

Efeito dos óleos essenciais de diferentes espécies de *Eucalyptus* sobre a microflora do milho em pós-colheita

RESUMO

Os óleos essenciais de plantas representam uma fonte de potenciais princípios ativos que podem ser utilizados como defensivos agrícolas para combate de insetos, bactérias e fungos. Vários estudos científicos relatam o potencial fungitóxico de óleos essenciais inclusive de óleos provenientes de algumas espécies de *Eucalyptus*. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial dos óleos provenientes de diferentes espécies de *Eucalyptus*, sobre a microflora natural do grão de milho em pós-colheita. Utilizou-se para isto três diferentes avaliações: a) a avaliação inicial que consistiu em avaliar o potencial antifúngico dos óleos de dez espécies de *Eucalyptus* sobre grãos de milho plaqueados sobre papel de filtro umedecido e considerando a microflora natural dos grãos; b) a avaliação da simulação de armazenamento dos grãos com apenas os óleos que se mostraram com maior potencial antifúngico na avaliação inicial e com misturas deles. Essa avaliação simula as condições dos grãos armazenados considerando a microflora natural e c) a avaliação em meio de cultura utilizando o meio Maize Meal Extract Agar e os fungos produtores de aflatoxinas, *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*. Em todas as avaliações foram avaliados os modos de exposição aos voláteis e por contato com os óleos. As quatro espécies de *Eucalyptus*, que apresentaram melhor eficiência antifúngica, na avaliação inicial, sobre a microflora natural dos grãos de milho da amostra utilizada, foram analisados quanto a sua composição por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas e utilizados nas demais avaliações. Na avaliação de armazenamento para o modo de ação por contato, uma mistura contendo óleos essenciais de duas espécies de *Eucalyptus*, obteve o melhor resultado e no modo de ação por exposição aos voláteis, o melhor resultado foi obtido por um óleo individual de outra espécie de *Eucalyptus*. Comparando os dois modos de ação, o por contato teve o melhor potencial antifúngico. Na avaliação em meio de cultura no modo de ação por contato, uma mistura contendo uma espécie de *Eucalyptus* + um híbrido de *Eucalyptus* obteve melhor potencial antifúngico para ambos os fungos e para o modo de ação por exposição aos voláteis, o melhor potencial antifúngico foi com o óleo individual de outra espécie de *Eucalyptus*. Ambos os modos de ação foram estatisticamente iguais nesta avaliação para maioria dos tratamentos. Observou-se que os tratamentos apresentaram uma ação diferenciada sobre o crescimento e a produção de aflatoxinas que foi dependente do óleo, do modo de ação e da espécie aflatoxigênica avaliada.

Palavra-chave: Óleo essencial, Eucalipto, Fungos, Controle, Grãos, Armazenamento, Antifúngico.

1 INTRODUÇÃO

O combate a pragas e doenças que atingem a pré e pós-colheita das culturas de interesse ao homem vem sendo realizado quase exclusivamente pelo uso de produtos químicos sintéticos, via moléculas sintetizadas em laboratório.

Entretanto, estes produtos têm apresentado algumas desvantagens como toxidez a mamíferos e aquisição de resistência da população de organismos envolvidos.

Dessa forma, vêm se buscando alternativas aos pesticidas sintéticos, entre eles os fungicidas, que são usados para o controle de doenças de plantas. Segundo Penteado (2001) são considerados defensivos alternativos todos os produtos químicos, biológicos, orgânicos ou naturais que possuam as seguintes características: praticamente não tóxicos (grupo toxicológico IV), baixa ou nenhuma agressividade ao homem e à natureza, eficientes no controle de insetos e microrganismos nocivos, biodegradáveis e não favorecedores de resistência de pragas e microrganismos.

Plantas superiores muitas vezes são vistas como fontes úteis de substâncias fungitóxicas, as quais, quando comparadas com fungicidas sintéticos, mostram-se praticamente inofensivas para o ambiente, podendo até superá-los em sua ação fungitóxica (FAWCETT; SPENCER, 1970). Os óleos essenciais além de apresentarem propriedades antibacterianas, possuem compostos com potencial antifúngico, antitoxigênico e inseticida. Os óleos essenciais têm sido utilizados em alimentos, fármacos, perfumes e repelente de insetos (BURT, 2004).

No que diz respeito aos estudos biológicos, a pesquisa de novos compostos biologicamente ativos tem sido uma das maiores tarefas dos fitoquímicos em todo mundo, pois o processo da escolha da planta até a obtenção de uma substância biologicamente ativa é longo e multidisciplinar. Assim, existe um longo caminho desde a descoberta de compostos naturais com diferentes ações até a aplicação prática dos compostos ou frações desses (PENTEADO, 2001).

A International Standard Organization (ISO) define óleos essenciais como os produtos obtidos de partes de plantas por meio de destilação por arraste com vapor d'água, bem como os produtos obtidos por prensão dos pericarpos de frutos cítricos (SIMÕES et al, 2000). Já Woolf (1999) define óleos essenciais como qualquer classe de óleos voláteis que compõe uma mistura de hidrocarbonetos complexos (normalmente terpenos) e outras

substâncias químicas extraídas de uma planta, normalmente por um método de destilação. Os óleos essenciais dão para a planta seu aroma característico e evaporam rapidamente sobre a pele ou outra superfície.

A cultura do *Eucalyptus* spp. no Brasil se destaca por ser intensivamente utilizada a ponto de representar a espécie florestal com maior área plantada. No Brasil o *Eucalyptus* spp. é utilizado pela indústria de papel e celulose, indústria siderúrgica (carvão vegetal), para extração de óleo essencial das folhas e pela indústria moveleira (GARLIPP, 2009).

Os óleos essenciais de *Eucalyptus* spp. possuem diversas funções, como repelente de insetos que se alimentam de suas folhas, inibidores da germinação e de crescimento de outras plantas, controladores da atividade microbiológica de alguns fungos e bactérias, entre outros (BOLAND et al., 1991).

Entretanto, os relatos de avaliação da utilização do óleo essencial de espécies de *Eucalyptus* para inibir fungos que ocorrem em grãos armazenados apresentam algumas características: praticamente todos os trabalhos relatados foram efetuados sobre espécies fúngicas isoladas, ou seja, não atentaram para a microflora natural do grão em pós-colheita, não empregaram como substrato para desenvolvimento fúngico meios de cultura e não o grão de interesse e também não contemplaram o efeito sinérgico dos óleos.

Este trabalho avaliou a eficiência isolada e sinérgica de óleos essenciais, provenientes de diferentes espécies de *Eucalyptus* cultivadas no Brasil, utilizando o grão de milho como substrato teste para desenvolvimento fúngico e, também, considerando os fungos naturalmente existentes na microflora de uma amostra de milho. Assim, para essa finalidade foram realizadas três avaliações e todas foram avaliadas nos modos de exposição aos voláteis e por contato com os óleos. A avaliação inicial que consistiu em avaliar o potencial antifúngico dos óleos de dez espécies de *Eucalyptus* sobre grãos de milho plaqueados sobre papel de filtro umedecido; a simulação de armazenamento dos grãos com apenas os óleos que se mostraram com maior potencial antifúngico na avaliação inicial e com misturas deles, simulando as condições dos grãos armazenados, e em meio de cultura utilizando o meio Maize Meal Extract Agar com os fungos produtores de aflatoxinas, *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*.

Este trabalho foi a primeira etapa de uma linha de pesquisa com óleos essenciais, no qual se propõem avaliar o potencial dos óleos para a inibição de crescimento fúngico e

produção de aflatoxinas. Outros estudos nas áreas de toxicologia, poder residual dos compostos influenciando no odor e paladar do milho, fracionamento do óleo, avaliações dessas frações e testes de campo serão assuntos de futuros projetos nessa linha de pesquisa.

2 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na avaliação inicial foram selecionados, quanto ao potencial antifúngico, os melhores óleos em cada modo de ação. Constatou-se também que os óleos selecionados apresentaram um efeito antifúngico residual, pois mesmo aos 27 dias o crescimento fúngico não foi detectado em 100% dos grãos e apresentam na sua composição a prevalência dos compostos α -pineno, citrolenal, p-cimeno, limoneno e geranial, respectivamente. Todos estes compostos apresentam na literatura científica relatos dos seus efeitos antifúngicos. Entretanto, não é possível afirmar que o potencial antifúngico observado foi devido ao efeito isolado dos compostos majoritários presentes em cada óleo.

Na avaliação de simulação de armazenamento para o modo de ação por contato, uma mistura contendo óleos essenciais de duas espécies de *Eucalyptus spp.* apresentou o melhor resultado, inibindo totalmente a microflora natural do milho a partir da dose de 60 μ L apresentando inclusive um efeito fungicida. O produto comercial, a base de propionato de amônia, utilizado como controle positivo nesse modo de ação não exerceu efeito inibitório frente à microflora no milho, pelo contrário, estimulou o crescimento fúngico, apresentando uma contagem de bolores maior do que a testemunha. Não houve variação perceptível da microflora entre os tratamentos com os óleos, em ambos os modos de ação.

No modo de ação por exposição aos voláteis, os tratamentos se mostraram menos eficientes, pois não foi observado um controle total da população fúngica, apenas inibição parcial a partir da dose de 240 μ L, somente, no tratamento com o óleo individual de *Eucalyptus*.

Na avaliação de simulação de armazenamento, para óleos de duas espécies, o modo de ação que teve o melhor potencial antifúngico foi o por contato.

Na avaliação da simulação de armazenamento, não houve contaminação por aflatoxinas (B1, B2, G1 e G2), zearalenona, ocratoxina A nos tratamentos testemunha, mostrando que não ocorreram condições para crescimento e/ou produção destas micotoxinas. A contaminação por fumonisina B1 foi encontrada no tratamento testemunha,

mas em níveis semelhantes ao milho inicial, mostrando que também para esta micotoxina não ocorreram condições favoráveis para crescimento e/ou produção desta micotoxina.

Na avaliação do efeito dos óleos essenciais sobre espécies aflatoxigênicas, *A. flavus* e *A. parasiticus* em meio de cultura e para ambos os modos de ação, todos os tratamentos se mostraram com atividade antifúngica seja ela total ou parcial. No modo de ação por contato, uma mistura contendo uma espécie de *Eucalyptus* + um híbrido de *Eucalyptus* foi o que obteve o melhor resultado para ambos os fungos, onde a inibição foi total na dose de 20 µL/20 mL de meio de cultura. Já para o modo de ação por exposição aos voláteis, o melhor resultado no controle de ambos os fungos foi alcançado pelo óleo individual de outra espécie de *Eucalyptus* onde a inibição total foi obtida na dose 80 e 20 µL/20 mL, para *A. flavus* e *A. parasiticus*, respectivamente. Nessa avaliação os resultados dos dois modos de ação foram estatisticamente iguais, exceto para o óleo de duas espécies, onde o modo de ação por contato foi melhor.

Observou-se que os tratamentos apresentaram uma ação diferenciada sobre o crescimento e a produção de aflatoxinas, que foi dependente do óleo, do modo de ação e da espécie aflatoxigênica avaliada. Pois, apesar da inibição parcial do crescimento ainda havia a produção de aflatoxinas em alguns tratamentos e nos demais tratamentos apesar da inibição parcial do crescimento houve a inibição total da produção de aflatoxinas.

A metodologia de avaliação utilizada influenciou no potencial antifúngico observado para os óleos e misturas. Pois, na avaliação da simulação de armazenamento observou-se que nem todos os tratamentos apresentaram uma inibição parcial ou total da microflora, no entanto na avaliação em meio de cultura isso foi observado.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE MILHO - ABMILHO. Disponível em: www.abmilho.com.br. Acesso em: 18 ago. 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTOS DE FLORESTAS PLANTADAS-ABRAF. **Anuário estatístico 2009, com base 2008**. Brasília, 2009. 120 p.

ABRAMSON,D.;HULASARE,R.;WHITE,N.D.G.;JAYAS,D.S.;MARQUARDT,R.R. Mycotoxins formation in hulles in barley during granary storage at 15 and 19% moisture content. **Journal of Storage Products Research**, Elmsford, v. 35, p. 297-305, 1999.

ADAMS, C.A. **Nutricines food components in health and nutrition**. Nottingham: Nottingham University Press, 1999.

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography mass spectrometry**. Illinois: Allured Publishing Corporation, 2001. 426 p.

ADDOR, R.W. **Agrochemical from natural products**. New York: Marcel Dekker, 1994.

ADEGOKE,G.O.; IWASHASHI,H.; OBUHI,K.; IWASHASHI,Y. Inhibition of food spoilage yeasts and aflatoxigenic moulds by monoterpenes of the spice, *Aframomum danielli*. **Flavor and Fragrance Journal**, Hoboken, v. 15, p. 147-150, June 2000.

ALFAZAIRY, A.A.M. Antimicrobial activity of certain essential oil against hidgut symbionts of the drywood termit *Kaloterms flavicollis* Fabr. and prevalent fungi on termite-infested wood. **Journal of Applied Entomology**, Chichester, v. 128, p. 554-560, Sept. 2004.

ALITONOU,G.;AVLESSI,F.;WOTTO,V.D.;AHOUSSE,E.;DANGOU,J.;
SOHOUNHLOUÉ, D.C.K. Composition chimique, propriétés antimicrobiennes et activités
sur les tiques de l'huile essentielle d'*Eucalyptus tereticornis* Sm. **Comptes Rendus
Chimie**, Cotonou, v. 7, p. 1051-1055, Oct. 2004.

ALVAREZ-CASTELLANOS,P.P.;BISHOP,C.D.;PASCUAL
VILLALOBOS,M.J.Antifungal activity of the essential oil of flower heads of garland
chrysanthemum (*Chrysanthemum coronarium*) against agricultural pathogens.
Phytochemistry, Oxford, v. 57, p. 99-102, May 2001.

ALVES,P.M.;LEITE,P.H.A.S.;PEREIRA, J.V.;PEREIRA,L. F.;HIGINO, J.S.; LIMA,E.O.
Atividade antifúngica do extrato de *Psidium guajava* Linn. (goiabeira) sobre leveduras do
gênero *Candida* da cavidade oral: uma avaliação in vitro. **Revista Brasileira de
Farmacognosia**, João Pessoa, v. 16, n. 2, p. 192-196, jun. 2006.

AMARAL,M.F.Z.J.; BARA,M.T.F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de
plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia,
v.2, p. 5-8, 2008.

AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL ENGINEERING. Moisture relationships
of plant-based agricultural products: ASE D245.5. In:____.**American society of
agricultural engineering standards 1999**: standards engineering practices data. 46 th ed.
St. Joseph, 1999. 512 p.

ATHIÉ,I.; CASTRO,M.F.P.M.; GOMES,R.A.R.; VALENTINE,S.R.T. **Conservação de
grãos**. Campinas: Fundação Cargill, 1998. 236 p.

BACON,C.W.; NELSON,P.E. Fumonisin production in corn by toxigenic strains of
Fusarium moniliforme and *Fusarium proliferatum*. **Journal of Food Protection**, Des
Moine, v. 57, n. 6, p. 514-521, June 1994.

BAIRD-PARKER,A.C. Ácidos orgânicos. In: INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Ecologia microbiana de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1980. v. 2, p.132-42.

BARUAH,P.; SHARMA,R.K.; SINGH,R.S.; GHOSH,A. C. Fungicidal activity of some naturally occurring essential oils against *Fusarium moniliforme*. **Journal of Essential Oil Research**, Winston-Salem, v. 8, p. 411-412, July 1996.

BAUER,A.W.; KIRBY,W.M.M.; SHERRIS,J.C.; TURCK,M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, Chicago, v. 45, p. 493-496, Jun. 1966.

BENJILALI,B;TANTAOUI-ELARAKI,A.;AYADI,A.;IHLAL,M. Method to study antimicrobial effects of essential oils: application to the antifungal activity of six Moroccan essences. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 47, p. 748-752, 1984.

BILLERBECK,V.G.; ROQUES,C.G.;BESSIERE, J. M.; FONVIEILLE, J.L.;DARGENT,R. Effects of *Cymbopogon nardus* (L.) W. Watson essential oil on the growth and morphogenesis of *Aspergillus niger*. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 47, p. 9-17, Mar. 2001.

BIZZO,H.R. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 3, p. 588-594, abr. 2009.

BLUMA,R.V.; ETCHEVERRY,M.G. Application of essential oils in maize grains: Impact on *Aspergillus section Flavi* growth parameters and aflatoxin accumulation. **Food Microbiology**, London, v. 25, p. 324-334, Feb. 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria n 183, de 21 de março de 1996. **Diário Oficial da União**, Brasília, 25 de março de 1996. Art. 1. Adotar Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Micotoxinas Admissíveis em Leite, Amendoim e Milho, Aprovado pela Resolução do Grupo Mercado Comum do Sul, n 56/94, de 01 de janeiro de 1995.

_____. **Compêndio de defensivos agrícolas**: guia prático de produtos fitossanitário para uso agrícola. 7.ed. São Paulo: Andrei, 2005. 1141 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 274, da ANVISA, de 15 de outubro de 2002. **Diário Oficial da União**, Brasília, 16 out. 2002.

BRITO,C.B.M. **Efeito de diferentes níveis de umidade com e sem utilização de antifúngico em dietas para cães**. 2009. 51 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinária) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

BOLAND,D.J.;BROPHY,J.J.;HOUSE,A.P.N. ***Eucalyptus* leaf oils-use, chemistry, distillation and marketing**. Melbourne: INKATA; ACIAR; CSIRO, 1991. 247 p.

BULLERMAN, L.B. Inhibition of aflatoxin production by cinnamon. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 39, p. 1163-1165, Aug. 1974.

BURT, S. Essential oils: their antimicrobial properties and potencial application in foods – a review. **International Journal Food Microbiology**, Amsterdam, v. 94, p. 223-253, Aug. 2004.

CACCIONI,D.R.L.;GUIZZARDI,M.;BIONDI,D.M.;RENDA,A.;RUBERTO, G. Relationship between volatile components of *citrus* fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 43, p. 73-79, Aug. 1998.

CARDOSO,M.G.;GAVILANES,M.L.M.A.;SHAN,A.Y.K.V.;MARQUES,M.C.S.;
SANTOS, B.R.; BERTOLUCCI, S.K.V.; OLIVEIRA, A.C.B.;PINTO,A.P.S. **Extração de óleos essenciais**. Lavras: UFLA, 2000. Disponível em: http://www.editora.ufla.br/BolExtensao/pdfBE/bol_62.pdf. Acesso em: 10 jun. 2009.

CIMANGA,K.;KAMBU,K.;TONA,L.;APERS,S.;BRUYNE,T. D.;HERMANS, N.;
TOTTÉ, J.;PIETERS,L.;VLIETINCK,A.J. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 79, p. 213-220, Feb. 2002.

CHAGAS,A.P.S.;PASSOS,W.M.;PRATES, H. T.; LEITE, R. C.; FURLONG, J.;
FORTES, I. C.P. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 39, n. 5, p. 247-253, maio 2002.

CHANDRASEKARAN, M; VENKATESALU, V. Antibacterial and antifungal activity of *Syzygium jambolanum* seeds. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v .91, n 1, p. 105-108, Mar. 2004.

CHRISTENSEN,C.M. **Storage of cereal grains and their products**. 2nd ed. St. Paul: American Association of Cereal Chemistry, 1974. 549 p.

CHAO,S.C.;YOUNG,D.G. Screening for inhibitory activity of essential oils for selected bacteria, fungi and viruses. **Journal Essentials Oil Research**, Winston-Salem, v. 12, p. 630-649, Sept. 2000.

CHOCT, M. **Effects of organic acids, prebiotics and enzymes on control of necrotic enteritis and performance of broiler chickens**, University of New England, 2001. Disponível em: <http://www.aanro.net/VRESEARCH.html?s=1001,projectID=22950>. Acesso em: 24 ago. 2009.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE – CLSI. **Método de referência para testes de diluição em caldo para a determinação da sensibilidade a terapia antifúngica dos fungos filamentosos**: norma aprovada M38-A, v. 22, n. 16, Wayne, 1995. 50 p. Disponível em: http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/biblioteca/clsi_OPAS1M27-A2.pdf. Acesso em: 14 nov. 2009.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Avaliação da safra agrícola 2008/2009** – Décimo Levantamento – Julho/2009. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/>. Acesso em: 9 out. 2009.

CORNELL UNIVERSITY. **Medicinal plants for livestock**. Disponível em: <http://www.ansci.cornell.edu/plants/medicinal/introduction.html>. Acesso em: 18 mar. 2010.

COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY. **Mycotoxins**: risks in plant, animal and human systems. Ames: Ed. Task Force Report, n. 139, 2003. 139 p.

DAFERERA,D.J.; TARANTILIS, P.A.; POLISSIOU, M.G. Characterization of essential oils from *Lamiaceae* species by fourier transform raman spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 50, p. 5503-5507, Aug. 2002.

DE BEER,E.J.; SHERWOOD,M.B. The paper-disk agar plate method for the assay of antibiotic substances. **Journal of Bacteriology**, Washington, v.30, p. 459-468, Mar. 1945.

DEMARE,S.R.;NAGARAJAND,M.;RAGHUKUMAR,C. Spore germination of fungi belonging to *Aspergillus* species under deep-sea conditions. **Deep-Sea Research**, Greifswald, v. 55, p. 670–678, May 2008.

DORAN,J.C.;BROPHY,J.J. Tropical red gums: a source of 1, 8-cineole-rich *Eucalyptus* oil. **New Forest**, Dordrecht, n. 4, p. 157-178, Sept. 1990.

ELOFF,J.N. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. **Plant Medical**, New York, v. 64, p. 711-713, Dec. 1998.

EMBRAPA FLORESTAS. **Sistemas de produções**. Disponível em: <http://www.cnpf.embrapa.br/>. Acesso em: 3 out. 2009.

ENGELMANN,A.L.; SKONIESKI, F. R.; GABBI, A.M.; PICCININ, I.; BENCKE, J.A.F.; VIEGAS,J. Aspectos físico-químicos e microbiológicos de grãos de soja tratados com ácidos orgânicos e seus sais. **Ciência Rural**, Santa Maria. v. 38, n. 6, p.1742-1747, Set. 2008.

ERICSSON,H.M.;SHERRIS,J.C. International collaborative study on antibiotic sensitivity testing. **Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica**, Sect B, Microbiology and immunology, Copenhagen, v. 217, p. 3-88, April 1971.

ESPINEL-INGROFF,A.;DAWSON,K.; PFALLER,M.ANAISSIE,E.; BRESLIN, E.; DIXON, D.;FOTHERGILL,A.;PAETZNICK,V.;PETER,J.;RINALDI,M. Comparative and collaborative evaluation of standardization of antifungal susceptibility testing for filamentous fungi. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v.39, n.2, p. 314-319, Feb. 1995.

ESTANISLAU,A.A.;BARROS,F.A.S.;PEÑA, A. P.; SANTOS, S. C.; FERRI, P. H.; PAULA, J.R. Composição química e atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de cinco espécies de *Eucalyptus* cultivadas em Goiás. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 11, n 2, p. 95-100, 2001.

FANCELLI,A.L. Tecnologia da produção. In: FANCELLI, A. L.; LIMA, U. A. **Milho:** produção, processamento e transformação industrial. São Paulo: Secretaria da Indústria e Comércio, Ciência e Tecnologia. p. 1-68, 1983.

FANDOHAN,P.;GBENOU,J.D.;GNONLONFIN,B.;HELL,K.;MARASASW.F.O.; WINGFIELD,M.J. Effect of essential oils on the growth of *Fusarium verticillioides* and fumonisin contamination in corn. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Davis, v. 52, p. 6824-6829, Oct. 2004.

FAO. **World regulations for mycotoxins, a compendium**. Rome, 1995. FAO Food and Nutrition Paper 64.

FAWCETT,C.H.;SPENCER,D.M. Plant chemotherapy with natural products. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 18, p. 403-418. 1970.

FERREIRA,M.;SANTOS,P.E.T. Melhoramento genético florestal dos *Eucalyptus* no Brasil, breve histórico e perspectivas. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF *Eucalyptus*, 1997, Salvador, **Anais...**Colombo: EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisas Florestais, v.1, p.14-34.

FOSTER,G.H.;TUIITE.J. Aeration and stored grain management. In: SAUER, D. B. (ed.) **Storage of cereal grains and their products**. 4 th ed. St. Paul: A.A.C.C. 1992. chap. 7, p. 219-138.

GARLIPP,R. **Crescimento do setor florestal no Brasil** (Workshop on Forest Plantation), Piracicaba: ESALQ/ IPEF, 2007. Disponível em: <http://www.sbs.org.br/secure/g2/Crescimento%20do%20Setor%20Florestal%20no%20Brasil%20%20Rubens%20Garlipp.pdf>. Acesso em: 14 jul. 2009.

GHINI,R. **Resistência de fungos a fungicidas**. FeSBE - Federação de Sociedades de Biologia Experimental. Disponível em: www.fesbe.org.br. Acesso em: 8 out. 2009.

GOMEZ,D.G.J. **Efecto de las propiedades inhibitorias de mohos a escala de laboratorio de tres productos comerciales compuestos por sales derivados del acido propionico llamados fungitek dry, action y grain sobre los mohos presentes en El maíz (zea mays).** Facultad de Salud, Cúcuta: Colombia, 2008. Disponível em: http://www.engormix.com/efecto_propiedades_inhedoras_mohos_s_articulos_2042_MC.htm. Acesso em: 26 nov. 2009.

GOTTLIEB,O.R; SALATINO,A. Função e evolução de óleos essenciais e de suas estruturas secretoras. In: FABROWSKI,F.J. *Eucaliptus smithii* R. T. BAKER (Myrtaceae) como espécie produtora de óleo essencial no sul do Brasil. 2002. 225 p. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

GUENTHER,E. History, origin in plants, production and analysis. In: **The essentials oils**. 4 th ed. New York: Van Nostrand. 2008. v. 1.

HADACEK,F.;GREGER.H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. **Phytochemical Analysis**, West Sussex, v.11, p.137–147, April 2000.

HELAL,R.G.; STELATO,M.M. Avaliação da atividade antifúngica dos óleos essencial de *Origanum vulgare*. In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA PUCCAMP, 14, 2009. Campinas. **Anais...**Disponível em: http://www.puccampinas.edu.br/pesquisa/ic/pic2009/resumos/200991_14523_712244662_resDAE.pdf. Acesso em: 21 fev. 2009.

HOLMQUIST,G.U.; WALKER, H.W.; STAHR, H.M. Influence of temperature, pH, water activity and antifungal agents on growth of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 48, p. 778–782, Aug. 2006.

HIGGINS, C.; BRINKHAUS, F. Efficacy of several organic acids against molds. **Journal of Applied Poultry Research**, Stanford, v. 8, p. 480-487, Oct. 1999.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS – ICMSF. **Microorganismos de los alimentos**: características de los patógenos microbianos. Zaragoza: Acribia, 1996. p. 403-428.

INSTITUTO DE PESQUISA E ESTUDOS FLORESTAIS – IPEF. Disponível em: www.ipef.br/. Acesso em: 23 out. 2009.

JANSSEN,A.M. **Antimicrobial activities of essential oils**: a pharmacognostical study. Amsterdam: The Netherlands. 1989, 182 p.

JARDIM,C.M.; JHAM,G.N.;DHINGRA, O. D.; FREIRE, M.M. Composition and antifungal activity of the essential oil of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. **Journal of Chemical Ecology**, Amsterdam, v.34, n. 9, p.1213-8, Aug. 2008.

JAYAS, D; WHITE, N.D. Storage and drying of grain in Canada: low cost approaches. **Food Control**, Guildford, v. 4, p. 255-261, Aug. 2003.

JIMENEZ, M.;MANEZ, M.;HERNANDEZ, E. Influence of water activity and temperature on the production of zearalenone in corn by three *Fusarium* species. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 29, n.2-3, p. 417-421, Apr. 1996.

KHAN,Z.K.;KATIYAR,R. Potent antifungal activity of garlic (*Allium sativum*) against experimental murine disseminated cryptococcosis. **Pharmaceutical Biology**, Lisse, v. 38: p. 87-100, Apr. 2000.

LEE,Y.S.;JUNHEON, K.;SHIN,S.C.;LEE,S.G. Antifungal activity of *Myrtaceae* essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. **Flavour and Fragrance Journal**, Hoboken, v. 23, p. 23-28, Jan. 2008.

LIMA,I.L.;OLIVEIRA,C.L.F. Aspectos gerais do uso de óleos essenciais de Eucalipto. **Revista Eletrônica de Engenharia Florestal**, v. 1, n. 1, 2003. Disponível em: <http://www.revista.inf.br/florestal01/pages/artigos/artigo06.htm>. Acesso em: 5 mar. 2009.

LUCCA FILHO O.A. Metodologia dos testes de sanidade de sementes. In: SOAVE, J., WETZEL, M.M.S. (Ed.) **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, p. 276-298, 1987.

MARÍN,S.;SANCHI,V.;MAGAN, N. Water activity, temperature and pH effects on growth of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates from maize. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 41, p. 1063–1070, Dec. 1995.

MOUBASHER, A. H.;ELNAGHY, M. A.;ABDEL-HAFEZ, S. I. Studies on the fungus flora of three grains in Egypt. **Mycopathologia**, Amsterdam, v. 47, n 3, p. 261-274, Aug. 1972.

MULLER,P.H.;BRITO,J.O. Potencial de onze espécies de Eucalyptus para a produção de óleos essenciais. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 63, n.1, fev. 2006.

NAKAHARA,K.; ALZOREKY , N. S.; YOSHIHASHI, T.; NGUYEN, H. T. T.; TRAKOONTIVAKORN, G. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cymbopogon nardus* (Citronella grass). **Japan Agricultural Research Quarterly**, Tokyo, v. 37, n. 4, p. 249-252, July 2003.

NASCIMENTO,G.G.F.;LOCATELLI,J.;FREITAS,P.C.;SILVA,G.L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 31, n. 4, Oct. 2000.

NASCIMENTO, J. E. R.;RODRIGUES, C. L.;JACOB, R. G.,PERIN, G. LENARDÃO, E. J. Potencial de três espécies de Eucalipto para a produção de óleos essenciais na Metade Sul do Rio Grande do Sul. In: ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 17, **Anais...** FURG: Rio Grande, 2009.

NELSON,P.E.;DESJARDINS, A.E.;PLATTNER,R.D. Fumonisin, mycotoxins produced by *Fusarium* species: biology, chemistry and significance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.31, p.233-252, Sept. 1993.

NESCI,A.V.;ETCHEVERRY,M.G. Control of *Aspergillus* growth and aflatoxin production using natural maize phytochemicals under different conditions of water activity. **Pest Management Science**, London, p. 775-784, Sept. 2006.

NGUEFACK, J.;LETHA,V.;AMVAM ZOLLO, P. H.V.;MATHUR, S. B. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 94, p. 329-334, Aug. 2004.

NIX;STREETT ,D.A. Modulation of water activity on fungicide effect on *Aspergillus niger* growth in Sabouraud dextrose agar mediums. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, vol. 41, n. 5, p. 428-433, 2005.

OFFICIAL JOURNAL OF THE EUROPEAN UNION. Amending regulation (EC) 466/2001 as regard aflatoxins. 12 December 2003. **Commission Regulation (EC) No. 2174/2003. L326/12.**

OGUNWANDE,I.A.;OLAWOREN.O.;ADELEKE,K.A.;KONIG,W.A.Chemical composition of the essential oils from the leaves of three *Eucalyptus* species growing in Nigeria. **Journal of Essential Oil Research**, Winston-Salem, v.15, p. 297-301, 2003.

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

PAPACHRISTOS,A.D.P.;STAMOPOULOSB,D.C. Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, Elmsford, v. 40, p. 517-525, 2004.

PASTER,N.;MENASHEROV,M.;RAVID,U.;JUVEN,B. Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking store grain. **Journal Food Protection**, Des Moines, v. 58, p. 81–85, 1995.

PENFOLD,A.R.;WILLIS,J.L. **The Eucalyptus – botany, cultivation, chemistry and utilization**. London: Leonard Hill, 1961. 550 p.

PENTEADO,S. Utilização dos defensivos alternativos na agricultura: histórico e perspectivas. In: ENCONTRO NACIONAL DE PROCESSOS, 2001, Botucatu. **Resumos...** Botucatu: Agroecológica, 2001.

PERUZZO,T.M.,CANTO,E.L. **Química na abordagem do cotidiano**. São Paulo: Ed. Moderna, 1993.

PINAZZA,L.A. **Cadeia produtiva do milho**/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Política Agrícola, Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura; – Brasília: IICA: MAPA/SPA, Agronegócios, 2007, v. 1, 108 p. Disponível em: <http://www.iica.org.br/Docs/CadeiasProdutivas/Cadeia%20Produtiva%20do%20Milho.pdf>. Acesso em: 17 abr. 2009.

PINTO, E; SALGUEIRO, L.R.; CAVALEIRO, C.; PALMEIRA, A.; GONÇALVES, M.J. *In vitro* susceptibility of some species of yeasts and filamentous fungi to essential oils of *Salvia officinalis*. **Industrial Crops and Products**, New York, v. 26, p. 135 – 141, Aug. 2007.

PITT, J. I.;HOCKING,A.D. **Fungi and food spoilage**. London: Blackie Academic, 1997. 593 p.

PUZZI,D. **Abastecimento e armazenagem de grãos**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensinos Agrícolas, 2000. 666 p.

RAO,B.R.R.;KAUL,P.N.; SYAMASUNDAR, K. V.; RAMESH, S. Comparative composition of decanted and recovered essential oils of *Eucalyptus citriodora* Hook. **Journal of Flavour and Fragrance**, Hoboken, v. 18, n.2, p. 133-135, Mar. 2003.

RIBEIRO,N.;SITOE,A.A.;GUEDES,B.S.;STAISS,C. **Manual de silvicultura tropical**. Maputo: UEM, 2002. 130 p.

RICHARDSON,M.D;BACON,C.W. Catabolism of 6-methoxy-benzoxazoline and 2-benzoxazoline by *Fusarium moniliforme*. **Mycologia**, New York. v. 87, p 510-517, 1995.

ROONEY,L.W.; SERNA-SALDIVAR,S.O. Food uses of whole corn and dry – milled fractions. In: WATSON, S. A.; RANSTAD, B. E. (Ed.) **Corn: chemistry and technology**. St Paul: A.A.C.C., 1994. Chap. 13, p. 399-427.

SALGADO,A.P.S.P. **Estudo dos constituintes químicos a da atividade fungitóxica do óleo essencial das folhas de *Eucalyptus***. 2001. 52 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2001.

SALGADO,A.P.S.P.;CARDOSO,M.G.;SOUZA,P.E.;SOUZA, J. A.;ABREU, C. M.;PINTO, J.E.B.P. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporium*, *Botrytis cinérea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras. v. 27, n. 2, p. 249-254, Mar. 2003.

SALVADORI,R.K.;POVH,F.P.;SCHWANESTRADA,K.R.F.;STANGARLIN,J.R.
Atividade antifúngica dos extratos brutos de *Corymbia citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, n.2, p.420-425, out. 2003.

SAS Online Doc 9.1.3 SAS, 2004. **Statistical analysis system**. Cary: SAS Institute Inc, 2004.

SAUER,D.B;MERONUCK,R.A.;CHRISTENSEN,C. M. Microflora. In: SAUER, D. B. (Ed.) **Storage of cereal grains and their products**. 4 th ed. St. Paul: A.A.C.C. 1992, Chap. 9, p. 313-338.

SCUSSEL,M.V.; **Micotoxinas em alimentos**. Florianópolis: Ed. Insular, 1998. 144 p.

SILVA,N.,JUNQUEIRA,V.C.A.,SILVEIRA,N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 2001. 317 p.

SIMIÉ,A.;SOKOVIC,M.;RISTIC,M.;GRUJIC-JOVANOVIC, S.;VUKOJEVIC, J.;MARIN, P. The chemical composition of some. Lauraceae essential oils and their antifungal activities. **Phytotherapy Research**, Chichester, v. 18, p. 713-717, Oct. 2004.

SIMÕES,C.M.O.;SHENKEL,E.P.;GOSMANN,G.;MELLO,J.C.P.;MENTZ,L.A.;PETROV ICK,P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Ed. da UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC, 2000. 821 p.

SINDICATO NACIONAL DAS INDÚSTRIAS DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS – SINDAG. **Dados de mercado. 2009**. Disponível em: www.sindag.com.br. Acesso em: 7 nov. 2009.

SINGH, S.P.;CHAND,L.;NEGRI, S.;SINGH, A. K. Antibacterial and antifungal activities of *Mentha arvensis* essential oil. **Phytotherapy Research**, Chichester, v.1, p. 76-78, 1992.

SOARES,L.M.V.;RODRIGUEZ-AMAYA,D.B. Survey of aflatoxin, ochratoxin A, zearalenone and sterigmatocystin in some Brazilian food by using multitoxin thin-layer chromatographic method. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Washington, v. 72, p. 22-36, Jan. 1989.

SOLIMAN, K.M.;BADEAA,R.I. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. **Food and Chemical Toxicology**, London, v. 40, p. 1669-1675, Nov. 2002.

SOUZA ,A.E. F.;ARAÚJO, E.;NASCIMENTO, L.C. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolados de grão de milho. **Fitopatologia Brasileira**, João Pessoa, v. 32, p. 465-470, Nov. 2007.

TANAKA,M.A.S.;MAEDA,J.A.;PLAZAS, I.H.A.Z. Microflora fúngica de sementes de milho em ambientes de armazenamento. **Sciencia Agrícola**, Piracicaba, v. 58, n.3, p. 501-508. Jul. 2001.

TANIWAKI,M.H.,SILVA,N. **Fungos em alimentos: ocorrência e detecção**. Campinas: ITAL/Núcleo de Microbiologia, 2001. 82 p.

TANTAOUI-ELARAKI,A.;FERHOUT,H.;ERRIFI,A. Inhibition of the fungal asexual reproduction stages by three Moroccan essential oils. **Journal of Essential Oil Research**, Winston-Salem, v. 5, n. 5, p. 535-545, Sept. 1993.

VANDEGRAFT,E.E.;HESSELTINE, C. W.; SHOTWELL, O. L. Grain preservatives: Effects on aflatoxin and ochratoxin production. **Cereal Chemistry**, Chicago, v. 52, n. 1, p. 79-84, 1975.

VIANA, J. **História das florestas plantadas, análise, demandas e potencial do setor florestal**. In: Evento 100 Anos de Florestas Plantadas no Brasil. Brasília, 2005. Palestra.

VILELLA, G. R., ALMEIDA, G. S., D´ARCE, M. A. B. R., MORAES, M. H. D., BRITO, J. O., SILVA, M. F. G. F., SILVA, S. C., PIEDADE, S. M. S., CALORI-DOMINGUES, M. A., GLORIA, E.M. Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. **Journal of Stored Products Research**, Elmsford, v. 45, p. 108-111, April 2009.

VITTI, A. M. S; BRITO, J. O. **Óleo essencial de *Eucalyptus***. Piracicaba: ESALQ, 2003. 26p.

VITURRO, C.I., MOLINA, A.C., HEIT, C.I. Volatile components of *Eucalyptus globulus* Labill. ssp. bicostata from Jujuy, Argentina. **Journal of Essential Oil Research**, Winston-Salem, v.15, p. 206–208, May 2003.

XAVIER, M.O.; MADRID, I.M.; MEINERZ, A.R.M.; CLEFF, M.B.; SCHUCH, L.F.D.; NOBRE, M. O., MEIRELES, M.C.A. Atividade “in vitro” De três agentes químicos frente a diferentes espécies de *Aspergillus*. **Arquivo Instituto Biológico**. São Paulo, v.74, n.1, p.49-53, Jan. 2007.

WATSON, S. A. Structure and composition. In: WATSON, S. A.; RANSTAD, B. E. (Ed.) **Corn: chemistry and technology**. St Paul: A.A.C.C., 1994. Chap. 3, p. 55-78.

WILSON, D. M.; ABRAMSON. Mycotoxins. In: SAUER, D. B. (Ed.) **Storage of cereal grains and their products**. 4 th ed. St. Paul: A.A.C.C. 1992. Chap. 10, p. 341-376.

WEBBER, E.A. **Armazenagem agrícola**. 2 ed. Porto Alegre: Kleper Weber industrial, 2001. 400 p.

WOOLF, A. Essential oil poisoning. **Symposium on Natural Products Toxicology**. p. 721-727. Oct. 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Report of the WHO Expert committee on antibiotics.** Inform no. 26. Technical Report series no. 610. Geneva, 1977.

YIN,M.;TSAO,S. Inhibitory effect of seven *Allium* plants upon three *Aspergillus* species. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 49, n 1-2, p. 49-56, Aug. 1999.

ZRIRA,S.; BESSIERE,J. M.; MENUT, C.; ELAMRANI, A.; BENJILALI, B. Chemical composition of the essential oil of nine *Eucalyptus* species growing in Morocco. **Journal of Flavour and Fragrance**, Hoboken, v. 19, n.2, p. 172-175, Feb. 2004.

ZGODA,J.R.;PORTER,J.R.A convenient microdilution method for screening natural products against bacteria and fungi. **Pharmaceutical Biology**, Lisse, v. 39, p. 221-225, June 2001.