobiana dos OEs está relacionada à composição química de seus componentes, à concentração em que estão presentes e às suas interações, que podem influenciar suas características bioativas. Devido a gama de compostos químicos presentes em sua composição, estes metabólitos especiais podem atuar de formas específicas dependendo do composto utilizado, permitindo o controle diversos gêneros de fungos e impedindo a seleção de isolados patogênicos resistentes (da Cruz Cabral; Pinto; Patriarca, 2013).

Devido à natureza complexa dos OEs os processos de ação antimicrobiana não são completamente compreendidos, no entanto, diversos mecanismos foram desvendados em pesquisas científicas. A ação antimicrobiana ou antifúngica dos óleos essenciais está comumente associada às características dos terpenos/terpenoides, que devido sua natureza lipofílica e baixo peso molecular, são capazes de romper a membrana celular e causar a morte celular ou impedir a esporulação e germinação dos fungos. No entanto, o efeito antimicrobiano dos terpenos/terpenoides pode se mostrar ineficiente quando aplicado isoladamente, em contraste com o OE inteiro (Nazarro et al, 2017).

A ação fungitóxica dos óleos essenciais pode ocorrer de forma direta, inibindo a germinação de esporos e do crescimento micelial, ou indireta, estimulando a produção de fitoalexinas ou outros compostos de proteção da planta. Apesar destes compostos ativos biológicos serem de origem vegetal, o uso de OEs deve ser precedido de prudência (de Moraes, 2009).

Outros efeitos relatados na literatura incluem: inibição da formação da parede celular dos fungos, rompimento da membrana celular inibindo a síntese de ergosterol; inibição do transporte de elétrons em nível mitocondrial, inibição da divisão celular, interferência na síntese de RNA ou DNA e/ou inibição na síntese proteica; inibição de bombas de efluxo, efeito cinérgico ou antagônico, efeito na síntese/produção de mitotoxinas, Produção de ROS, inibição do desenvolvimento de biofilme (Raveau; Fontaine; Lounès-Hadj, 2020).

O potencial fungitóxico de óleos essenciais extraídos de plantas medicinais, condimentares e aromáticas têm demonstrado resultados promissores no controle *in vitro*, no armazenamento e conservação de grãos, no controle de doenças em mudas envasadas, no controle fúngico em hortaliças e no tratamento pós-colheita de frutas

(de Moraes, 2009). O estudo de revisão feito por Raveau, Fontaine e Lounès-Hadj, (2020) apontou as propriedades antifúngicas de diversos óleos essenciais contra fungos fitopatogênicos estudados em diferentes lugares do mundo na última década.

O potencial fungitóxico (testes *in vitro* e em frutos pós-colheita) de óleos essenciais e hidrolatos de diversas espécies vegetais são relatadas pela literatura como promissoras no controle de antracnose (Aquino et al, 2012; Araújo; Toledo; Soares, 2018; Araújo Neto et al, 2014; Moura et al, 2012; Souza Júnior et al, 2009; Ramos et al, 2016; Silva et al, 2009).

Sousa et al (2018) avaliaram o potencial fungicida do óleo essencial e hidrolato dos galhos de breu branco (*Protium heptaphyllum*) no controle de *Colletotrichum* spp., isolados de antracnose do maracujazeiro. O óleo essencial e o hidrolato de breu branco apresentaram efeito fungistático sobre o fitopatógeno, em função da concentração. No entanto, o óleo essencial ocasionou maior redução no crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. que o hidrolato para as concentrações avaliadas (100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$; 1250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 2250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

O óleo essencial extraído dos frutos de *P. colombianum* apresentaram citotoxicidade contra isolados de *Fusarium oxysporum* e *F. solani* (Carvajal, Alvarez e Osorio, 2016).

Os óleos essenciais das folhas de *Aniba canelilla* e *A. parviflora* foram avaliados quanto a atividade antifúngica contra oito fitopatógenos (*Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Alternaria alternata*, *C. gloeosporioides*, *C. musae* e *C. guaranicola*). Os óleos essenciais induziram vazamento de ácidos nucleicos e proteínas nas membranas dos fungos (Souza et al, 2020). Relatos na literatura apontam o potencial fungicida de óleos essenciais no controle de *Alternaria* spp. em diversas culturas (Castro et al, 2017; Francio et al, 2023; Kamsu et al, 2023; Singh et al., 2024; Thambi et al, 2024; Tomazoni et al, 2017).

O óleo essencial de *Portulaca oleracea* (L.) apresenta atividade antifúngica contra *Pestalotiopsis negligencia*. O óleo essencial induziu estresse oxidativo, causando danos à membrana do patógeno e causou rompimento da integridade da membrana, aumentando a condutividade extracelular e o pH (Ma et al, 2024).

O potencial antifúngico do óleo essencial de cardamomo foi testado contra o patógeno *Pestalotiopsis* spp. em embalagens ativas para preservação de rambutã pós-colheita (*Nephelium lappaceum* L.) O óleo essencial danificou os conídios e micélio do fitopatógeno e mostrou potencial destrutivo na membrana celular dos fungos. Foi verificado que o OE manteve a qualidade do rambutan durante o armazenamento no período de sete a 14 dias (Chaidech; Matan, 2023).

3.2 Gênero *Colletotrichum* spp.

Colletotrichum é um grande gênero de fungos que pertencem ao filo Ascomycota e se destaca pela sua importância econômica do ponto de vista fitopatológico. O gênero ocupa o oitavo lugar dentre os 10 principais patógenos fúngicos de importância científica e econômica nas principais culturas no mundo (Dean et al, 2012).

O gênero *Colletotrichum* apresenta ampla variabilidade genética, o que dificulta a manutenção de longo prazo da resistência em plantas. Algumas espécies podem infectar um único hospedeiro, enquanto outras podem infectar vários hospedeiros, o que torna o controle eficaz da doença um desafio (da Silva et al, 2020).

A sistemática do gênero é complexa e difícil devido à ausência de características morfológicas confiáveis, o que torna a taxonomia das espécies ambíguas e confusas (Cai et al, 2009). As estimativas de espécies do gênero variam de 29 a 700, conforme a interpretação taxonômica. O gênero passou por diversas revisões na última década com inclusão, exclusão, classificação e sinonímia de várias espécies. A investigação filogenética mais recente reconheceu 248 espécies pertencentes ao gênero *Colletotrichum* (Bhunjun et al, 2021; Dean et al, 2012; Jayawardena et al, 2016).

A maior parte das espécies de *Colletotrichum* são classificadas em complexos e apresentam grandes diferenças fenotípicas e genéticas entre si. É possível observar diferenças morfológicas e variações nas faixas de hospedeiros entre espécies dentro do mesmo complexo (da Silva et al, 2020).

As particularidades dos complexos de *Colletotrichum* são evidentes também nos estilos e vida das espécies. As espécies são amplamente descritas com hábitos

hemibiotróficos, necrotróficos, latentes ou quiescentes e endofíticos. Algumas espécies ainda são descritas como entomopatógenos e patógenos de humanos. Uma mesma espécie pode ser classificada por mais de um estilo de vida (da Silva et al, 2020; de Silva et al, 2017).

Como endófitos, os fungos possuem uma vasta disseminação nas regiões tropicais e subtropicais podem produzir uma variedade de metabólitos secundários. Como patógenos de plantas, provocam grandes prejuízos em culturas economicamente importantes, como frutas, hortaliças, plantas ornamentais além de culturas alimentares básicas (Bhunjun et al, 2021).

Algumas espécies de *Colletotrichum* apresentam um período de quiescência ou latência. Esse período é entendido como um período do ciclo de vida do patógeno no qual este permanece dormente em seu hospedeiro antes de entrar na fase ativa. Este estilo da vida é comum em patógenos que causam doenças pós-colheita em frutas e vegetais, permanecendo dormentes dentro do tecido da planta antes de desenvolver os sintomas da doença (de Silva et al, 2017).

Na fase de colonização das plantas hospedeiras, os fungos fitopatogênicos de *Colletotricum* apresentam duas estratégias nutricionais, conhecidas como biotrofia e necrotrofia. Na forma de nutrição biotrofia, o patógeno obtém os nutrientes de células hospedeiras vivas e na fase necrotrofia os nutrientes são obtidos a partir de células hospedeiras que foram mortas pelo fungo. Os fungos que inicialmente se alimentam de hospedeiros vivos antes de mudar para a necrotrofia são classificados como hemibiotróficos ou biotróficos facultativos (Pertect et al, 1999).

Colletotrichum é um gênero de fitopatógenos importantes, que causam doenças de antracnose em muitas culturas de plantas em todo o mundo. As espécies patogênicas de plantas demandam condições climáticas quentes e úmidas para infectar diferentes hospedeiros vegetais. A antracnose causada por espécies do gênero *Colletotrichum* é considerada a mais importante doença em pós-colheita, pois leva rápida deterioração dos frutos maduros causando prejuízos econômicos relevantes (Ajay Kumar, 2014).

A antracnose causada por fungos do gênero *Colletotrichum* spp. causam perdas significativas em viveiro de espécies florestais, impactando diretamente o crescimento, desenvolvimento e a produção vegetal. O fungo *Colletotrichum capsici* é

considerado o principal responsável pela perda de mudas enviveiradas de sumaumeiras (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn), causando lesões foliares que em estágio avançado levam a morte das mudas (Benchimol et al, 2021).

Em condições de viveiro diversos fatores abióticos podem predispor as mudas ao estabelecimento da antracnose causando a morte das plantas. As mudas sob condições de viveiro e que sofrem algum estresse estão mais suscetíveis à doença (Benchimol et al, 2021; Nogueira et al, 2017). Além disso, as lesões provocadas pelo fungo facilitam a entrada de patógenos secundários agravando o quadro sintomatológico da doença. O fungo infecta tecidos novos e brotações e pode permanecer em um estado quiescente até que condições climáticas favoráveis sejam alcançadas e/ou a planta sofra algum tipo de estresse. Em plantas jovens, a antracnose das caracteriza-se por manchas irregulares e causa queimaduras e secamento das folhas (Assumpção; Nunes 2020; Nogueira et al, 2017).

O clima da região amazônica favorece o surgimento de doenças como a antracnose e afetam diferentemente o crescimento, desenvolvimento e a produção de espécies frutíferas e florestais na região. O cultivo de espécies nativas, como açaí (*Euterpe oleraceae*; *E. precatoria*) têm sido afetadas por doenças fúngicas causadas pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. As perdas podem alcançar até 70% tanto na fase de produção das mudas em viveiro quanto em plantios estabelecidos (da Costa et al, 2019; Nogueira et al, 2017).

O primeiro relato de antracnose em *Euterpe oleracea* foi registrado em 2005, no município de Muaná, no estado do Pará, Brasil. Sementes verdes e maduras dos frutos de *E. oleracea* apresentavam sintomas de manchas necróticas ocasionando um apodrecimento (Batista et al, 2007). No estado Acre, foi relatado a ocorrência deste patógeno em mudas enviveiradas de *E. precatoria*, causando perdas significativas na produção. Na espécie *Euterpe precatoria* a antracnose ocorre predominantemente em folhas e na espécie *Euterpe oleraceae* o maior dano ocorre nos frutos (Nogueira et al, 2013). Na Mata Atlântica, o primeiro relato de antracnose em juçara (*E. edulis*) foi registrado em 2104, com a ocorrência de podridão nos frutos da palmeira (Poltronieri et al, 2014).

De acordo com a literatura, outras espécies amazônicas também são afetadas pela ocorrência de antracnose (*C. gloeosporioides*), tais como pupunha (*Bactris*

gasipaes Kunth), uxi (*Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec.), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) e guaraná (*Paullinia cupana* Kunt. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke). A antracnose foi responsável por causar perdas significativas na produção de mudas em viveiros e afetar diretamente a produção em campo (Assumpção; Nunes 2020; Casas et al, 2021).

O fungo *Colletotrichum guaranicola* causador da antracnose no guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) é considerado um dos principais fatores limitantes à expansão da produção no estado do Amazonas, Brasil. A antracnose afeta a cutícula e parede celular das folhas do guaranazeiro, atingindo a epiderme e o parênquima ocasionando necrose dos limbos, pecíolos das folhas e das hastes no estágio inicial de desenvolvimento (dos Santos et al 2022; Farias et al, 2024).

A ocorrência de antracnose causada pelo fungo *Colletotrichum guaranicola* Albuquerque, em guaraná foi descrita pela primeira vez por Albuquerque (1961), a partir de observações *in loco* em plantios comerciais localizados no município de Maués, Amazonas, Brasil. Os sintomas apresentavam necrose nas folhas com tonalidade escura, pecíolos e hastes no início do desenvolvimento. A antracnose no guaranazeiro acarretava queda de grande número de folhas e a seca dos galhos. Alguns ramos afetados apresentavam superbrotamento.

O estudo de Bentes e Barreto (2004) realizou uma reavaliação morfológica de estruturas reprodutivas e de infecção de *Colletotrichum guaranicola* Albuquerque. Os autores observaram que o agente causal da antracnose do guaranazeiro não se enquadrava em qualquer das espécies de *Colletotrichum* anteriormente descritas na literatura. Dessa forma, o estudo sugeriu que a espécie representava um novo taxon dentro do gênero *Colletotrichum*.

A variabilidade genética de *Colletotrichum guaranicola* foi verificada no estudo de Bentes e Costa Neto (2011). Devido a antracnose em guaraná ser uma doença endêmica em áreas de cultivo no Amazonas, possibilita a ocorrência de alta taxa de multiplicação do patógeno, o que favorece o surgimento de variações dentro da espécie.

3.3 Gênero *Pestalotiopsis* spp.

Pestalotiopsis Steyaert é um gênero fúngico que pertence à família Amphisphaeriaceae, ordem Amphisphaeriales, Filo Ascomycota e possui ampla distribuição em ecossistemas de clima tropical e temperado. As espécies de *Pestalotiopsis* ocorrem na natureza como endofíticos, sapróbios e patógenos de plantas. O gênero é muito estudado pois diversas espécies são produtoras de metabólitos secundário relevantes. A descoberta do agente anticâncer taxol de uma cepa fúngica endofítica *Pestalotiopsis microspora* despertou o interesse da comunidade científica na busca por compostos bioativos deste gênero fúngico (Maharachchikumbura et al, 2011; Xu; Yang; Lin, 2014).

O gênero *Pestalotiopsis* foi estabelecido por Steyaert em 1949, após uma alteração taxonômica no gênero *Pestalotia*. *Pestalotiopsis* é um gênero complexo e a classificação taxonômica é considerada difícil de classificar no nível de espécie. Ao longo dos anos, vários estudos taxonômicos foram conduzidos na tentativa de classificação adequado para as diferentes espécies deste gênero (Jeewon et al, 2003). Yang et al (2012) relataram a identificação de 234 espécies *Pestalotiopsis* que se distinguiram com base em características conidiais, como tamanho, septação, pigmentação e presença ou ausência de apêndices. Xu, Yang e Lin (2014) relataram 251 espécies de *Pestalotiopsis* catalogadas. A revisão mais recente apontou um total de 384 espécies de *Pestalotiopsis* descritas (Wu; Wang; Yang, 2022).

As espécies de *Pestalotiopsis* residem nos mais diversos habitats, incluindo ambientes aquáticos (oceanos, lagos rios e pântanos), no ar, solo e em tecidos vegetais. Nessas ambientes, apresentam diversas funções ecológicas. As espécies do gênero podem atuar como endofíticos ou saprofíticos de plantas, atingindo folhas, cascas, caule, ramos, raízes, flores e frutos. Como fungos saprofíticos, eles causam várias doenças de plantas, como necrose e manchas foliares, requeima em folhas e galhos, podridão de frutos, cancro, e levar a morte de plantas. Esses patógenos também são responsáveis por doenças em pós-colheita (Wu; Wang; Yang, 2022). Algumas espécies do gênero podem causar doenças em humanos (Borgohain et al, 2020; Monden et al, 2013).

Espécies de *Pestalotiopsis* não são altamente específicas do hospedeiro e podem infectar uma variedade de hospedeiros e podem ser consideradas como

patógenos fracos ou oportunistas. Algumas espécies são consideradas como sapróbios atuando como recicladoras de material vegetal morto. O contágio inicial com o hospedeiro ocorre com a infecção (inóculo) por meio de conídios ou esporos fragmentados causando infecções primárias. Posteriormente o inóculo secundário produzido no tecido doente causa infecções secundárias e agrava a doença. A propagação de esporos de *Pestalotiopsis* pode ocorrer a partir de plantações selvagens, flores, plantas infectadas, restos de colheitas, meios de cultivo usados, solo, ferramentas contaminadas, pela água e ar (Maharachchikumbura et al, 2011; Maharachchikumbura et al, 2014).

Espécies de *Pestalotiopsis* causam doenças fúngicas em muitas plantas em campo e em frutos pós-colheita no mundo. Em países produtores de chá, a requeima cinzenta no chá causada por *P. theae* é responsável pela perda de 17% de safras; em graviola (*Annona muricata* L.), o fungo *Pestalotiopsis* sp. causa podridão seca na região de Nayarit, México (Aýon et al, 2020); em plantios de algodão-seca (*Eucommia ulmoides* Oliver) na China foi relatado pela primeira vez a doença mancha preta causada por *P. trachicarpicola* (Li et al, 2024); o patógeno *P. versicolor* é relatado causador da doença da queima dos galhos em bayberry chinesa (*Myrica rubra* Siebold & Zucc.) (Ahmed et al, 2021); o fungo *P. kenya* causa mancha em folhas de *Rhododendron agastum*, uma flor asiática (Li et al, 2024).

Plantios florestais são afetados por espécies do gênero *Pestalotiopsis* spp. A queima das folhas (*Pestalotiopsis microspora*) causa danos de 30-80% na produtividade de plantios florestais de eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis* L.) na Índia (Patil et al, 2024). O apodrecimento da madeira causado por *P. guepinii* foi constatado em plantios de *Eucalyptus globulus* Labill no Uruguai (Alonso et al, 2009).

Em plantios de guaraná em Urucará, Amazonas, Brasil foi relatado pela primeira vez a ocorrência da doença mancha-de-pestalotiopsis causada por *Pestalotiopsis* spp. (dos Santos et al, 2022).

3.4 Gênero *Alternaria* spp.

Alternaria é um gênero fúngico que pertence à família Pleosporaceae, classe Dothidiomycetes, Filo Ascomycota e possui ampla distribuição na natureza. O gênero engloba espécies patogênicas de plantas, sapróbicas, endofíticas e parasitas

facultativos fracos. Está associado a uma ampla variedade de substratos, incluindo solo, sementes, plantas, produtos agrícolas, animais e atmosfera. As espécies do gênero são conhecidas como responsáveis pela feohifomicose em pacientes com imunossupressão além de causarem alergias em humanos e asma (Bush et al, 2004; Lou et al, 2013; Woudenberg et al, 2013).

A taxonomia de *Alternaria* tem sido discutida por muitos anos e passou por várias revisões. A grande diversidade morfológica dentro do gênero torna a classificação de táxons em grupos de espécies subgenéricos e espécies trabalhosa. A taxonomia deste gênero gerou confusões em relação às espécies envolvidas em doenças de culturas e contaminação alimentar e gerou associações erradas entre espécies produtoras de determinadas micotoxinas (Patriarca, 2016). Atualmente, o gênero possui 250 espécies classificadas com base em dados fenotípicos e moleculares (Tralamazza et al, 2018).

Diversas espécies de *Alternaria* atuam patógenos específicos do hospedeiro e causam doenças nas plantas no campo e pós-colheita em grãos de cereais, frutas e vegetais. Algumas espécies do gênero atuam como saprófitas oportunistas e colonizam plantações em amadurecimento, deteriorando as plantações após a colheita e durante o armazenamento. Uma característica interessante em espécies de *Alternaria* é boa capacidade de desenvolvimento em baixas temperaturas, sendo responsáveis pela deterioração de frutas e vegetais armazenados sob refrigeração (Patriarca; Vaamonde; Fernández Pinto et al, 2014).

Espécies agrícolas como tomates, vegetais e sementes oleaginosas e seus produtos são muito propensos à contaminação por espécies de *Alternaria* especialmente durante o armazenamento sob refrigeração ou transporte. Essas espécies esporulam facilmente em quaisquer restos de colheita e contaminam superfícies de frutas (Lee et al, 2015).

O gênero *Alternaria* é considerado um dos principais fungos micotoxigênicos em alimentos. Essas espécies possuem alta incidência em produtos alimentícios e podem acumular toxinas em partes comestíveis de plantas, em alimentos e subprodutos alimentares (Patriarca, 2016).

O gênero possui estratégias de competitividade que estão relacionadas à sua tolerância a fatores abióticos, produção de enzimas hidrolíticas e capacidade de

produzir micotoxinas. Além disso, as espécies de *Alternaria* produzem uma pigmentação escura nos esporos que permite boa resistência UV e contribuem para sua colonização efetiva na superfície de plantas (Lee et al, 2015).

A propagação desses patógenos ocorre principalmente através de semente infectadas com esporos ou micélios sob o tegumento. A propagação de esporos pode ocorrer pela ação do vento, pela água, ferramentas e animais. A maioria das espécies de *Alternaria* pode sobreviver em ervas daninhas suscetíveis ou em culturas perenes. Outro fator preponderante de disseminação, são culturas infectadas deixadas no solo após a colheita, sendo um ambiente propício de infecção (Mamgain et al, 2013).

A doença mancha preta causada por fungos do gênero *Alternaria* é muito comum em espécies crucíferas em todo o mundo. Um complexo de três espécies (*A. brassicicola*, *A. brassicae* e *A. japonica*) são responsáveis por perdas significativas nessas culturas, causando reduções na quantidade e qualidade da produção. Os sintomas típicos incluem lesões cloróticas e necróticas pretas em mudas, folhas e caules. (Iacomi-Vasilescu et al, 2004).

O fungo *Alternaria japonica* é um fitopatógeno cosmopolita que pode sobreviver como saprófita e como parasita fraco em diferentes hospedeiros. Esse fitopatógeno pode causar a redução da germinação em sementes e pode causar uma deterioração total nas inflorescências nas plantas hospedeiras. Ao atacar a folha hospedeira, o patógeno forma uma série de anéis concêntricos ao redor do ponto de ataque inicial, produzindo um efeito de "ponto alvo" (Vásconez et al, 2020).

A literatura relata a ocorrência de *Alternaria japonica* em couve (*Brassica oleracea*), brócolis (*Brassica oleracea* var. *italica*), canola (*Brassica napus*), em sementes de rúcula cultivada (*Eruca vesicaria*) e rúcula silvestre (*Diplotaxis tenuifolia*) (Al-Lami et al, 2019; Gilardi et al, 2015; Mamgain et al, 2013; Vásconez et al, 2020). No Brasil, foi relatado pela primeira vez a ocorrência deste fitopatógeno em rabanete apresentando sintomas de manchas necróticas com halos cloróticos (Cabral et al, 2020).

3.5 Família Burseraceae

A família Burseraceae Kunth pertence ao grupo das Angiospermas, ordem Sapindales e classe dicotiledônea. A família compreende aproximadamente 750 espécies de árvores e arbustos e 19 gêneros com ampla distribuição tropical e subtropical e em menor quantidade em áreas temperadas quentes. A família apresenta um papel significativo na estrutura e diversidade de florestas úmidas e secas em diversas regiões tropicais (Daly; Fine; Martínez-Habibe, 2012; de Menezes Filho, 2022a).

A família Burseraceae é composta principalmente por árvores de pequeno porte, embora algumas espécies possam alcançar o dossel da floresta como *Tetragastris* spp. Além disso, também são encontrados arbustos dentro dessa família. (Ribeiro et al, 1999).

As espécies da família são consideradas um excelente modelo para estudar a Amazônia pois apresentam alta diversidade e relevância ecológica, diversidade de habitats ocupados e especificidade de habitat. A família possui mais de 100 espécies na Amazônia e na Amazônia brasileira são encontradas 104 espécies distribuídas nos gêneros *Bursera*, *Commiphora*, *Crepidospermum*, *Dacryodes*, *Protium*, *Tetragastris* e *Trattinnickia* (Daly; Fine; Martínez-Habibe, 2012; Daly, 2015).

Burseraceae é conhecida por abranger uma variedade de plantas aromáticas. Nesta família, as plantas resinosas produzem óleos essenciais, que são extraídos principalmente de folhas, cascas e resinas oleosas, com cheiro lembrando incenso ou terpenos (breu). Algumas plantas resinosas podem ser confundidas com espécies da família Anacardiaceae, que também apresentam resinas no tronco e folhas compostas (Murthy et al, 2016; Ribeiro et al, 1999).

As árvores e arbustos desta família possuem em suas cascas proeminentes ductos verticais secretores associados ao floema que produzem óleos aromáticos e resinas de gomas com diferentes classes de metabólitos secundários. Estas oleorresinas são encontradas principalmente nas espécies de *Protium* Burm.f. e gêneros intimamente relacionados (Reis Souza et al, 2016).

3.6 Gênero *Protium* Burm. f.

O gênero *Protium* Burm. f. (tribo Protieae) é um dos mais relevantes da família, com 154 espécies, cujos indivíduos nativos estão distribuídos do México à América Tropical, Oceano Índico Ocidental, Ásia Tropical e Subtropical, predominando no hemisfério Sul (Marques et al, 2021; POWO, 2024).

Muitas das 100 ou mais espécies de *Protium* nos trópicos do Novo Mundo ocorrem no Brasil e são produtoras de resina (Langenheim, 2003). Segundo Daly (2015) são encontradas 68 espécies do gênero *Protium* no Brasil, dos quais 12 espécies são endêmicas, ocorrendo nos domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica.

As espécies do gênero *Protium* são conhecidas popularmente pelo exsudado resinoso possuindo uma variedade de nomes populares, como breu-branco, breu, almecega, resina mesca, goma-limão, almíscar e guapo (de Menezes Filho et al, 2022b).

Plantas do gênero *Protium* acumulam as oleorresinas em estruturas secretoras presentes em sua casca, que exsudam resina como resultado de ferimentos. Essa oleorresina exsudada é produzida em sua maior parte por meio de síntese induzida por insetos ou pela ação humana (Langenheim, 2003).

Após a exsudação da oleorresina ocorrem mudanças em sua composição devido à oxidação e à perda de voláteis. As oleorresinas frescas apresentam uma aparência macia, plástica e maleável, devido ao percentual significativo de monoterpenos que podendo ultrapassar o teor de 20%. Entretanto devido ao processo de envelhecimento tornam-se um material endurecido exibindo uma textura sólida e seca, cujo teor de óleo essencial pode ser reduzido para menos de 2% (Albino et al, 2017).

A resina de breu é muito perfumada e usada principalmente pela população local, para uso medicinal, na iluminação, como incenso, na calafetagem e na fabricação de vernizes (Langenheim 2003; Ribeiro et al, 1999). As oleorresinas de breu possuem composições químicas variadas, cujo óleo essencial obtido é valorizado na perfumaria e em vários produtos farmacêuticos, apresentando uma ampla variedade de propriedades biológicas, por exemplo, atividades antifúngicas,

bactericidas, anti-inflamatórias, antioxidantes, leishmanicidas, tripanocidas, antinoceptivas (Murthy et al, 2016; Neves et al, 2020; Santana et al, 2020).

Em comunidades tradicionais, como as comunidades quilombolas de Oriximiná (Pará, Brasil) as oleorresinas de breu branco são destinadas no tratamento de algumas doenças, como dores de cabeça, queimando-a e inalando a fumaça derivada de sua combustão, entre outros usos. Enquanto as oleorresinas de breu preto são destinadas ao reparo de canoas e defumação do ambiente (Silva et al, 2016).

3.7 Caracterização química de oleorresinas de breu

Espécies do gênero *Protium* são conhecidas por produzir metabólitos secundários apresentando diferentes tipos de terpenos. Estima-se que mais de 100 diferentes mono e sesquiterpenos já foram identificados em oleorresinas do gênero (Albino et al, 2017).

As oleorresinas de breu são uma mistura complexa de compostos voláteis e resinosas (não voláteis). A composição volátil dessas oleorresinas é formada predominantemente de monoterpenos e sesquiterpenos em menor quantidade, podendo apresentar também predominância de sesquiterpenos e (da Silva et al, 2021). Fenilpropanoides podem ser encontrados nos óleos essenciais destas oleorresinas (Rüdiger et al, 2007; Siani et al, 1999). O teor desses terpenoides pode variar de acordo com a particularidade de cada espécie. A composição desses constituintes também pode variar quantitativamente, qualitativamente e também quanto ao número de substâncias (Albino et al, 2017; Suárez et al, 2007; Zoghbi et al, 2005).

A composição química dos óleos essenciais de breu é rica em monoterpenos do tipo p-cimeno, α -pineno, α -felandreno, β -felandreno, α -terpineno, δ -3-careno, limoneno, α -terpineol, p-cimeno-8-ol; β -pineno, trans-diidro- α -terpineol, α -terpineol, cis- β -diidroterpineol (Pinto et al, 2010; Satyal et al, 2017; Souza Ramos et al, 2000). Outros compostos monoterpênicos podem ser encontrados como: piperitenona, timol, durenol e metil eugenol (Suárez et al, 2007); mirceno; sabineno, β -cariofileno e terpinoleno (Siani et al, 2011). Em relação aos sesquiterpenos, podem ser encontrados E-cariofileno e D-germacreno (da Silva et al, 2021). O dilapiol, um metabólito secundário classificado como fenilpropanoide foi encontrado em

concentrações significativas nos óleos essenciais de breu (Rüdiger et al, 2007; Siani et al, 1999).

Albino et al (2017) observaram diferenças nas oleorresinas frescas e envelhecidas de *P. heptaplyllum*. As oleorresinas frescas foram caracterizadas por um alto teor de terpinoleno (monoterpeno), enquanto as envelhecidas continham grandes quantidades de *p*-cimeno e *p*-cimeno-8-ol. Os resultados sugerem que o composto terpinoleno provavelmente foi oxidado para *p*-cimeno, e em *p*-cimeno-8-ol durante o envelhecimento natural do exsudato devido a fatores abióticos.

A variabilidade química também foi observada em oleorresinas frescas e envelhecidas de *P. bahianum* Daly. Enquanto a composição química do óleo de resina envelhecida foi predominante em sesquiterpenos oxigenados as oleorresinas frescas foram constituídas basicamente por hidrocarbonetos monoterpênicos e monoterpênicos oxigenados (Pontes et al, 2007).

Além dos óleos essenciais, a fração não volátil nas oleorresinas de *Protium* é rica em triterpenos das séries oleanano e ursano, sendo os triterpenos pentacíclicos α -amirina e β -amirina, os mais frequentes. Outros triterpenos como lupeol, α -amirona, β -amirona e lupenona são presentes na composição resinosa de breu (Rüdiger et al, 2007).

O padrão de triterpenos apresenta variabilidade química em resinas frescas e envelhecidas. Da Cruz Albino et al (2020) investigaram a diferenciação química entre as oleorresinas brancas e pretas de diversas espécies de *Protium*, coletadas em áreas quilombolas do estado do Pará, Brasil. A presença característica de ácidos ursano-9(11),12-dien-3-ol e triterpenóides em oleorresinas pretas, bem como outras observações de campo, demonstraram que as oleorresinas pretas são oleorresinas brancas envelhecidas.

Rüdiger e Veiga-Junior (2013) avaliaram a quimiodiversidade da fração não volátil das oleorresinas de 23 espécies amazônicas de Burseraceae e identificaram como os principais constituintes, triterpenos do tipo ursano α -amirina, α -amirenona e breína e os triterpenos do tipo oleanano β -amirina, β -amirenona e maniladiol. Os triterpenos α -amirina e β -amirina foram encontradas em todas as amostras analisadas, porém com teores variados e não eram os principais componentes das oleorresinas analisadas.

3.5 Atividades biológicas de oleorresinas de *Protium*

Estudos com as oleorresinas de *Protium* apontam atividades biológicas promissoras para os óleos essenciais e fração não volátil, devido ao seu potencial farmacológico com inúmeras atividades terapêuticas. Os triterpenos de breu apresentam propriedades analgésicas e anti-inflamatórias (Aragão et al, 2008), ansiolítico/antidepressivo (Aragão et al, 2006), hepatoprotetoras, antinociceptivas e gastroprotetoras (Oliveira et al, 2005; Oliveira et al, 2004; Melo et al, 2011; Rüdiger et al, 2007).

Diversos estudos demonstram o potencial farmacológico dos óleos essenciais de resinas de *Protium*, sendo a espécie *P. heptaphyllum* amplamente investigada. Os óleos essenciais de *P. heptaphyllum* possuem atividade antimutagênica (de Lima et al, 2016), potencial anti-inflamatório e atividade antitumoral *in vitro* (Amaral et al, 2009; Siani et al, 1999), atividade antifúngica contra espécies de *Candida* (Mobin et al, 2016), atividade antimicrobiana e antioxidante (Bandeira et al, 2006), atividade bactericida contra *Streptococcus mutans* (Pinto et al, 2015); vasorrelaxante (Mobin et al, 2017); antinociceptivo (Rao et al, 2007).

Relatos da literatura investigaram a atividade antimicrobiana das oleorresinas de outras espécies do gênero. Os óleos essenciais de resinas de *P. hebetatum* e *P. amazonicum* demonstraram atividade bacteriana para *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* (da Silva et al, 2021) e atividade antifúngica contra *Cryptococcus neoformans* e contra *Candida albicans* (Satyal et al, 2017).

O óleo essencial de oleorresina de *P. neglectum* exibiu atividade antimicrobiana nas bactérias Gram (+), especialmente contra *Bacillus subtilis* (Suárez et al, 2007). O óleo essencial de breu preto comercial apresentou atividade antimicobacteriana contra *Mycobacterium tuberculosis* (da Silva et al, 2013). Nanoemulsões contendo o óleo essencial de *P. heptaphyllum* mostraram evidente eficácia de controle do mosquito *Aedes aegypti* em diferentes fases (ovicida, pupicida, adulticida) bem como ação repelente (Faustino et al, 2021).

Entretanto, há poucos relatos na literatura sobre a atividade dos óleos essenciais de *Protium* spp., em relação a microrganismos e pragas de interesse agroindustrial.

O extrato hexânico da resina de *P. heptaphyllum* apresentou atividade antifúngica *in vitro* contra os fitopatogênicos *Fusarium guttiforme* e *Chalara paradoxa*, causadores da fusariose e podridão negra dos frutos pós-colheita em abacaxi (Sales et al, 2016).

De Carvalho Brito et al (2024) avaliaram o potencial inseticida do OE resina de *P. heptaphyllum* e *P. pallidum* no manejo do gorgulho do milho (*Sitophilus zeamais* L.), considerada a principal praga de insetos em grãos armazenados. Os resultados mostraram a ação inseticida destas oleorresinas no controle de *S. zeamais* (de Carvalho Brito et al, 2024).

Carvajal, Alvarez e Osorio (2016) demonstraram que o óleo essencial extraído dos frutos de *P. colombianum* apresenta citotoxicidade contra isolados de *Fusarium*.

Os óleos essenciais de resinas frescas e envelhecidas de *Protium bahianum* apresentaram atividade contra o ácaro-aranha-de-duas-pinta (*Tetranychus urticae*), apresentando toxicidade fumigante (mortalidade e fecundidade), mas apenas o óleo essencial da resina envelhecida induziu repelência (Pontes et al, 2007).

3.6 *Protium altsonii* Sandwith

Protium altsonii Sandwith é uma espécie arbórea pertencente ao gênero *Protium* e apresenta como sinônimos heterotípicos *Protium belemense* Swart, *Protium paraense* Cuatrec., *Protium paraense* Swart e *Protium puberulentum* Steyerf. A espécie cresce principalmente no bioma tropical úmido e ocorre naturalmente na América do Sul em países como Colômbia, Guiana Francesa, Guiana, Peru, Suriname, Venezuela e Brasil. Em território brasileiro a espécie está distribuída nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste (POWO, 2023; REFLORA, 2023).

A espécie apresenta floração e frutificação supra anual (menos de um ciclo por ano) em períodos de menor e maior precipitação, respectivamente. É uma espécie que apresenta estratégias ecológicas em campo, cujos frutos amadurecem e suas sementes germinam no período de maior precipitação. Os indivíduos desta espécie ocupam posição no estrato da floresta de dossel ou subdossel, formando populações agregadas à medida que ocorrem elevações topográficas (Tostes et al, 2022).

A espécie produz uma resina que exsuda do tronco. O líquido balsâmico exsudado oxida e forma uma resina de coloração branca, transparente, translúcida,

de odor almiscarado. A resina é produzida a partir do estímulo de injúrias de larva de inseto da família Curculionidae no tronco. Ocorre também ocorre de forma natural, através de feridas no tronco da árvore. A resina e os óleos essenciais obtidos da casca, madeira e folhas são amplamente utilizados na medicina popular (Tostes, 2015).

Quanto à composição química do óleo essencial da resina de *P. altsonii* os estudos demonstram predominância de monoterpenos e sesquiterpenos mas é possível observar uma variação nos compostos majoritários. Poucos estudos estão direcionados para investigação da composição química do óleo essencial de suas resinas e seu potencial biológico.

A composição química dos óleos essenciais de resina de *P. altsonii* são abundantes em monoterpenos com predominância α -pineno (42,9%), *p*-cimeno (33,3%), β -felandreno (7,3%) e 1,8 cineol (4,8%) (Santana et al, 2020); *p*-cimeno (31,5%) e trans-diidro- α -terpineol (25,8%) (Zoghbi et al, 2005); α -pineno (42,9-61,8%) e α -felandreno (14,7-22,26%) (Souza Ramos et al, 2000); *p*-cimeno (16,3%), γ -gurjuneno (5,2%) e γ -cadineno (9,5%) (Silva et al, 2016).

Santana et al (2020) demonstrou em testes *in vitro* o efeito tóxico dos óleos essenciais de *P. altsonii* e *Protium hebetatum* no combate à *Leishmania amazonenses*, agente causador da leishmaniose.

Tostes (2015) avaliou o efeito fungitóxico dos óleos essenciais da resina de *P. altsonii*. Os resultados demonstraram os óleos essenciais analisados foram muito eficientes para inibir o crescimento do fungo *Penicillium chrysogenum* e da cepa *Candida albicans*. Os óleos essenciais da resina de *P. altsonii* apresentaram também atividade fungitóxica frente aos fitopatógenos *Aspergillus niger* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* com formação de halos de inibição acima de 1,0 cm, alguns correspondendo a quase 50% de atividade a mais que o controle positivo utilizado (nitrato de miconazol), sendo uma potencial fonte de agentes fungitóxicos.

4 METODOLOGIA

Para melhor entendimento, elaborou-se um fluxograma das principais etapas realizadas na Metodologia (Figura 1). Cada etapa está descrita a seguir.

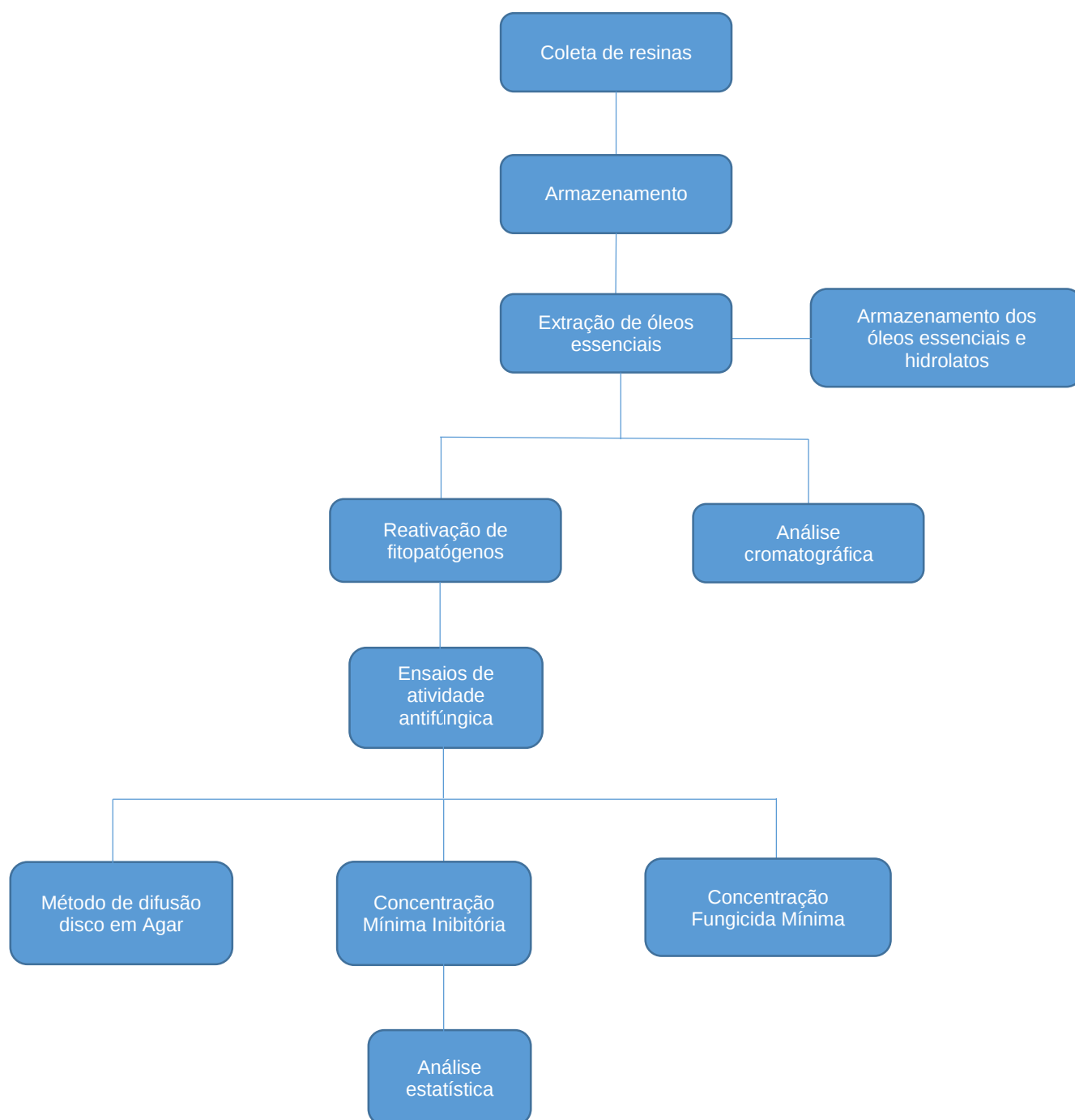


Figura 1. Fluxograma das etapas realizadas durante a pesquisa. Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

4.1 Obtenção das resinas de *Protium altsonii*

4.1.1 Coleta do material vegetal

As amostras de resinas foram coletadas de duas espécimes de *Protium altsonii*, em uma área de platô, solo do tipo latossolo amarelo na Reserva Florestal Adolpho Ducke (02° 53' S e 59° 58' W), localizada no município de Manaus, estado do Amazonas, Brasil. As coletas ocorreram em abril de 2022 com o auxílio do parobotânico José Edmilson. Apenas dois indivíduos de *P. altsonii* encontrados na Reserva Ducke apresentavam resina exsudada, dos quais realizou-se a coleta de material (Tabela 1).

Tabela 1. Dados das coletas de resinas de *P. altsonii* realizadas Reserva Florestal Adolpho Ducke

Amostras	Material (g)	Latitude	Longitude	Nº de identificação
BPALT01	33,10	2°56'02.2"S	59°57'45.3"W	1696-08
BPALT02	169,27	2° 56'07.3"S	59°57'44.8" W	1699-08

Legenda: BPALT01- resina do espécime 1; BPALT02 - resina do espécime 2; Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

4.1.2 Armazenamento das amostras

As resinas de *P. altsonii* coletadas na Reserva Florestal Adolpho Ducke foram armazenadas em embalagens plásticas, vedadas, e mantidas sob refrigeração (-10 °C) no Laboratório de Silvicultura e Tecnologias Digitais (LASTED) no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

4.2 Extração do óleo essencial

Os óleos essenciais foram obtidos pelo método de hidrodestilação com aparelho tipo Clevenger. Esse sistema consistiu em uma manta aquecedora com temperatura que varia de 0°C a até 90 °C, um balão de fundo redondo com capacidade de 2L e um sistema de circulação de água fria. As duas amostras de resinas foram previamente limpas com água destilada para remoção de impurezas, sendo inseridas no balão (28g e 33g), imerso em 1,5L de água destilada, aquecido até a fervura, por um período de 3 horas (Faustino et al, 2021). Devido a quantidade limitada de resina,

realizou-se apenas uma extração de óleo essencial para cada material coletado em campo (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros para realização das extrações de óleo essencial de *Protium altsonii*.

Amostras	Material (g)	Volume de água destilada (L)	Tempo de extração (h)
BPALT01	28	1,5	3
BPALT02	33	1,5	3

Legenda: BPALT01- resina do espécime 1; BPALT02 - resina do espécime 2; Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Os óleos essenciais obtidos foram secos em sulfato de sódio anidro comercial (Na_2SO_4) para retirar água residual e acondicionados em frascos de vidro âmbar, etiquetados e mantidos sob refrigeração. Os hidrolatos resultantes das extrações realizadas foram coletados, armazenados em frascos de vidro âmbar, etiquetados e mantidos sob refrigeração. Os rendimentos foram calculados a partir do peso do material fresco e da massa final obtida dos extratos.

4.2.1 Análise de rendimento em óleos essenciais e Densidade

O cálculo do rendimento em óleos essenciais foi realizado com base em massa fresca de material, de acordo com a Equação 1, sugerida por Girard et al (2007) com modificações.

$$R(\%) = \left(\frac{\text{Voe} \times d}{M} \right) \cdot 100 \quad \text{Equação 1}$$

onde:

R% = rendimento em porcentagem;

Voe = volume de óleo em ml;

d = massa de um ml de óleo em g;

M = massa fresca do material em g;

Para a análise de densidade foi utilizada a seguinte equação:

$$d = \frac{m}{v} \quad \text{Equação 2}$$

onde:

d = densidade (g/mL)

m = massa obtida em gramas na pesagem de 1 mL de óleo essencial

v = volume de óleo essencial utilizado na pesagem.

4.3 Caracterização química

4.3.1 Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM)

As análises químicas dos óleos essenciais de *Protium altsonii* foram realizadas no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LABCEM), da Central Analítica da Universidade Federal do Amazonas (CAM/UFAM). As análises foram realizadas em cromatógrafo em fase gasosa modelo Trace GC Ultra da Thermo Fisher Scientific™ com detector por espectrometria de massas (CG-EM), equipado com amostrador automático TriPlus RSH, com software Thermo Scientific Xcalibur™. Foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida Trace TR-5 com as dimensões 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm (Thermo Scientific).

As amostras foram diluídas em acetato de etila (1mg.mL⁻¹) e inseridas no sistema cromatográfico (1 µL) com as condições do padrão de hidrocarbonetos (C7 – C20) para a determinação dos índices de retenção, por meio de injetor a 250 °C, utilizando hélio ultrapuro como gás de arraste e detector a 250 °C. A programação do forno teve como temperatura inicial de 40 °C até 240 °C (4 °C/min), seguido de um gradiente de 240 °C até 280 °C (10 °C/min), e em 280 °C a aplicação de isoterma de 2 min. As amostras foram ionizadas por impacto de elétrons com energia de 70eV e varredura de 40 a 400 uma.

4.3.2 Caracterização química das oleorresinas de *P. altsonii* por CG-EM

Os constituintes foram identificados baseados em seus índices de retenção (IR), por comparação com padrões da literatura (Adams, 2007). A identificação dos

constituintes voláteis foi realizada por comparação dos tempos de retenção das amostras analisadas com a co-injeção de padrões de hidrocarbonetos (C7 –C20). O padrão destes alcanos foi injetado no sistema CG-EM e seus respectivos tempos de retenção foram usados como padrão externo de referência para o cálculo do índice de retenção (IR), juntamente com os tempos de retenção de cada composto de interesse.

Para o cálculo IR são aplicados os dados dos tempos de retenção coletados na Equação 3, sugerida por Van Den Dool e Kratz (1963), com modificações:

$$IR = 100 \cdot Ph + 100 \cdot \left[\frac{(Rt(i) - Rt(Ph))}{(Rt(Ph + 1) - Rt(Ph))} \right] \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

Ph = número de carbonos do padrão de hidrocarboneto que elui antes da substância de interesse (anterior ao $Rt(i)$)

$Rt(i)$ = tempo de retenção da substância de interesse

$Rt(Ph)$ = tempo de retenção do padrão de hidrocarboneto que possui eluição imediatamente anterior ao $Rt(i)$

$Rt(Ph+1)$ é o tempo de retenção do padrão de hidrocarboneto de eluição posterior ao $Rt(i)$.

A identificação dos componentes dos óleos essenciais utilizou os cromatogramas e os espectros de massas obtidos por varredura dos diferentes picos dos componentes identificados, utilizando o *software* Xcalibur, versão 2.2. Os tempos de retenção, os Índices de retenção calculados e os espectros de massas obtidos, foram comparados com a literatura disponível (Adams, 2007) e pelo sistema de informação *National Library of Medicine* (NIH).

4.4 Atividade antifúngica dos óleos essenciais e hidrolatos de *Protium altsonii*

4.4.1 Microorganismos e condições de cultivo

Para este estudo foram utilizados os fungos: *Colletotrichum spp.*, obtido de lesões de antracnose em açaí (*Euterpe oleracea*) da Coleção de Culturas de Fitopatógenos (código 3128) cedido pelo Laboratório de Fitopatologia do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia; *Alternaria japonica*, obtido de lesões de alternariose em couve manteiga (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* D.C); *Colletotrichum guaranicola* obtido de lesões de antracnose em guaranazeiro (*Paulinia cupana* var. *sorbilis*); *Pestalotiopsis spp.* obtidos de lesões de mancha-de-pestalotiopsis (Complexo *Pestalotioide*) em guaranazeiro (*Paulinia cupana* var. *sorbilis*), cedidos pelo Laboratório de Princípios Bioativos de Origem Microbiana (LPBOM) da Faculdade de Ciências Agrárias da UFAM. As colônias foram reativadas primeiramente em caldo glicosado 2% durante cinco dias e posteriormente repicadas para tubos de ensaio contendo 5 mL de meio BDA inclinado, incubados em estufa com demanda bioquímica de oxigênio – BOD, a 25 °C por sete dias para crescimento a esporulação.

4.4.2 Padronização dos inóculos fúngicos

Após o crescimento dos fungos, foram adicionados 3 mL de solução de NaCl 85% + Tween 80 0,5% em cada tubo para facilitar o desprendimento dos conídios. As suspensões foram transferidas para novos tubos de ensaio para padronização. Para isso, 10 µL de cada suspensão foram transferidos para câmara de Neubauer seguida de observação em microscópio óptico (Alfenas et al, 2007). Os inóculos foram ajustados para $1,5 \times 10^6$ unidades formadoras de colônias (UFC's) por mL para utilização.

4.4.3 Determinação da atividade antifúngica: Método de difusão em disco em Agar

A atividade antifúngica foi determinada pelo método de difusão em disco (Allizond et al, 2023; Balouiri; Sadiki; Ibnsouda, 2016). Os inóculos previamente padronizados foram espalhados na superfície de placas de Petri de dimensões 90 x 10 mm contendo o meio BDA com auxílio de swabs descartáveis até a completa secagem. Em seguida, discos de papel filtro estéreis (6 mm) foram dispostos no centro

das placas utilizando-se pinças metálicas. Cerca de 10 µl de cada amostra foram inoculados sobre o papel filtro, sendo elas: T1 – Óleo essencial de *Protium altsonii* espécime 1 (BRALT01), T2 – Óleo essencial de *Protium altsonii* espécime 2 (BRALT02), T3 – Hidrolato de *Protium altsonii* espécime 1 (BRALT01H), T4 - Hidrolato de *Protium altsonii* espécime 2 (BRALT02H), T5 - Óleo mineral e T6 – Água destilada, sendo considerados 6 tratamentos com 5 repetições. Após esse procedimento as placas foram incubadas a 25 ° C por sete dias em estufa BOD. A atividade antifúngica positiva foi caracterizada pela formação de zonas de inibição de crescimento micelial ao redor dos discos de papel, sendo mensurados perpendicularmente com a auxílio de paquímetro digital, o resultado negativo consistiu da ausência de zonas de inibição (Allizond et al, 2023).

4.4.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada de acordo com a técnica da microdiluição em caldo, utilizando-se placa de 96 poços conforme documento M38-A (NCCLS, 2002). Para isso, a partir da coluna 2 até a coluna 11, os poços foram preenchidos com 175 µl de caldo batata dextrose suplementado com DMSO 1% e Tween 80 0,5%. As soluções estoque dos óleos previamente preparadas na concentração de 50 mg/mL foram avaliadas nas diluições de 1:2 a 1:1024 (v/v).

Após as diluições, foram aplicados 10 µL dos inóculos ajustados na concentração final de 1×10^4 UFC's por poço. A coluna 1 foi preenchida com a solução de 50 mg/mL como controle de esterilização da solução estoque de cada óleo e a coluna 12 foi preenchida com solução de fungicida a base de Cetoconazol na concentração de 50 mg/mL como controle positivo. O controle de crescimento fúngico foi realizado na linha G e o controle de esterilização do meio de cultura foi realizado na linha H (figura 2). As placas foram incubadas a 25 °C em estufa BOD por 72h.

Após o período de incubação, a detecção da atividade inibitória foi realizada após a aplicação 10 µL de solução de resazurina na concentração de 0,2 mg/mL (Monteiro et al, 2012) nos poços e incubação por duas horas no escuro sendo mantida a temperatura de 25 °C. A solução de resazurina é um indicador de viabilidade celular que possui coloração azul que ao entrar na célula é metabolizada em resorufina que possui coloração rosa (Präbst et al, 2017). A mudança de coloração do meio de cultivo

para tons róseo-avermelhados indica crescimento fúngico, sendo a permanência da coloração azul considerada inibição do crescimento. A CIM é considerada a menor concentração do agente (Monteiro et al, 2012). Todos os ensaios realizados foram conduzidos em triplicatas.

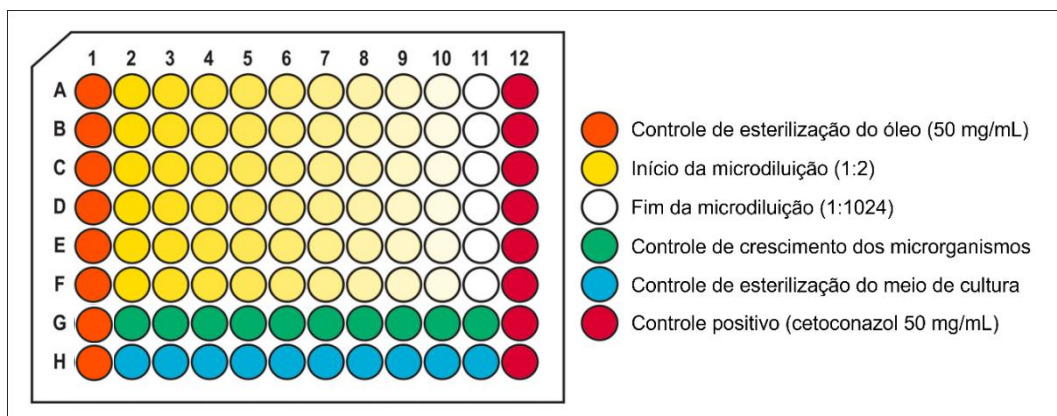


Figura 2. Esquematização do teste de determinação da concentração inibitória mínima em placa de 96 poços. Fonte: Coelho, K.W.S.A (2024).

4.4.5 Determinação da Concentração Fungicida Mínima

A Concentração Fungicida Mínima (CFM) foi determinada a partir dos resultados obtidos na CIM. Uma alíquota de 3 μ L dos poços que apresentaram inibição foi semeada sobre a superfície de placa contendo caldo batata dextrose, desprovido de qualquer antifúngico e incubadas a 26°C por 24h. A CFM foi considerada como a menor concentração do óleo essencial de *P. altsonii* que não apresentou crescimento fúngico para os fitopatógenos na superfície do meio de cultivo após incubação. Todos os testes foram realizados em triplicata (Lubian et al, 2010).

4.5 Análise Estatística

Os dados obtidos na determinação da atividade antifúngica pelo método de difusão em disco em ágar foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA), seguido do teste de comparação múltipla de Tukey. Adotou-se o intervalo de confiança de 95% e as diferenças foram consideradas significativas para $p < 0,05$. A análise estatística foi realizada pelo software SISVAR versão 5.8®.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento dos óleos essenciais

As resinas de *P. altsonii* foram coletadas em período chuvoso e apresentavam coloração branca, textura pegajosa e com odor muito agradável, abundante em compostos voláteis. O óleo essencial de *P. altsonii* é viscoso, odor forte e almiscarado e coloração incolor. O rendimento por hidrodestilação foi variado e as amostras obtiveram alto rendimento. A amostra BPALT01 obteve rendimento superior (11,17%) em relação à BPALT02 (9,38%) (Tabela 3). Oleorresinas frescas apresentam melhores rendimentos em comparação as oleorresinas envelhecidas conforme observado em espécies do gênero *Protium*. Essas diferenças estão relacionadas a diversos fatores, tais como condições ambientais, ao tempo de exposição ao ar e composição química e afetam diretamente no grau de volatilização e oxidação das oleorresinas (Albino et al, 2017).

Tabela 3. Rendimentos de extrações e densidade dos óleos essenciais de *P. altsonii*.

Amostras	Material (g)	Rendimento (%)	Densidade
			(g/mL)
BPALT01	28	11,17	0,94
BPALT02	33	9,38	0,90

Legenda: BPALT01- resina do espécime 1; BPALT02 - resina do espécime 2; Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

5.2 Perfil químico dos óleos essenciais de *Protium altsonii*.

Serão apresentados inicialmente o perfil completo das amostras BRALT01 e BRALT02, os compostos majoritários encontrados nestes e os principais grupos de terpenos presentes nos óleos essenciais extraídos.

Através dos dados espectrométricos e de cromatografia foram detectados 34 compostos químicos para a amostra BRALT01, dos quais 17 são monoterpenos, 15 sesquiterpenos, além da presença de 1 éster e 1 éter. O percentual da composição química dos óleos essenciais foi de 99,4% de compostos identificados (Figura 3).

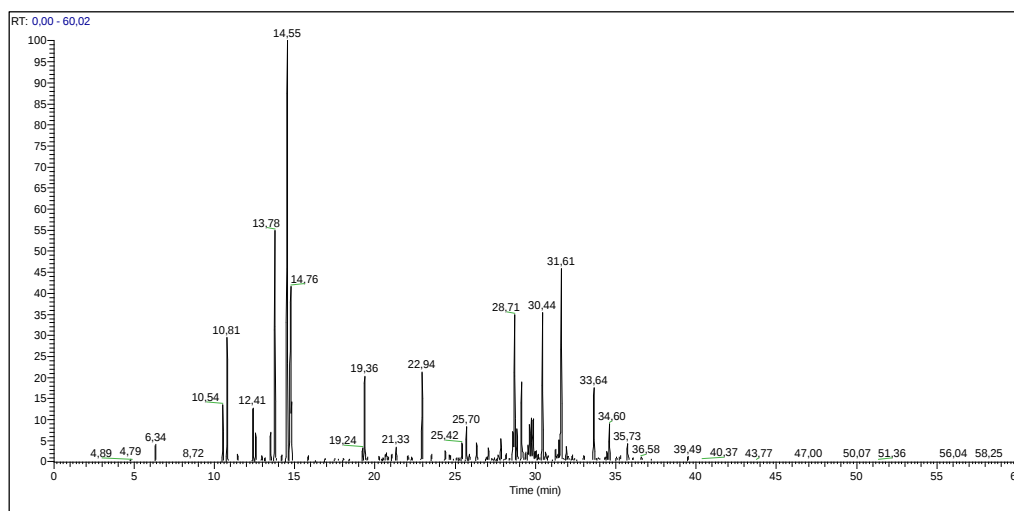


Figura 3. Espectro de cromatógrafo gasoso acoplado à espectrometria de massas (GC-MS) do óleo essencial de *P. altsonii* (BRALT01). Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Dos constituintes químicos detectados na amostra BRALT01 73,22% são monoterpenos e 24,41% são sesquiterpenos, 0,72% são ésteres e 0,45% são éteres. Os constituintes majoritários foram p-cimeno (34,73%), α -felandreno (13,86%), α -pineno (6,85%) e β -acoradieno (9,62%). O perfil químico deste óleo revelou uma proporção elevada de monoterpenos. Os hidrocarbonetos monoterpênicos foram predominantes (72,27%) seguido de monoterpenos oxigenados (1,55%). Em relação aos sesquiterpenos, observou-se predominância de hidrocarbonetos sesquiterpênicos (21,96%). Sesquiterpenos oxigenados representaram 2,45% da amostra (Tabela 4).

Os constituintes químicos detectados em oleorresinas de *P. altsonii* reportadas na literatura relatam a predominância de monoterpenos, principalmente de hidrocarbonetos monoterpênicos p-cimeno, α -felandreno e α -pineno, variando o percentual de concentração das substâncias para amostras (Santana et al. 2020; Souza Ramos et al, 2000). No entanto, alguns estudos identificaram os compostos químicos trans-diidro-terpineol (25,8%), γ -cadineno (14,4%) e α -neocalitropseno (7,3%) como majoritários (Silva et al, 2016; Zoghbi et al, 2005).

Tabela 4. Composição química do óleo essencial de resina de *P. altsonii* (BRALT01)

N.S	Substâncias*	TR	IR lit.	IR	(%)
1	acetato de butila	6,34	807	813	0,72
2	α -tujeno	10,54	932	924	2,93
3	α -pineno	10,81	932	931	6,85
4	canfeno	11,44	946	947	0,32
5	sabineno	12,41	969	971	2,88

6	b-pineno	12,58	974	975	1,5
7	α -felandreno	13,78	1002	1005	13,86
8	p-cimeno	14,55	1022	1024	34,73
9	silvestreno	14,72	1025	1029	5,76
10	β -felandreno	14,76	1025	1030	2,98
11	1,8-Cineol	14,81	1026	1031	0,9
12	γ -terpineno	15,85	1054	1057	0,28
13	4-Tujanol	16,32	1065	1069	0,08
14	isoterpinoleno	16,90	1085	1084	0,14
15	p-cimeneno	17,08	1089	1089	0,04
16	α -terpineol	21,05	1186	1194	0,4
17	timol	24,46	1289	1291	0,04
18	carvacrol	24,69	1298	1297	0,13
19	α -cubebeno	26,33	1348	1347	1,14
20	β -cubebeno	27,67	1387	1387	0,19
21	cipereno	28,17	1398	1402	0,32
22	α -cedreno	28,59	1410	1416	1,45
23	β -cedreno	28,84	1419	1424	2,11
24	trans- α -bergamoteno	29,13	1432	1433	4,02
25	(E)- β -farneseno	29,74	1454	1452	1,8
26	β -acoradieno	30,44	1469	1475	9,62
27	ar-curcumeno	30,61	1479	1480	0,33
28	β -sesquifelandreno	31,92	1521	1523	0,66
29	E- γ -bisaboleno	32,01	1529	1526	0,09
30	α -cadineno	32,29	1537	1536	0,23
31	E-nerolidol	33,01	1561	1560	0,25
32	Humuleno-1,2-epóxido	34,45	1608	1609	0,45
33	1,10-di-epi-cubenol	34,60	1618	1615	2,16
34	neo-intermedeol	35,80	1658	1657	0,04
Total de componentes identificados (%)					99,4
Hidrocarbonetos monoterpênos					72,27
Monoterpenos oxigenados					1,55
Hidrocarbonetos sesquiterpenos					21,96
Sesquiterpenos oxigenados					2,45
Outros					1,17

Legenda: N.S - Número da substância.

*Componentes listados de acordo com a ordem de eluição.

TR – Tempo de retenção.

IR lit. - Índice de Retenção obtido na literatura (Adams, 2007).

IR- Índice de Retenção calculado a partir de uma série homóloga de n-alcenos C₇ - C₂₀.

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Através dos dados espectrométricos e de cromatografia foram detectados 25 compostos químicos para a amostra BRALT02, dos quais 19 são monoterpênos, 5 sesquiterpenos, além da presença de 1 éster. O percentual da composição química dos óleos essenciais foi de 100% de compostos identificados (Figura 4).

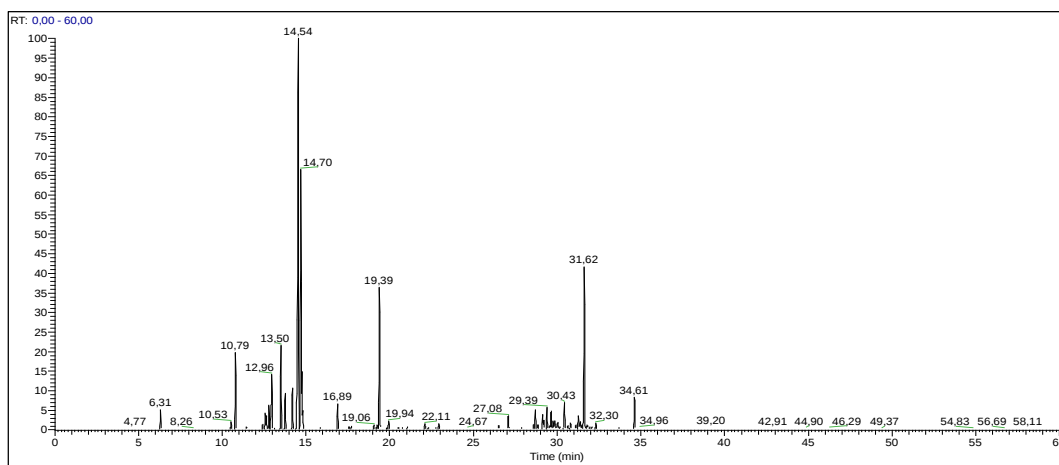


Figura 4. Espectro de cromatógrafo gasoso acoplado à espectrometria de massas (GC-MS) do óleo essencial de *P. altsonii* (BRALT02). Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Dos constituintes químicos detectados na amostra BRALT02 (Tabela 5) 90,21% são monoterpenos e 8,45% são sesquiterpenos e 1,34% são éster. Os constituintes majoritários foram p-cimeno (51,6%), trans-dihidro- α -terpineol (15,1%), α -pineno (6,92%), α -terpineno (3,77%) e α -felandreno (3,34%). O perfil químico deste óleo revelou uma proporção elevada de monoterpenos, sendo o percentual de hidrocarbonetos monoterpênicos de 73,84% e monoterpenos oxigenados de 16,37%. Hidrocarbonetos sesquiterpênicos representaram 8,45% da amostra. Observou-se ausência de sesquiterpenos oxigenados (Tabela 5).

Os constituintes químicos majoritários p-cimeno e trans-dihidro- α -terpineol identificados na amostra BRALT02 corroboram os dados de Zoghbi et al (2005), apresentando percentual de 31,5% e 25,8% respectivamente. Em alguns relatos da literatura o composto trans-dihidro- α -terpineol esteve presentes em oleorresinas de *P. altsonii* em baixas concentrações (Souza Ramos et al, 2000; Silva et al, 2016; Tostes, 2015).

Tabela 5. Composição química do óleo essencial de resina de *P. altsonii* (BRALT02)

N.S	Componentes*	TR	IR lit.	IR	(%)
1	acetato de butila	6,31	807	812	1,34
2	α -tujeno	10,53	924	924	0,59
3	α -pineno	10,79	932	931	6,92
4	canfeno	11,44	946	947	0,15
5	sabineno	12,41	969	971	0,42
6	b-pineno	12,57	974	975	1,12
7	trans-p-metano	12,64	973	976	0,72
8	α -felandreno	13,76	1002	1004	3,34
9	α -terpineno	14,19	1014	1015	3,77
10	p-cimeno	14,54	1020	1024	51,6

11	β -felandreno	14,75	1025	1029	1,41
12	1,8-cineol	14,80	1026	1031	0,57
13	γ -terpineno	15,85	1054	1057	0,11
14	isoterpinoleno	16,89	1085	1084	2,34
15	p-cimeno	17,09	1089	1089	0,03
16	<i>trans</i> -dihidro- β -terpineol	19,06	1134	1139	0,37
17	<i>trans</i> -dihidro- α -terpineol	19,39	1143	1150	15,1
18	terpinen-4-ol	20,51	1174	1180	0,17
19	α -terpineol	21,06	1186	1195	0,16
20	ciclosativeno	27,08	1369	1369	1,32
21	α -cubebeno	29,39	1351	1341	2,07
22	2-epi- α -funebreno	30,43	1380	1374	2,91
23	α -copaeno	30,62	1374	1381	0,17
24	sibireno	31,10	1400	1396	0,32
25	1-10-di-epi-cubenol	34,61	1618	1615	2,98
Total de componentes identificados (%)					100
Hidrocarbonetos monoterpênicos					73,84
Monoterpenos oxigenados					16,37
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos					8,45
Sesquiterpenos oxigenados					-
Outros					1,34

Legenda: N.S - Número da substância.

*Componentes listados de acordo com a ordem de eluição.

TR – Tempo de retenção.

IR lit. - Índice de Retenção obtido na literatura (Adams, 2007).

IR- Índice de Retenção calculado a partir de uma série homóloga de n-alcanos C₇ - C₂₀.

Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Em relação aos constituintes químicos das oleorresinas de BRALT01 e BRALT02 foram identificadas diferenças significativas na composição química, variando os compostos químicos e seus respectivos percentuais de concentração, como observados em p-cimeno (34,73%; 51,6%), α -pineno (6,85%; 6,92%), α -felandreno (13,86%; 3,34%). Diversos compostos foram identificados em apenas uma das amostras.

O percentual de monoterpênicos e sesquiterpênicos foi variável para as amostras. Na oleorresina BRALT02 constatou-se percentual de monoterpênicos superior à oleorresina BRALT01 (90,21%; 73,22%), prevalecendo os monoterpênicos oxigenados (16,37%; 1,55%). O percentual de hidrocarbonetos sesquiterpênicos foi superior na amostra BRALT01 (21,96%) em comparação a amostra BRALT02 (8,45%). Em contraste, os sesquiterpenos oxigenados foram detectados apenas na composição química de BRALT01.

Diferenças importantes na variação da composição química, nos percentuais dos constituintes e nos rendimentos das oleorresinas *P. altsonii* foram identificadas por Tostes (2015). As amostras apresentaram diferenças quanto ao período de coleta das resinas (alta precipitação e baixa precipitação), variações nas fenofases dos indivíduos (frutificação, queda foliar, floração) e tipos de resinas (brancas, oxidadas, mistura de resinas e resinas secas). Alguns compostos são comuns nas amostras analisadas, tais como, α -pineno, β -felandreno, β -pineno, p-cimeno, enquanto o composto benzil benzoato foi considerado um dos compostos majoritários de resinas oxidadas.

Neste estudo (Tostes, 2015) a maioria das amostras de óleo essencial obtiveram como composto majoritário α -pineno (16,38%-51,99%) seguido de α -felandreno (1,02%-44,41%). O composto p-cimeno foi ausente em quase 50% das amostras e nas demais apresentou baixo percentual (1,19%-16,43%). Nas amostras BRAL01 e BRALT02 o composto p-cimeno foi majoritário (34,73%; 51,66%). O composto α -felandreno obteve o segundo maior percentual (13,68%) na amostra BRALT01. Na amostra BRALT02, o composto trans-dihidro- α -terpineol apresentou o segundo maior percentual.

As oleorresinas de *Protium* apresentam ampla variação na composição química, dependendo da espécie, idade e cor da resina. A complexa variabilidade química é evidente em oleorresinas de uma espécie ou entre espécies no gênero, conforme verificado em alguns estudos. Por exemplo, a composição volátil de resina de *P. heptaphyllum* foi composto majoritariamente de limoneno (66,30%) seguido de δ -3-careno (11,22%) e α -felandreno (2,08%). A espécie *P. pallidum* obteve em sua composição química os compostos o-cimena (31,17%), β -felandreno (25,90%), α -pineno (16,99%) e α -felandreno (5,63%) sendo majoritários (de Carvalho Brito et al, 2024).

Semelhantemente, observou-se variabilidade química nas oleorresinas entre indivíduos da mesma espécie e entre espécies diferentes no estudo de Souza Ramos et al (2000) para *P. altsoni*, *P. hebetatum*, *P. strumosum*, *P. nitidifolium*, *P. spruceanum*, *P. paniculatum* var *riedelianum*, *P. paniculatum* var *riedelianum* e *P. paniculatum* var. Houve predominância de monoterpenos do tipo mentano, sendo p-cimeno o componente mais frequente e abundante. Semelhantemente ao que ocorreu com as amostras de *P. altsonii* analisadas neste estudo.

5.3 Atividade antifúngica dos óleos essenciais e hidrolatos de *Protium altsonii*

5.3.1 Avaliação da atividade antifúngica por difusão em ágar pela técnica de disco

A avaliação do efeito antifúngico foi aplicada às amostras de oleorresinas de *P. altsonii* e constatou-se que os perfis dos óleos (BRALT01 e BRALT02) apresentaram atividades antifúngicas frente aos fungos filamentosos *Alternaria japonica*, *Colletotrichum guaranicola* e *Colletotrichum* spp. (figura 5) com formação de halos de inibição acima de 1,0 cm. Os óleos BRALT01 e BRALT02 não apresentaram zona de inibição do crescimento micelial para *Pestalotiopsis* spp (Tabela 6). Em contraste, os hidrolatos (BRALT01H; BRALT02H) não apresentaram atividade antifúngica para nenhum fitopatógeno testado.

O óleo BRALT01 apresentou melhor atividade antifúngica frente ao fungo *Alternaria japonica* (halos de inibição $>1,45 \pm 2,39$ cm) em comparação aos fitopatógenos *Colletotrichum guaranicola* e *Colletotrichum* sp (halos de inibição: 1,19 cm e 1,14 cm, respectivamente). O óleo BRALT02 também apresentou melhor atividade antifúngica frente ao fungo *C. guaranicola* (halos de inibição $>1,95 \pm 3,67$ cm) em comparação aos fungos *A. japonica* e *Colletotrichum* sp. (halos de inibição: 1,73 cm e 1,70 cm).

Comparando-se os perfis dos óleos de *P. altsonii*, observou-se que o óleo BRALT02 apresentou melhores resultados para atividade antifúngica (halos de inibição entre 1,70 cm-1,95 cm) do que o óleo BRALT01 (halos de inibição entre 1,19-1,45 cm), para *A. japonica*, *C. guaranicola* e *Colletotrichum* sp. (Tabela 6).

Tabela 6. Zonas de inibição de crescimento micelial (média $\pm$ desvio padrão) em mm de óleo essencial de *Protium altsonii* sobre fungos fitopatogênicos.

Tratamentos	<i>A. japonica</i>	<i>C. guaranicola</i>	<i>Colletotrichum</i> spp.	<i>Pestalotiopsis</i> spp.
BRALT-01	14,55 $\pm$ 2,39 a	11,94 $\pm$ 3,50 b	11,44 $\pm$ 2,99 b	0,00 a
BRALT-02	17,39 $\pm$ 2,25 a	19,52 $\pm$ 3,67 a	17,05 $\pm$ 2,69 a	0,00 a
Óleo mineral	0,00 $\pm$ 0,00 b	0,00 $\pm$ 0,00 c	0,00 $\pm$ 0,00 c	0,00 a
p	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Tukey a 5% ($p < 0,05$) de probabilidade. BRALT-01 - óleo essencial de *Protium altsonii* espécime 1; BRALT02 - óleo essencial de *Protium altsonii* espécime 2. p – nível de significância. Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

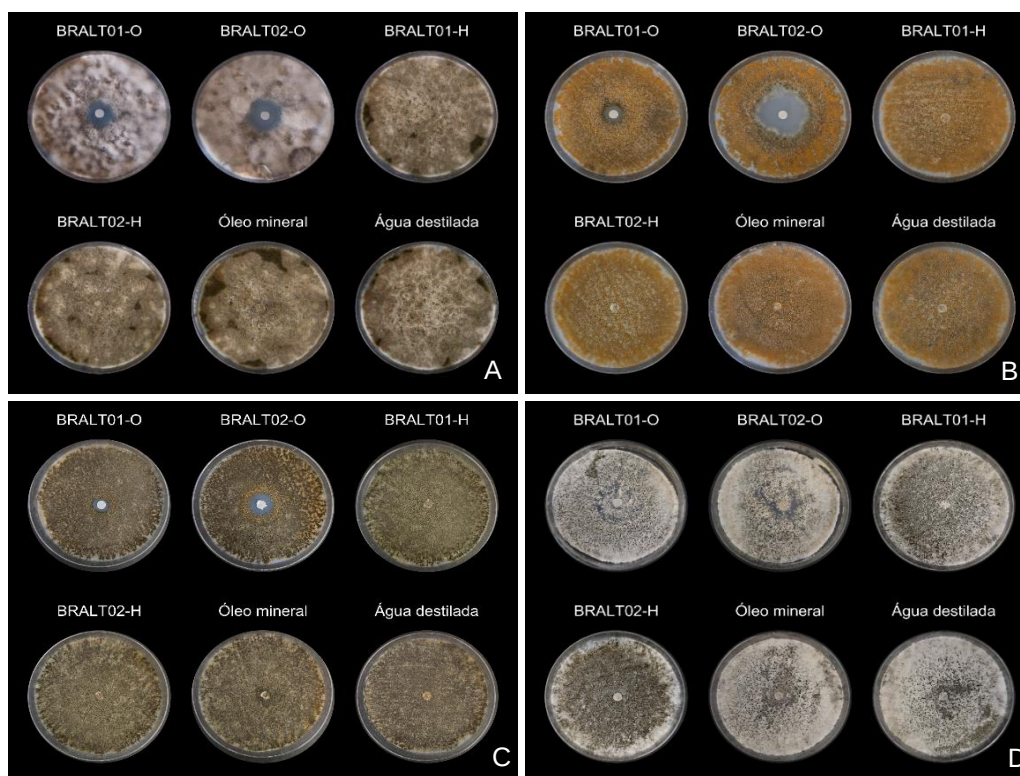


Figura 5. Zonas de inibição de crescimento micelial para fungos fitopatogênicos: (A) *alternaria japonica*; (B) *Colletotrichum guaranicola*; (C) *Colletotrichum* sp.; (D) *Pestalotiopsis* sp.; Tratamentos: T1 (BRALT01-O): óleo essencial de *P. altsonii* espécime 1; T2 (BRALT02-O): óleo essencial de *P. altsonii* espécime 2; T3 (BRALT01-H): hidrolato do espécime 1; T4 (BRALT02-H): hidrolato do espécime. 2; T5: controle óleo mineral; T6 - água destilada. Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

5.3.2 Concentração Mínima Inibitória e Concentração Fungicida Mínima

A partir dos testes de CMI e CFM é possível observar ação fungicida eficiente dos óleos essenciais BRALT01 e BRALT02 contra todos os fitopatogênicos testados (Tabela 7). O óleo BRALT01 apresentou melhor eficiência frente aos fungos *C. guaranicola* e *Colletotrichum spp* com os menores valores para CIM ($3,125 \text{ mg mL}^{-1}$) e CFM ($3,125 \text{ mg mL}^{-1}$). Em relação ao óleo BRALT02 observou-se melhor eficiência frente aos fungos *C. guaranicola* e *Colletotrichum spp* com os menores valores para CIM ($1,562 \text{ mg mL}^{-1}$) e CFM ($1,562 \text{ mg mL}^{-1}$).

Em relação aos patógenos avaliados, observa-se que o fungo *Pestalotiopsis spp.* apresentou os maiores valores de CIM e CFM para BRALT01 (25 mg mL^{-1} ; 25 mg mL^{-1}) e BRALT02 ($12,50 \text{ mg mL}^{-1}$; $12,50 \text{ mg mL}^{-1}$) em comparação aos demais fitopatogênicos. Comparando-se os óleos BRALT01 e BRALT02 observa-se que o óleo BRALT02 foi mais eficiente do que o óleo BRALT01 apresentando os menores valores de CIM e CFM para todos os patógenos testados (Tabela 7).

Tabela 7. Comparação entre os efeitos dos óleos essenciais de *Protium altsonii* na determinação das Concentração Mínima Inibitória (CIM) e Concentração Fúngica Mínima (CFM) em fungos fitopatogênicos.

Fitopatógenos	Óleo BRALT01		Óleo BRALT02	
	CIM (mg mL ⁻¹)	CFM (mg mL ⁻¹)	CIM (mg mL ⁻¹)	CFM (mg mL ⁻¹)
<i>A. japonica</i>	12,50	25	3,125	6,25
<i>C. guaranicola</i>	3,125	3,125	1,562	1,562
<i>Colletotrichum sp.</i>	3,125	3,125	1,562	1,562
<i>Pestalotopsis sp.</i>	25	25	12,50	12,50

Legenda: BRALT01: óleo essencial de *Protium altsonii* espécime 1; BRALT02: óleo essencial de *Protium altsonii* espécime 2;

O óleo essencial da resina de *Protium* apresenta variação na composição química, diferenças na concentração de compostos majoritários, presença ou ausência compostos químicos, tanto entre espécies diferentes quanto entre uma mesma espécie. Uma mesma espécie pode sofrer variação em seus compostos químicos, e isso pode estar associado a uma variação complexa de fatores bióticos e abióticos (Machado et al, 2003; Marques et al, 2010; Rocha et al, 2022; Suárez et al, 2007)

Diversos estudos têm sido realizados no intuito de compreender a influência de fatores bióticos e abióticos na variabilidade química de oleorresinas de *Protium*. A variação sazonal exerce uma influência direta sobre a vegetação, bem como uma influência indireta, através do solo. A biossíntese e o acúmulo de metabólitos secundários são suscetíveis a variação sazonal, geográfica e ritmo circadiano. A produção de metabólitos secundários pode variar durante o ciclo dia/noite. A idade e desenvolvimento da planta e dos diferentes órgãos vegetais influencia na quantidade de metabólitos produzidos e nas concentrações das substâncias (Gobbo-Neto; Lopes, 2007).

O envelhecimento natural das oleorresinas exsudadas, expostas às condições ambientais após um período de tempo, está associada a grandes variações na composição química e no rendimento dos óleos essenciais. Alguns compostos químicos podem sofrer um processo de oxidação durante o envelhecimento das oleorresinas. O composto terpinoleno é oxidado em p-cimeno, que, por sua vez, é convertido em p-cimeno-8-ol. Oleorresinas frescas tendem a apresentar um maior

rendimento dos óleos essenciais em comparação às oleorresinas envelhecidas (Albino et al, 2017)

O estudo de revisão de Rocha et al. (2022) buscou correlacionar quimiodiversidade de óleos essenciais de *Protium hepthaphylum*. Diversos fatores bióticos e abióticos foram apontados como relevantes para a diversidade química observadas no levantamento. Constatou-se que os fatores como da localização geográfica (mesma área de coleta e regiões distintas), sazonalidade, ciclo cardiano, diferentes órgãos vegetais e estágios de maturação (folhas, frutos verdes e maduros), tempo de exposição às condições ambientais (resinas frescas e envelhecidas), tipos de solos, temperatura e disponibilidade de água influenciam na variabilidade química dos óleos essenciais. Outros fatores como métodos de extração e tempo de extração de óleos essenciais podem interferir na composição química de óleos essenciais.

Os óleos essenciais de resinas de *Protium* apresentam diversas atividades biológicas relatadas pela literatura. As atividades biológicas de alguns componentes identificados nas oleorresinas de *Protium altsonii* (BRALT01 e BRALT02) já foram registradas em algumas espécies de *Protium* e em análises de compostos alvo de interesse. Fazem parte da composição deste óleo essencial algumas substâncias químicas já relatadas na literatura que apresentaram potencial antifúngico, fitopatogênico, antimicrobiano, antibacteriano, repelentes de insetos e potencial leishmanicida. Entre esses compostos estão α -terpineol, p-cimeno, α -pineno, β -pineno, α -felandreno, terpinen-4-ol e 1,8-Cineol. Esses estudos serão discutidos abaixo.

Compostos monoterpênicos possuem atividade antifúngica relatada para fungos fitopatogênicos. Os monoterpenos como timol e (S)-limoneno podem atuar na inibição de pectina metil esterase (PME) e celulase. A ação antifúngica do timol, (S)-limoneno e 1,8-cineol foi relatada contra *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium digitatum* e *Asperigallus niger* como potencial para serem usados como fungicidas (Marei; Rasoul; Abdelgaleil, 2012).

Hammer; Carson; Riley (2003) avaliaram a atividade antifúngica de compostos presentes em óleos essenciais pelos métodos microdiluição em caldo, macrodiluição e métodos de tempo de eliminação. Os componentes terpinen-4-ol, α -terpineol, linalol, α -pineno, β -pineno e 1,8-cineol apresentaram atividade antifúngica. O estudo ressalta

que a investigação da atividade antifúngica pode ser significativamente influenciada pelo método de testado.

Tostes (2015) avaliou o efeito fungitóxico dos óleos essenciais da resina de *P. altsonii*. Os resultados demonstraram os óleos essenciais analisados foram muito eficientes para inibir o crescimento do fungo *Penicillium chrysogenum* e da cepa *Candida albicans*. Os óleos essenciais da resina de *P. altsonii* apresentaram também atividade fungitóxica frente aos fitopatógenos *Aspergillus niger* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* com formação de halos de inibição acima de 1,0 cm, alguns correspondendo a quase 50% de atividade a mais que o controle positivo utilizado (nitrato de miconazol), sendo uma potencial fonte de agentes fungitóxicos.

O óleo essencial de resina *P. amazonicum* apresentou atividade antifúngica promissora contra *Cryptococcus neoformans* (MIC = 156 µg/mL). O componente majoritário foi o monoterpeno δ -3-careno (47,9%) seguido dos monoterpenos α -terpineol (5,5%), limoneno (5,1%), p-cimeno-8-ol (4,8%), p-cimeno (4,1%) e α -pineno (4,0%) (Satyal et al, 2017).

Atividade antimicrobiana foi constatada no óleo essencial de resina de *Protium heptaphyllum* contendo terpinoleno (28.5%), limoneno (16.9%), α -felandreno (16.7%), α -pineno (10.5%) e p-cimeno (6.0%) (Bandeira et al, 2006).

Atividade bactericida foi verificada no óleo essencial de resina de *Protium heptaphyllum* contendo como compostos majoritários terpinoleno (35,8%), p-cimeno (26.7%), triciclano (11,1%) e p-cymen-8-ol (10,1%) (Pinto et al, 2015).

Atividade acaricida e repelentes de insetos foi constatada em oleorresinas frescas e envelhecidas de *Protium bahianum* contra o ácaro-aranha-de-duas-pinta (*Tetranychus urticae*). A oleorresina fresca foi composta basicamente de monoterpenos, dos quais p-cimeno (18,3%), α -felandreno (14%), triciclano (11,4%) e terpinen-4-ol (7,4%) foram os compostos majoritários. A oleorresina envelhecida obteve alta predominância de sesquiterpenos oxigenados, predominando o acetato de β -(Z)-santalol (83,1%), seguido de trans-verbenol (3,3%) e terpinen-4-ol (2,2%). As oleorresinas apresentaram toxicidade fumigante (mortalidade e fecundidade), mas apenas o óleo essencial da resina envelhecida induziu repelência (Pontes et al, 2007).

De Carvalho Brito et al (2024) avaliaram o potencial inseticida do OE de resinas de *P. heptaphyllum* e *P. pallidum*, os óleos essenciais de *Gaultheria procumbens* e *Juniperus communis* e o composto α -pineno no manejo do gorgulho do milho (*Sitophilus zeamais* L.), considerada a principal praga de insetos em grãos armazenados. Foram realizados testes de toxicidade de contato, fumigação, repelência, persistência e efeitos residuais do óleo essencial do α -pineno na germinação. Para o óleo de *P. heptaphyllum*, predominaram os monoterpenos, onde os mais abundantes foram limoneno (66,30%), δ -3-careno (11,22%) e α -terpineol (2,93%). O óleo de *P. pallidum* possui em sua composição majoritária compostos monoterpenico, onde os mais abundantes foram o-cimeno (31,17%), β -felandreno (25,9%) e α -pineno (16,99%), α -felandreno (5,63%). Os resultados mostraram a ação inseticida destas oleorresinas e do composto α -pineno no controle de *S. zeamais*. Além disso, o componente α -pineno não afetou a germinação ou o vigor das sementes de milho.

Santana et al (2020) demonstrou em testes *in vitro* o efeito tóxico dos óleos essenciais de resinas de *P. altsonii* e *Protium hebetatum* no combate à *Leishmania amazonenses*, agente da leishmaniose. O óleo essencial de *P. altsonii* foi composto majoritariamente por α -pineno (42,9%), p-cimeno (33,3%), β -felandreno (7,3%), α -felandreno (5,4%) e 1,8-cineol (4,8%). O óleo essencial de *P. hebetatum* foi composto majoritariamente por p-cimeno (74,6%), β -felandreno (10,7%), α -pineno (8,6%) e α -felandreno (3,7%). O estudo concluiu que os compostos α -pineno, p-cimeno e 1,8-cineol têm propriedades anti-Leishmania.

Além disso, outros estudos investigaram o potencial biológico de *Protium* no controle de fungos fitopatogênicos. O extrato hexânico da resina de *P. heptaphyllum* apresentou atividade antifúngica *in vitro* contra os fitopatogênicos *Fusarium guttiforme* e *Chalara paradoxa*, causadores da fusariose e podridão negra dos frutos pós-colheita em abacaxi (Sales et al, 2016). Carvajal, Alvarez e Osorio (2016) demonstraram que o óleo essencial extraído dos frutos de *P. colombianum* apresenta citotoxicidade contra isolados de *Fusarium*.

O estudo de Clerck et al (2020) avaliou a atividade antifúngica e antibacterida de óleos essenciais contra patógenos vegetais de importância agrônômica. Observou-se alguns óleos essenciais são mais específicos e ativos para um determinado grupo de patógenos, enquanto outros, são mais generalistas e atuam sobre vários

patógenos. Os óleos que parecem ser mais específicos e são ativos em um a três patógenos são ricos em terpenos e aldeídos. Os óleos essenciais mais generalistas são ricos em fenóis, fenilpropanoides, compostos organossulfurados e/ou aldeídos.

O estudo de Hoyos et al (2012) demonstrou que a ação fungicida de óleos essenciais está relacionada à composição química do óleo essencial, às concentrações utilizadas e à sensibilidade do patógeno a um ou mais constituintes químicos. O aumento da concentração de um óleo essencial não resulta necessariamente em uma maior inibição de germinação de conídios de um determinado patógeno. Por exemplo, neste estudo observou-se que o aumento na concentração do OE de *C. citriodora* e *C. limon* não resultou em maior inibição das cepas de *Phaseolus vulgaris*.

Os constituintes químicos de óleos essenciais, isolados ou em conjuntos, podem apresentar atividades biológicas. Os óleos essenciais são uma mistura complexa de compostos químicos e a atividade biológica pode estar relacionada ao efeito sinérgico do componente majoritário entre os demais componentes presentes, ainda que em baixas concentrações (Oliveira et al, 2016; Ricarte et al, 2020).

A escolha do método a ser utilizado os estudos pode influenciar significativamente os resultados a atividade antifúngica dos óleos essenciais analisados. Hammer; Carsor; Riley (2003) avaliaram a atividade antifúngica de diversos compostos presentes em óleos essenciais pelos métodos microdiluição em caldo, macrodiluição e métodos de tempo de eliminação. Os componentes terpinen-4-ol, α -terpineol, linalol, α -pineno, β -pineno e 1,8-cineol apresentaram atividade antifúngica. Alguns compostos não apresentaram atividade antifúngica no teste por microdiluição. O estudo ressalta que a investigação da atividade antifúngica pode ser significativamente influenciada pelo método de testado.

O estudo de Nascimento et al (2007) analisou os fatores que podem influenciar na atividade antimicrobiana de óleos essenciais, *in vitro*, com base nos resultados apresentados na literatura. O estudo sugere que alguns fatores devem ser observados no planejamento experimental, entre eles, a técnica usada, o meio de cultura, densidade do inóculo, o óleo essencial e o emulsificador utilizado. Além disso, deve-se considerar que a avaliação antimicrobiana dos óleos essenciais pode ser dificultada

devido à volatilidade do óleo, à sua insolubilidade em água e à sua complexidade química.

O uso de agentes emulsificadores, ou emulsificantes, como DMSO e Tween 80 são muito úteis para facilitar a dispersão dos OEs. No entanto, a escolha desses emulsificantes, deve ser feita considerando-se que estes materiais podem interagir com os óleos essenciais, bem como, possuir atividade antimicrobiana. Dessa forma, o uso de emulsificantes pode potencializar ou minimizar os efeitos antimicrobianos dos OEs testados, conforme a preparação da solução óleo-agente emulsificante e a concentração utilizada dos agentes emulsificadores (Ma; Davidson; Zhong, 2016; Nascimento et al, 2008).

Para os testes realizados nesta pesquisa, observou-se que o fungo *Pestalotiopsis* spp. não apresentou zona de inibição (mm) para os óleos essenciais BRALT01 e BRALT02, pelo método de difusão em disco em Ágar. No entanto, foi possível determinar a CMI de acordo com a técnica da microdiluição em caldo e a CFM dos óleos analisados para este fitopatógeno (Tabela 7). Utilizou-se como emulsificantes DMSO 1% e Tween 80 0,5. O uso dos emulsificantes supracitados pode ter melhorado a biodisponibilidade dos OEs analisados, permitindo a determinação da CMI e CFM frente ao patógeno *Pestalotiopsis* spp. No entanto, outras análises são necessárias para determinar se outros fatores, além do uso de DMSO e Tween 80, influenciaram nos resultados obtidos.

6 CONCLUSÕES

A variabilidade química das oleorresinas dos espécimes de *Protium altsonii* deve estar associada a fatores ambientais e fatores intrínsecos aos indivíduos analisados.

Diferenças na composição química dos espécimes de *Protium altsonii* podem justificar a melhor eficiência do óleo essencial BRALT02 em comparação ao óleo essencial BRALT01 na determinação da concentração mínima inibitória (CMI) e concentração fungicida mínima (CFM) para todos os fitopatógenos avaliados.

Os óleos essenciais de resinas de *Protium altsonii* apresentaram potencial antifúngico, *in vitro*, contra os fitopatógenos *Alternaria japonica*, *Coletotrichum guaranicola*, *Colletotrichum spp.* e *Pestalotiopsis spp.* sendo considerados uma alternativa promissora para o controle de fitopatógenos, representando menor risco à saúde humana e ao meio ambiente.

Protium altsonii apresenta potencial para prospeção de moléculas bioativas a partir de espécies nativas, para o desenvolvimento de biopesticidas com potencial biotecnológico.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**. 4 ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2007. 804 p.
- AJAY KUMAR, G. Colletotrichum gloeosporioides: biology, pathogenicity and management in India. **Journal of Plant Physiology and Pathology**, v. 2, n. 2, p. 2-11, 2014.
- AHMED, T. et al. Green synthesis and characterization of zirconium oxide nanoparticles by using a native *Enterobacter* sp. and its antifungal activity against bayberry twig blight disease pathogen *Pestalotiopsis versicolor*. **NanoImpact**, v. 21, p. 100281, 2021.
- ALAM, T.; HASANY, S. F.; NAJAM, L. Essential oils and their compounds for applications in fungal diseases: Conventional and nonconventional approaches. In: MANZOOR, N. (ed.). **Advances in antifungal drug development: Natural products with antifungal potential**. Singapore: Springer Nature Singapore, 2024. p. 97-157.
- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. Â. V.; MAFIA, R. G. Produção, determinação e calibração da concentração de inóculo em suspensão. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G (org.). **Métodos em Fitopatologia**. Viçosa: Editora UFV, 2007. p. 103-116.
- ALLIZOND, V. et al. *In vitro* antifungal activity of selected essential oils against drug-resistant clinical *Aspergillus* spp. Strains. **Molecules**, v. 28, n. 21, p. 1-15, 2023
- ALBINO, R. C. et al. Oxidation of monoterpenes in *Protium heptaphyllum* oleoresins. **Phytochemistry**, v. 136, p. 141-146, 2017.
- ALBUQUERQUE, F. C. Antracnose do guaraná. Rio de janeiro: Ministério da Agricultura/Serviço de Informação Agrícola. 1961. 22p.
- AL-LAMI, H. F. D.; YOU, M. P.; BARBETTI, M. J. Role of foliage component and host age on severity of *Alternaria* leaf spot (caused by *Alternaria japonica* and *A. brassicae*) in canola (*Brassica napus*) and mustard (*B. juncea*) and yield loss in canola. **Crop and Pasture Science**, v. 70, n. 11, p. 969-980, 2019.
- ALONSO, R. et al. Fungi associated to bark lesions of *Eucalyptus globulus* stems in plantations from Uruguay. **Revista Árvore**, v. 33, p. 591-597, 2009.
- AQUINO, C. F. et al. Ação e caracterização química de óleos essenciais no manejo da antracnose do maracujá. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, p. 1059-1067, 2012.

ARAGAO, G. F. et al. Analgesic and anti-inflammatory activities of the isomeric mixture of α - and β -amyrin from *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. **Journal of Herbal Pharmacotherapy**, v. 7, n. 2, p. 31-47, 2008.

ARAGÃO, G. F. et al. A possible mechanism for anxiolytic and antidepressant effects of α - and β -amyrin from *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 85, n. 4, p. 827-834, 2006.

ARAÚJO NETO, S. E. et al. Controle pós-colheita da antracnose do maracujazeiro: amarelo com aplicação de óleo de copaíba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 509-514, 2014.

ARAÚJO, A. C.; TOLEDO, E. D.; SOARES, W. R. O. Produtos alternativos no controle de *Colletotrichum* spp. isolados de manga e banana. **Científic@-Multidisciplinary Journal**, v. 5, n. 3, p. 104-112, 2018.

ASSUMPÇÃO, R.; NUNES, R. S. C. Antracnose em frutos nativos da Amazônia e metodologias alternativas naturais de controle de fungos toxigênicos causadores da doença. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 12, p. 99676-99688, 2020.

AYÓN, C. B. C. et al. In vitro evaluation of antagonists against soursop fruit pathogens (*Annona muricata* L.) in Nayarit, Mexico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 42, p. e-147, 2020.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils—a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BANDEIRA, P. N. et al. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of resin of *Protium heptaphyllum*. **Natural Product Communications**, v. 1, n. 2, p. 1934578X0600100207, 2006.

BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 6, n. 2, p. 71-79, 2016.

BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. **Handbook of essential oils: science, technology, and applications**. CRC press, 2009. 991 p.

BATISTA, T. F. C. et al. Ocorrência de antracnose em frutos de açaí, *Euterpe oleracea*, em Muaná, Pará. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 360-360, 2007.

BENTES, J. L. S.; BARRETO, R. W. Reavaliação taxonômica de *Colletotrichum guaranicola* Albuq. agente causal da antracnose do guaranazeiro. **Acta Amazônica**, v. 34, p. 129-131, 2004.

BENTES, J. L. S.; COSTA NETO, P. Q. Variabilidade genética de *Colletotrichum guaranicola* usando marcadores AFLP. **Acta Amazônica**, v. 41, p. 251-256, 2011.

BENCHIMOL, R. L. et al. **Antracnose da sumaumeira: descrição e manejo em mudas enviveiradas**. Belém: Embrapa Pará. Comunicado Técnico n. 50. ISSN 1983-0491. 2021.

BHUNJUN, C. S. et al. Investigating species boundaries in *Colletotrichum*. **Fungal Diversity**, v. 107, p. 107-127, 2021.

BORGOHAIN, P. et al. Pestalotioid fungi: A rare agent of onychomycosis among agriculture workers. **Current Medical Mycology**, v. 6, n. 2, p. 23, 2020.

BUSH, R. K.; PROCHNAU, J. J. Alternaria-induced asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 113, n. 2, p. 227-234, 2004.

CABRAL, C. S. et al. Characterization of *Alternaria* isolates causing leaf spots in radish in Brazil. **Summa Phytopathologica**, v. 46, n. 4, p. 340-341, 2020.

CAI, L. et al. A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. **Fungal Diversity**, v. 39, n. 1, p. 183-204, 2009.

CAMPOS, E.V.R et al. Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: Future perspectives. **Ecological Indicators**, v. 105, p. 483-495, 2019.

CARVAJAL, D.; ALVAREZ, R.; OSORIO, E. Chemical variability of essential oils of *Protium colombianum* from two tropical life zones and their in vitro activity against isolates of *Fusarium*. **Journal of Pest Science**, v. 89, p. 241-248, 2016.

CASAS, L. L. et al. *Colletotrichum siamense*, a mycovirus-carrying endophyte, as a biological control strategy for anthracnose in guarana plants. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 64, p. e21200534, 2021.

CASTRO, J. C. et al. Bioactivity of essential oils in the control of *Alternaria alternata* in dragon fruit (*Hylocereus undatus* Haw.). **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 101-109, 2017.

CHAIDECH, P.; MATAN, N. Cardamom oil-infused paper box: *Enhancing rambutan* fruit post-harvest disease control with reusable packaging. **Food Science and Technology**, v. 189, p. 115539, 2023.

CLERCK, C. et al. Screening of antifungal and antibacterial activity of 90 commercial essential oils against 10 pathogens of agronomical importance. **Foods**, v. 9, n. 10, p. 1418, 2020.

CROTEAU, R. et al. Natural products (secondary metabolites). **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**, v. 24, p. 1250-1319, 2000.

DA COSTA, K. K. et al. Antagonismo de *Trichoderma* spp. sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose de *Euterpe precatoria*. **South**

American Journal of Basic Education, Technical and Technological, v. 6, n. 1, 2019.

DA CRUZ ALBINO, R. et al. Differentiation of black and white pitch (Burseraceae) oleoresins: a mass spectrometry-based chemoethnotaxonomic study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 259, p. 112968, 2020.

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

DA SILVA, L. L. et al. *Colletotrichum*: species complexes, lifestyle, and peculiarities of some sources of genetic variability. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, p. 1891-1904, 2020.

DA SILVA, E. R. et al. Essential oils of *Protium* spp. samples from Amazonian popular markets: chemical composition, physicochemical parameters and antimicrobial activity. **Journal of Essential oil Research**, v. 25, n. 3, p. 171-178, 2013.

DA SILVA, K. L. et al. Composição química e atividade antibacteriana do óleo essencial da resina de *Protium hebetatum* Daly (Burseraceae). **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 8, n. 2, p. 245-253, 2021.

DA SILVA, K. L. et al. Composição química e atividade antibacteriana do óleo essencial da resina de *Protium hebetatum* Daly (Burseraceae). **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 8, n. 2, p. 245-253, 2021.

DALY, D. C. D. B.; FINE, P. V. A.; MARTÍNEZ-HABIBE, M. C. Burseraceae: a model for studying the Amazon flora. **Rodriguésia**, v. 63, p. 021-030, 2012.

DALY, D.C. 2015. Burseraceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil2015.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB6588>>. Acesso em 02 jun 2024.

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

DE CARVALHO BRITO, R. et al. Use of essential oils and α -pinene as insecticides against *Sitophilus zeamais* and their effects on maize seed germination. **Agronomy**, v. 14, n. 10, p. 2282, 2024.

DE MENEZES FILHO, A. C. P. et al. Óleo essencial dos pecíolos de *Protium ovatum* Engl. (Burseraceae) apresenta atividade bioativa e antifúngica?. **Brazilian Journal of Science**, v. 1, n. 7, p. 26-36, 2022a.

DE MENEZES FILHO, A. C. P. Avaliação fitoquímica e atividades biológicas do extrato do exocarpo do fruto de *Protium spruceanum*. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 10, n. 1, p. 034-043, 2022b.

DE LIMA, E. M. et al. Essential oil from the resin of *Protium heptaphyllum*: chemical composition, cytotoxicity, antimicrobial activity, and antimutagenicity. **Pharmacognosy Magazine**, v. 12, n. Suppl 1, p. S42, 2016.

DE SILVA, D. D. et al. Life styles of *Colletotrichum* species and implications for plant biosecurity. **Fungal Biology Reviews**, v. 31, n. 3, p. 155-168, 2017.

DE MORAIS, L. A. S. Óleos essenciais no controle fitossanitário. In: **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente ISBN: 978-85-85771-47-8. 341p. 2009.

DOEHLEMANN, G. et al. Plant pathogenic fungi. **The Fungal Kingdom**, p. 701-726, 2017.

DOS SANTOS, D. K. N. et al. Incidence of diseases caused by fungi in guarana plants in rural properties of Urucará, Amazonas. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 4, p. 27281-27295, 2022.

DOMINGOS, M. M. et al. Essential oils against fruit spoilage fungi. In: **Plant Essential Oils: From Traditional to Modern-day Application**. Singapore: Springer Nature Singapore, 2023. 105-124 p.

FRANCIO, I. E. et al. Chemical composition of five essential oils and their antioxidant and in vitro and in vivo antifungal activities against *Alternaria alternata* in tomato crop. **Natural Product Research**, p. 1-9, 2023.

FAUSTINO, C. G. et al. Biocidal activity of a nanoemulsion containing essential oil from *Protium heptaphyllum* resin against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Molecules**, v. 26, n. 21, p. 6439, 2021.

FARIAS, M. N. et al. Análise antifúngica de compostos extraídos de *Syzygium malaccense* sobre *Colletotrichum* sp. patogênicos isolados de paullinia cupana. **Revista Contemporânea**, v. 4, n. 8, p. e5401-e5401, 2024.

GILARDI, G. et al. Occurrence of *Alternaria japonica* on seeds of wild and cultivated rocket. **Journal of Phytopathology**, v. 163, n. 5, p. 419-422, 2015.

GIRARD, E. A.; KOEHLER, H. S.; NETTO, S. P. Volume, biomassa e rendimento de óleos essenciais do craveiro (*Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum). **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 5, n. 2, p. 147-165, 2007.

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

GOTTLIEB, O. R.; BORIN, M. R. M. B. Químico-Biologia Quantitativa: um novo paradigma? **Química Nova**, v. 35, p. 2105-2114, 2012.

GUTIÉRREZ-DEL-RÍO, I.; FERNÁNDEZ, J.; LOMBÓ, F. Plant nutraceuticals as antimicrobial agents in food preservation: Terpenoids, polyphenols and thiols. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 52, n. 3, p. 309-315, 2018.

HAJHASHEMI, V.; GHANNADI, A.; SHARIF, B. Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. **Journal of ethnopharmacology**, v. 89, n. 1, p. 67-71, 2003.

HAMMER, K. A; CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 95, n. 4, p. 853-860, 2003.

HOYOS, J. M. Á. et al. Antifungal activity and ultrastructural alterations in *Pseudocercospora griseola* treated with essential oils. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 36, p. 270-284, 2012.

IACOMI-VASILESCU, B. et al. In vitro fungicide sensitivity of *Alternaria* species pathogenic to crucifers and identification of *Alternaria brassicicola* field isolates highly resistant to both dicarboximides and phenylpyrroles. **Crop Protection**, v. 23, n. 6, p. 481-488, 2004.

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

JEEWON, R. et al. Phylogenetic significance of morphological characters in the taxonomy of *Pestalotiopsis* species. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 27, n. 3, p. 372-383, 2003.

KAMSU, F. P. N. et al. Effectiveness of massep (*Ocimum gratissimum* L.) essential oil and its nanoemulsion toward *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora infestans* and *Alternaria solani*, pathogens associated with tomato rot diseases. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 47, p. 102591, 2023.

KHEDHRI, S. et al. Metabolite profiling of four Tunisian *Eucalyptus* essential oils and assessment of their insecticidal and antifungal activities. **Heliyon**, v. 9, n. 12, 2023.

LANGENHEIM, J. H. **Plant resins: chemistry, evolution, ecology, and ethnobotany**. Timber Press, Portland, Cambridge. 2003.

LEE, H. B.; PATRIARCA, A.; MAGAN, N. *Alternaria* in food: ecophysiology, mycotoxin production and toxicology. **Mycobiology**, v. 43, n. 2, p. 93-106, 2015.

LI, S. et al. Biological characteristics of a new pathogen in *Eucommia ulmoides* black spot. **Ciência Rural**, v. 54, p. e20220115, 2024.

LI, X. et al. *Pestalotiopsis kenyana* causes leaf spot disease on *Rhododendron agastum* in China. **Crop Protection**, v. 184, p. 106859, 2024.

LOU, J. et al. Metabolites from *Alternaria* fungi and their bioactivities. **Molecules**, v. 18, n. 5, p. 5891-5935, 2013.

LUBIAN, C. T. et al. Atividade antifúngica do extrato aquoso de *Arctium minus* (Hill) Bernh. (Asteraceae) sobre espécies orais de *Candida*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 12, p. 157-162, 2010.

MA, Q.; DAVIDSON, P. M.; ZHONG, Q. Antimicrobial properties of microemulsions formulated with essential oils, soybean oil, and Tween 80. **International Journal of Food Microbiology**, v. 226, p. 20-25, 2016.

MACHADO, L. B.; ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A. Seasonal variation in the composition of the essential oils from the leaves, thin branches and resin of *Protium spruceanum* (Benth.) Engl. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 18, n. 4, p. 338-341, 2003.

MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N. et al. *Pestalotiopsis*-morphology, phylogeny, biochemistry and diversity. **Fungal Diversity**, v. 50, p. 167-187, 2011.

MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N. et al. *Pestalotiopsis* revisited. **Studies in Mycology**, v. 79, n. 1, p. 121-186, 2014.

MAGRO, A., CAROLINO, M., BASTOS, M., MEXIA, A. Efficacy of plant extracts against stored products fungi. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 23, n. 3, p. 176-178, 2006.

MALECK, M. et al. Óleos essenciais—um breve relato. **Revista Eletrônica TECCEN**, v. 14, n. 2, p. 43-49, 2021.

MAMLE, A. M.; JOLANDA, R. Diseases of plantation forestry trees in southern Ghana. **International Journal of Phytopathology**, v. 4, n. 1, p. 05-13, 2015.

MAREI, G. I. K.; RASOUL, M. A. A.; ABDELGALEIL, S. A. M. Comparative antifungal activities and biochemical effects of monoterpenes on plant pathogenic fungi. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 103, n. 1, p. 56-61, 2012.

MA, W. et al. *Portulaca oleracea* (L.) essential oil inhibits *Pestalotiopsis neglecta* and controls black spot needle blight in *Pinus sylvestris* var. *mongolica* (Litv.). **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 134, p. 102428, 2024. xx

MAMGAIN, A.; ROYCHOWDHURY, R.; TAH, J. *Alternaria* pathogenicity and its strategic controls. **Research Journal of Biology**, v. 1, p. 1-9, 2013.

MARQUES, D. D. et al. Chemical composition of the essential oils from two subspecies of *Protium heptaphyllum*. **Acta Amazonica**, v. 40, p. 227-230, 2010.

MARQUES, D. D. et al. Composição química da cera cuticular das folhas do *Protium hebetatum* daly (Burseraceae). **Holos**, v. 37, n. 5, p. 1-8, 2021.

MEZZOMO, R. et al. Biological control of ceratocystis fimbriata by *Bacillus subtilis* on *Acacia mearnsii* Seedlings. **Floresta e Ambiente**, v. 26, p. e20160195, 2019.

MIGUEL, M. G. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. **Molecules**, v. 15, n. 12, p. 9252-9287, 2010.

MOBIN, M. et al. Gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry analysis and vasorelaxant effect of essential oil from *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. **BioMed Research International**, v. 2017, n. 1, p. 1928171, 2017.

MOBIN, M. et al. MDGC-MS analysis of essential oils from *Protium heptaphyllum* (Aubl.) and their antifungal activity against *Candida* specie. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 18, p. 531-538, 2016.

MONDEN, Y. et al. First case of fungal keratitis caused by *Pestalotiopsis clavispora*. **Clinical Ophthalmology**, p. 2261-2264, 2013.

MONTEIRO, M. C. et al. A new approach to drug discovery: high-throughput screening of microbial natural extracts against *Aspergillus fumigatus* using resazurin. **Slas Discovery**, v. 17, n. 4, p. 542-549, 2012.

MOURA, G. S. et al. Controle da antracnose em maracujá-amarelo por derivados de capim-limão (*Cymbopogon citratus*). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, p. 371-379, 2012.

MURTHY, K. S. R. et al. Bioactive principles and biological properties of essential oils of Burseraceae: A review. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 5, n. 2, p. 247-258, 2016.

NASCIMENTO, F. R. et al. Efeito do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC) e do emulsificante Tween® 80 sobre o crescimento micelial de *Alternaria alternata* (Fungi: Hyphomycetes). **Acta Amazonica**, v. 38, p. 503-508, 2008.

NASCIMENTO, P. F. C et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 108-113, 2007.

NAZZARO, F. et al. Essential oils and antifungal activity. **Pharmaceuticals**, v. 10, n. 4, p. 86, 2017.

NCCLS. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica de Fungos Filamentosos; Norma Aprovada. Documento M38-A do NCCLS [ISBN 1-56238-470-8]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 Estados Unidos, 2002.

NEGREIROS, R. J. Z. et al. Controle da antracnose na pós-colheita de bananas-'prata' com produtos alternativos aos agrotóxicos convencionais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 51-58, 2013.

NEVES, G. P. et al. Development of a gas chromatography method for quantification of triterpenes in the commercial oleoresins from *Protium* species. **Rodriguésia**, v. 71, p. e00702019, 2020.

NOGUEIRA, S. R. et al. Antracnose em mudas de Euterpe precatoria no Acre. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 46.; REUNIÃO BRASILEIRA DE CONTROLE BIOLÓGICO, 11., 2013, Ouro Preto. Expofito. Ouro Preto: UFV, 2013.

NOGUEIRA, S. S. et al. Controle de antracnose em açai-solteiro (*Euterpe precatoria*) no Acre. Rio Branco: Embrapa Acre. Comunicado técnico. n. 197, p.6. ISSN: 0100-8668. 2017.

OLIVEIRA, F. A. et al. Gastroprotective and anti-inflammatory effects of resin from *Protium heptaphyllum* in mice and rats. **Pharmacological Research**, v. 49, n. 2, p. 105-111, 2004.

OLIVEIRA, F. A. et al. Protective effect of α - and β -amyrin, a triterpene mixture from *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. trunk wood resin, against acetaminophen-induced liver injury in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 98, n. 1-2, p. 103-108, 2005.

OLIVEIRA, L. B. S. et al. Atividade antifúngica e possível mecanismo de ação do óleo essencial de folhas de *Ocimum gratissimum* (Linn.) sobre espécies de Candida. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 18, n. 2, p. 511-523, 2016.

PACHECO BORGES, L.; ALVES AMORIM, V. Metabólitos secundários de plantas. **Revista Agrotecnologia**, v. 11, n. 1, 2020.

PALAZZOLO, E. et al. Current and potential use of citrus essential oils. **Current Organic Chemistry**, v. 17, n. 24, p. 3042-3049, 2013.

PATIL, B. et al. New report of *Pestalotiopsis microspora* causing leaf blight disease in Eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis* L.) from India. **Crop Protection**, v. 182, p. 106748, 2024.

PATRIARCA, A. *Alternaria* in food products. **Current Opinion in Food Science**, v. 11, p. 1-9, 2016.

PATRIARCA, A. R.; VAAMONDE, G.; FERNÁNDEZ PINTO, V. E.; *Alternaria*. In: BATT, C. A.; TORTORELLO, M. L.(ed.). **Encyclopedia of Food Microbiology**. Elsevier, 2014. p. 54-60. ISBN: 978-0-12-384733-1.

PENG, Y. et al. Research progress on phytopathogenic fungi and their role as biocontrol agents. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 670135, 2021.

PERFECT, S. E. et al. *Colletotrichum*: a model genus for studies on pathology and fungal-plant interactions. **Fungal Genetics and Biology**, v. 27, n. 2-3, p. 186-198, 1999.

PERRY, N.S. L. et al. Salvia for dementia therapy: review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 75, n. 3, p. 651-659, 2003.

PINTO, D. S. et al. Volatiles of foliar rachis, branches and resin elicited by insects from *Protium hebetatum* grows wild in Amazon. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 13, n. 6, p. 699-703, 2010.

PINTO, F. E. et al. Stability and disinfecting proprieties of the toothbrush rinse of the essential oil of *Protium heptaphyllum*. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 9, n. 6, p. 173-181, 2015.

POLTRONIERI, T. P. D. S. et al. *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de juçara (*Euterpe edulis*) na Mata Atlântica, em Paraty-RJ e Ubatuba-SP. **Summa Phytopathologica**, v. 40, p. 88-89, 2014.

PONTES, W. J. et al. Composition and acaricidal activity of the resin's essential oil of *Protium bahianum* Daly against two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*). **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, n. 4, p. 379-383, 2007.

POWO (2023). Plants of the World Online. *Protium altsonii* Sandwith. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet. Disponível em: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:210488-2>. Acesso em: 13 abr. 2023.

POWO (2024). Plants of the World Online. *Protium* Burm.f. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet. <https://powo.science.kew.org/>. Acesso em: 10 out. 2024.

PRÄBST, K. et al. Basic colorimetric proliferation assays: mtt, wst, and resazurin. **Methods In Molecular Biology**, p. 1-17, 2017.

RAMOS, K.; ANDREANI JUNIOR, R.; KOZUSNY-ANDREANI, D. I. Óleos essenciais e vegetais no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 18, p. 605-612, 2016.

RAO, V. S. et al. Composition and antinociceptive activity of the essential oil from *Protium heptaphyllum* resin. **Natural Product Communications**, v. 2, n. 12, p. 1934578X0700201201, 2007.

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial crops and products**, v. 62, p. 250-264, 2014.

RAVEAU, R.; FONTAINE, J.; LOUNÈS-HADJ S. A. Essential oils as potential alternative biocontrol products against plant pathogens and weeds: A review. **Foods**, v. 9, n. 3, p. 365, 2020.

REFLORA. Burseraceae in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB16658>. Acesso em: 13 abr. 2023

REIS SOUZA, L. et al. Histochemical characterization of secretory ducts and essential oil analysis of *Protium* species (Burseraceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 28, n. 2, p. 166-171, 2016.

- RIBEIRO, J. E. L. S. et al. **Flora da Reserva Ducke - Guia de Identificação das Plantas vasculares de uma Floresta de Terra-firme na Amazônia Central**. INPA-DFID, Manaus, 1999. 800 p.
- RICARTE, L. P. et al. Chemical composition and biological activities of the essential oils from *Vitex-agnus castus*, *Ocimum campechianum* and *Ocimum carnosum*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, p. e20180569, 2020.
- ROCHA, T. S. et al. Variabilidade química de óleos essenciais de *Protium heptaphyllum*. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 10, p. e288111032835-e288111032835, 2022.
- RUBIOLO, P. et al. Essential oils and volatiles: sample preparation and analysis. A review. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, n. 5, p. 282-290, 2010.
- RÜDIGER, A. L.; SIANI, A. C.; JUNIOR, V. F. V. The chemistry and pharmacology of the South America genus *Protium* Burm. f.(Burseraceae). **Pharmacognosy Reviews**, v. 1, n. 1, p. 93-104, 2007.
- RÜDIGER, A. L.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Chemodiversity of ursane-and oleanane-type triterpenes in Amazonian Burseraceae oleoresins. **Chemistry & Biodiversity**, v. 10, n. 6, p. 1142-1153, 2013.
- SALES, M. D. C. et al. Antifungal activity of plant extracts with potential to control plant pathogens in pineapple. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 1, p. 26-31, 2016.
- SANTANA, R. C. et al. In vitro leishmanicidal activity of monoterpenes present in two species of *Protium* (Burseraceae) on *Leishmania amazonensis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 259, p. 112981, 2020.
- SANTOS, A. F.; LUZ, E. D. M. N. A gomose da acácia-negra no Brasil: a review. **Summa Phytopathologica**, v. 33, p. 113-118, 2007.
- SATYAL, P. et al. Chemical composition, enantiomeric distribution, and antifungal activity of the oleoresin essential oil of *Protium amazonicum* from Ecuador. **Medicines**, v. 4, n. 4, p. 70, 2017.
- SIANI, A. C. et al. Essential oils of the oleoresins from *Protium Heptaphyllum* growing in the Brazilian Southeastern and their cytotoxicity to neoplastic cells lines. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 14, n. 3, p. 373-378, 2011.
- SIANI, A. C. et al. Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 66, n. 1, p. 57-69, 1999.
- SILVA, A. C. et al. Efeito in vitro de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz: isolado do maracujazeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 1853-1860, 2009.
- SILVA, E. R. et al. Report on the Malungo expedition to the Erepecuru river, Oriximiná, Brazil. Part I: is there a difference between black and white breu?. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 5, p. 647-656, 2016.

SILVA, J.; ABEBE, W.; SOUSA, S. M.; DUARTE, V. G.; MACHADO, M. I. L.; MATOS, F. J. Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of *Eucalyptus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 89, n. 2-3, p. 277-283, 2003.

SINGH, K. et al. Antifungal action of 1, 8 cineole, a major component of *Eucalyptus globulus* essential oil against *Alternaria tenuissima* via overproduction of reactive oxygen species and downregulation of virulence and ergosterol biosynthetic genes. **Industrial Crops and Products**, v. 214, p. 118580, 2024.

SOUSA, B. et al. Controle alternativo da antracnose do maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims.) com óleo essencial e hidrolato de breu branco (*Protium heptaphyllum* (Aubl.) March.). **Cadernos de Agroecologia**, v. 13, n. 1, 2018.

SOUZA JÚNIOR, I. T.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Biotemas**, v. 22, n. 3, p. 77-83, 2009.

SOUZA RAMOS, Mônica Freiman et al. Essential oils from oleoresins of *Protium* spp. of the Amazon region. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 15, n. 6, p. 383-387, 2000.

SOUZA, D. P. et al. Fungicidal properties and insights on the mechanisms of the action of volatile oils from Amazonian Aniba trees. **Industrial Crops and Products**, v. 143, p. 111914, 2020.

SOUZA, K. S. et al. Atividade biológica de extratos, hidrolatos e óleos voláteis de pau-rosa (*Aniba duckei* Kostermans) e quantificação do linalol no hidrolato de folhas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 9, n. 2, p. 1-7, 2007.

SUÁREZ, A. I. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from oleoresin of *Protium neglectum* S. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 10, n. 1, p. 70-75, 2007.

THAMBI, N. P. et al. *Alternaria* sp., a new pathogen causing leaf spot in broccoli, and its management with *Monarda citriodora* essential oil (MEO) and isoeugenol combination. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 131, p. 102293, 2024.

TOMAZONI, E. Z. et al. In vitro and in vivo activity of essential oils extracted from *Eucalyptus staigeriana*, *Eucalyptus globulus* and *Cinnamomum camphora* against *Alternaria solani* Sorauer causing early blight in tomato. **Scientia Horticulturae**, v. 223, p. 72-77, 2017

TOSTES, L. D. C. L. **Ecofisiologia, morfo-anatomia e atividade antifúngica de *Protium altsonii* Sandwith (Burseraceae): Um estudo da semente até a fase adulta**. 2015. Tese (Doutorado em Ciências de Florestas Tropicais) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2015.

TOSTES, L. D. C. L. Morpho-anatomical study of *Protium altsonii* Sandwith plants. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, p. e31111931825-e31111931825, 2022.

TRALAMAZZA, S. M. et al. Toxigenic *Alternaria* species: impact in cereals worldwide. **Current Opinion in Food Science**, v. 23, p. 57-63, 2018.

UNSICKER, S. B.; KUNERT, G.; GERSHENZON, J. Protective perfumes: the role of vegetative volatiles in plant defense against herbivores. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, n. 4, p. 479-485, 2009.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P.D. A generalization of the retention index system including liner temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v.11, p.463-471, 1963

VÁSCONEZ, R. D. A. et al. Evaluation of bacillus megaterium strain AB4 as a potential biocontrol agent of *Alternaria japonica*, a mycopathogen of *Brassica oleracea* var. *italica*. **Biotechnology Reports**, v. 26, p. e00454, 2020.

VIEIRA, D. G. et al. Crescimento *in vitro* de fungos (*Colletotrichum gloeosporioides* e *Cladosporium cladosporioides*) isolados de frutos do mamoeiro, sob atmosfera controlada e refrigeração. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, p. 387-390, 2006.

WINK, M. (Ed.). **Functions of plant secondary metabolites and their exploitation in biotechnology**. Taylor & Francis, 1999.

WOUDENBERG, J. H. C. et al. *Alternaria* redefined. **Studies in mycology**, v. 75, n. 1, p. 171-212, 2013.

WU, C; WANG, Y.; YANG, Y. *Pestalotiopsis* diversity: Species, dispositions, secondary metabolites, and bioactivities. **Molecules**, v. 27, n. 22, p. 8088, 2022.

XU, J.; YANG, X.; LIN, Q. Chemistry and biology of *Pestalotiopsis*-derived natural products. **Fungal Diversity**, v. 66, n. 1, p. 37-68, 2014.

YANG, X.; ZHANG, J.; LUO, D. The taxonomy, biology and chemistry of the fungal *Pestalotiopsis* genus. **Natural product reports**, v. 29, n. 6, p. 622-641, 2012.

ZOGHBI, M. G. B. et al. The essential oils of five species of *Protium* growing in the North of Brazil. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 8, n. 3, p. 312-317, 2005.