



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE GURUPI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

VITÓRIA BEATRIZ SILVA

**ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE FUNGOS CAUSADORES DA
PODRIDÃO NO CADEX NA ROSA-DO-DEERTO (*Adenium obesum*):
TOXICIDADE, SELETIVIDADE E MODO DE AÇÃO.**

**Gurupi, TO
2026**

Vitória Beatriz Silva

Óleos essenciais no controle de fungos causadores da podridão no caudex na rosa-do-deserto (*Adenium Obesum*): toxicidade, seletividade e modo de ação

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Tocantins (UFT), como requisito à obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Luis Oswaldo Viteri Jumbo
Coorientador: Prof. Dr. Gil Rodrigues dos Santos

**Gurupi, TO
2026**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

S586

◆ Silva, Vitória Beatriz.

Oleos essenciais no controle de fungos causadores da podridão no caudex na rosa-do-deserto (*Adenium Obesum*): toxicidade, seletividade e modo de ação. / Vitória Beatriz Silva. – Gurupi, TO, 2026.

100 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Gurupi - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Biotecnologia, 2026.

Orientador: Luis Oswaldo Viteri Jumbo

Coorientador: Gil Rodrigues dos Santos

1. atividade antifúngica. 2. *Neocosmospora* sp. 3. CYP51A. 4. *Fusarium* spp. I. Título

CDD 660.6

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Vitória Beatriz Silva

Óleos essenciais no controle de fungos causadores da podridão no caudex na rosa-do-deserto (*Adenium Obesum*): toxicidade, seletividade e modo de ação

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Foi avaliado para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 03 de fevereiro de 2026

Banca Examinadora

Prof. Dr. Luis Oswaldo Viteri Jumbo, UFT.

Dra. Dalmarcia de Souza Carlos Mourão, UFT.

Prof. Dra. Talita Pereira de Souza Ferreira, UFT.

Dr. Mateus Santi Dalcin, UFMT.

À dona Rosa (*in memoriam*),
do *seu jardim* foi isolado o microrganismo
que fundamentou este trabalho e *fez* eu me
tornar mestre, talvez, em outra vida,
eu possa lhe contar.
Saudades, vô.

AGRADECIMENTOS

Independentemente de qualquer título acadêmico que eu venha a conquistar, o mais importante da minha vida *sempre foi* e sempre será ser neta de dona Rosa e Seu Zé. Antes de ser pesquisadora, engenheira ou mestre, eu sou neta. E é a partir deste lugar de amor e pertencimento que começo estes agradecimentos: À minha avó, a senhora é minha memória inconsolável. Ao meu vô, por ser meu maior incentivador, meu parceiro e meu melhor amigo, obrigada por todo apoio incondicional, mesmo não entendendo e nem lembrando o que essa alguma-coisa-tecnologia faz e mesmo assim, estando sempre ao meu lado. À minha mãe, por entender e apoiar essa etapa da minha vida e sempre ser um porto para qual eu posso voltar. Aos meus padrinhos, por todo amor e cuidado incondicional, pelas conversas, pelos domingos de filmes, por estarem sempre presente na minha vida. As minhas tias, que dividiram os seus conhecimentos sobre rosas do deserto. Aos meus três afilhados, que iluminam e trazem de volta à luz a minha vida, minha Lulu (que ainda não gosta de ser chamada de Luísa), Gugu e Sofya, amo vocês imensamente! Aos meus orientadores, Dr. Viteri e Dr. Gil, por toda a orientação, parceria, aprendizado e cuidado. À equipe Gefito, que seguraram a barra, ajudaram, e me deram todo apoio técnico-emocional, Rosilene, Paulo, Mari, Dheime, Dr. Pedrão, Dra. Bruna, Dra. Ângela, Ivan e Dra. Betânia. À Dra. Dalmarcia, é impossível colocar minha gratidão em palavras, mas obrigada por tudo, este trabalho não seria possível sem você, Dal.

Dizem que há pessoas a gente esbarra e há pessoas que a gente encontra, e eu *encontrei* vocês, Douglas, Lu, Adauto, Thais, Antunny, Talita, Clara e Thams... Obrigada!

Agradeço à CAPES pelo fomento desta pesquisa e pelo apoio na realização deste trabalho. Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec) e à Universidade Federal do Tocantins (UFT) pela estrutura e suporte oferecidos.

Todas essas pessoas e a outras não citadas, o meu sincero muito obrigada!

“Do or do not. There is no try.”

Master Yoda, Star Wars: Episode V.

RESUMO

Os óleos essenciais (OEs) possuem metabólitos secundários com potencial aplicação no controle sustentável de fitopatógenos, representando alternativa aos fungicidas sintéticos. Este trabalho investigou a atividade antifúngica de um óleo essencial de manjeriço (*Ocimum tenuiflorum*) por meio de abordagens experimentais e computacionais, buscando compreender sua eficácia e seus possíveis mecanismos de ação. Inicialmente, foi realizada a caracterização do patógeno-alvo quanto a aspectos morfológicos, moleculares e de patogenicidade. Os isolados analisados foram isolados e identificados como *Fusarium* spp. e *Neocosmospora keratoplastica*, além de confirmados como agentes causais da podridão no caudex de rosas do deserto. Ensaio *in vivo* avaliaram a eficácia do OE em aplicações preventivas e curativas. O tratamento preventivo mostrou maior eficiência, com redução significativa da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) à medida que a concentração aumentou, alcançando valores próximos de zero nas maiores doses testadas. Esses resultados indicam capacidade de proteção das plantas e possível interferência nas etapas iniciais de infecção e colonização do patógeno. No tratamento curativo, embora tenha sido observada redução da severidade da doença, o efeito foi menos pronunciado, sugerindo limitação na reversão de infecções já estabelecidas. Avaliações sobre organismos não alvo revelaram que o OE também apresenta atividade antimicrobiana sobre bacilos, reforçando a importância de estudos de seletividade e impacto ambiental. Para investigar os mecanismos de ação, foram empregados métodos de modelagem estrutural e docking molecular com proteínas fúngicas essenciais, incluindo a lanosterol 14 α -desmetilase (CYP51A) e o heterodímero α/β -tubulina. Os modelos tridimensionais apresentaram alta confiabilidade, validada por métricas como pLDDT, erro de alinhamento predito (PAE) e análise de Ramachandran. A modelagem do grupo heme na CYP51A evidenciou coordenação axial com resíduo de cisteína conservado, compatível com a arquitetura funcional de citocromos P450. O docking molecular com 27 ligantes identificados no OE revelou afinidades distintas entre os alvos. De modo geral, a CYP51A apresentou energias de ligação mais favoráveis, com destaque para sesquiterpenos hidrofóbicos como dehydroaromadendrano, que exibiram encaixe profundo e predominância de interações hidrofóbicas próximas ao heme ferroso. Compostos menores, como 1,8-cineol, apresentaram afinidade intermediária, enquanto eugenol demonstrou interações mistas, incluindo ligação de hidrogênio e contato estérico desfavorável, justificando sua menor estabilidade no sítio ativo. Na α/β -tubulina, o sesquiterpeno α -copaeno apresentou a melhor afinidade estimada, acomodando-se profundamente no sítio de ligação à colchicina (CBS) e estabelecendo extensos contatos hidrofóbicos na interface do heterodímero. De forma integrada, os resultados experimentais e computacionais indicam que os compostos do OE podem atuar por múltiplos mecanismos, incluindo interferência na biossíntese de ergosterol e na dinâmica dos microtúbulos. Esta tese contribui para a compreensão dos mecanismos de ação de metabólitos naturais e para a prospecção racional de moléculas bioativas com potencial aplicação no manejo sustentável de doenças fúngicas de importância agrícola.

Palavras-chaves: óleo essencial. atividade antifúngica. docking molecular. CYP51A. α/β -tubulin

ABSTRACT

Essential oils (EOs) contain secondary metabolites with potential application in the sustainable control of phytopathogens, representing an alternative to synthetic fungicides. This study investigated the antifungal activity of essential oil from holy basil (*Ocimum tenuiflorum*) through experimental and computational approaches, aiming to understand its efficacy and possible mechanisms of action. Initially, the target pathogens were characterized based on morphological, molecular, and pathogenicity aspects. The analyzed isolates were identified as *Fusarium* spp. and *Neocosmospora keratoplastica*, and were confirmed as causal agents of caudex rot in desert rose plants. In vivo assays evaluated the efficacy of the EO in preventive and curative applications. Preventive treatment showed greater efficiency, with a significant reduction in the area under the disease progress curve (AUDPC) as concentration increased, reaching values close to zero at the highest tested doses. These results indicate the oil's protective capacity and possible interference in the early stages of pathogen infection and colonization. In curative treatments, although disease severity was reduced with increasing concentration, the effect was less pronounced, suggesting limited ability to reverse already established infections. Assessments on non-target organisms revealed that the EO also exhibits antimicrobial activity against bacilli, highlighting the importance of selectivity and environmental impact studies. To investigate the mechanisms of action, structural modeling and molecular docking approaches were applied to essential fungal proteins, including lanosterol 14 α -demethylase (CYP51A) and the α/β -tubulin heterodimer. The three-dimensional models showed high reliability, validated by metrics such as pLDDT, predicted aligned error (PAE), and Ramachandran analysis. Modeling of the heme group in CYP51A revealed axial coordination with a conserved cysteine residue, consistent with the functional architecture of fungal cytochrome P450 enzymes. Molecular docking with 27 ligands identified in the EO revealed different affinities toward the targets. Overall, CYP51A exhibited more favorable binding energies, particularly with hydrophobic sesquiterpenes such as dehydroaromadendrane, which showed deep binding and predominantly hydrophobic interactions near the heme group. Smaller compounds, such as 1,8-cineole, displayed intermediate affinity, while eugenol showed mixed interactions, including hydrogen bonding and unfavorable steric contacts, explaining its lower stability within the active site. In α/β -tubulin, the sesquiterpene α -copaene presented the best estimated affinity, fitting deeply into the colchicine binding site (CBS) and establishing extensive hydrophobic contacts at the heterodimer interface. Taken together, the experimental and computational results indicate that EO compounds may act through multiple mechanisms, including interference with ergosterol biosynthesis and microtubule dynamics. This thesis contributes to the understanding of the mechanisms of action of natural metabolites and to the rational prospecting of bioactive molecules with potential application in the sustainable management of fungal diseases of agricultural importance.

Key-words: essential oil. antifungal activity. molecular docking. CYP51A. α/β -tubulin

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

- Figura 1 - *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições hortícolas; (D) planta em condições naturais.....21
- Figura 2 - Variabilidade morfológica de flores entre cultivares de *Adenium obesum*: (A) Arrogant; (B) Big Mama; (C) Rihanna; (D) Double Black Asian; (E) Golden Sun; (F) Home Ru; (G) Red Everbloomer; (H) Red Henry; (I) GM Lu; (J) BP 639; (K) Tripla Bali; (L) The Bell 2.....22
- Figura 3 - *Adenium arabicum* Balf. f.: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições hortícolas; (D) planta em condições naturais.....24
- Figura 4 - *Adenium boehmianum* Schinz: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições hortícolas; (D) planta em condições naturais.....25
- Figura 5 - *Adenium crispum*: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições hortícolas; (D) planta em condições naturais.....26
- Figura 6 - *Adenium somalense*: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições hortícolas; (D) planta em condições naturais.....27
- Figura 7 - *Adenium dhofarensis* Rzepecky: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições hortícolas; (D) planta em condições naturais.....27
- Figura 8 - *Adenium multiflorum* Klotsch: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições hortícolas; (D) planta em condições naturais.....28
- Figura 9 - *Adenium oleifolium* Stapf: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições hortícolas; (D) planta em condições naturais.....29
- Figura 10 - *Adenium socotranum* Vierh: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições hortícolas; (D) planta em condições naturais.....29
- Figura 11 - *Adenium swazicum* Stapf: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições hortícolas; (D) planta em condições naturais.....30

CAPÍTULO I

- Figura 1 – Tecidos infectados da porção apical do caule e caule seccionado (A); Desenvolvimento de micélio fúngico ao redor do segmento seccionado do caule (B).....39
- Figura 2- Progresso da podridão do caudex em *Adenium obesum* inoculada com o isolado F12 nos dias 0 (A); 2 (B); 4 (C); 6 (D); 14 (E) e 28 (F) dias após a câmara úmida.....41

Figura 3 - Figura 3 – Diversidade de sintomas observados em <i>Adenium obesum</i> : A) podridão no caudex; B) murcha foliar; C) clorose e mancha foliar D) clorose e murcha das folhas; E) podridão generalizada da planta; F) necrose da planta.....	42
Figura 4 - Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença em plantas de <i>Adenium obesum</i> inoculadas com diferentes isolados de <i>Fusarium</i> spp.....	43
Figura 5 - Área média de lesão (mm ²) do caudex <i>Adenium obesum</i> quando expostas a diferentes isolados de <i>Fusarium</i> spp.....	44
Figura 6 - Figura 6 – Aspectos morfológicos do isolado F12: (A) Colônia em vista frontal; (B) verso da colônia; (C) microconídios; (D) macroconídios; (E) clamidósporos; (F) hifas.....	46
Figura 7 - Árvore filogenética obtida a partir da análise da sequência do gene TUB2.....	48
Figura 8 - Árvore filogenética obtida a partir da análise da sequência do gene RPB2	49
 CAPÍTULO II	
Figura 1 – Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de manjeriço (<i>Ocimum tenuiflorum</i>) sobre a fitotoxicidade foliar: (A-B) 10; (C-D) 25; (E-F) 50; (G-H) 70 µL/mL.....	71
Figura 2 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em plantas submetidas a tratamentos preventivo e curativo com diferentes concentrações de óleo essencial de manjeriço (<i>Ocimum tenuiflorum</i>)	73
Figura 3 - Crescimento bacteriano em diferentes concentrações do óleo essencial de manjeriço	74
Figura 4 - Modelo estrutural tridimensional da proteína CYP51A com coloração baseada nos valores de pLDDT. (A) Visão geral do modelo, destacando o predomínio de hélices α no núcleo catalítico; (B) Detalhe do sítio ativo, evidenciando a região de acomodação do grupo heme.....	76
Figura 5 - Figura 5 – Análises de validação estrutural do modelo de CYP51A: (A) Gráfico de Ramachandran.; (B) Matriz PAE.....	76
Figura 6 -Modelagem e análise da coordenação do grupo heme (laranja) no sítio ativo da proteína CYP51A (azul).....	77
Figura 7- Modelo estrutural da proteína com mapeamento de confiança local (pLDDT) e organização do sítio ativo na interface entre as subunidades α e β	79
Figura 8 - Análises de confiabilidade estrutural do modelo heterodimérico α/β	80
Figura 9 -Heatmap das energias estimadas de ligação (ΔG) obtidas por docking molecular para 27 ligantes do óleo essencial nas proteínas-alvo CYP51A e α/β -tubulina.....	81

- Figura 10 - Modelo tridimensional do complexo CYP51A–dehydroaromadendrano evidenciando o posicionamento do ligante no sítio catalítico (azul) em relação ao grupo heme (laranja) (A); Diagrama bidimensional das interações do sesquiterpeno dehydroaromadendrano no sítio ativo da CYP51A obtido por docking molecular (B).....83
- Figura 11- Modelo tridimensional do complexo CYP51A–1,8-cineol evidenciando o posicionamento do ligante no sítio catalítico (azul) em relação ao grupo heme (laranja) (A); Diagrama bidimensional das interações do 1,8-cineol no sítio ativo da CYP51A obtido por docking molecular (B).....85
- Figura 12- Modelo tridimensional do complexo CYP51A–Eugenol evidenciando o posicionamento do ligante no sítio catalítico (azul) em relação ao grupo heme (laranja) (A); Diagrama bidimensional das interações do Eugenol no sítio ativo da CYP51A obtido por docking molecular (B).....86
- Figura 13- Modelo tridimensional do complexo α/β -tubulina– α -copaeno evidenciando o posicionamento do ligante no sítio de ligação à colchicina (CBS) (azul) (A); Diagrama bidimensional das interações do α -copaeno no sítio ativo da colchicina (CBS) da α/β -tubulina obtido por docking molecular (B).....89
- Figura 14 - Modelo tridimensional do complexo α/β -tubulina– α -1,8-cineol evidenciando o posicionamento do ligante no sítio de ligação à colchicina (CBS) (azul) (A); Diagrama bidimensional das interações do 1,8-cineol no sítio de ligação à colchicina (CBS) da α/β -tubulina obtido por docking molecular.....90
- Figura 15- Visualização tridimensional do complexo α/β -tubulina–eugenol evidenciando o posicionamento do ligante no sítio de ligação à colchicina (CBS) (A); Diagrama bidimensional das interações do eugenol no sítio de ligação à colchicina (CBS) da α/β -tubulina obtido por docking molecular.....91

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1 - Local de coleta, tecido infectado e Gênero identificado de fungos associados a Rosa do Deserto.....39

CAPÍTULO II

Tabela 1 - Caracterização dos óleos essenciais avaliados, inibição in vitro e composto majoritário e fontes bibliográficas da composição química.....67

Tabela 2 - Composição química e classificação dos constituintes do óleo essencial de *Ocimum tenuiflorum*.....69

Tabela 3 - Efeito de concentrações crescentes do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum tenuiflorum*) na Inibição do Crescimento Micelial (ICM) a partir do micélio de *Neocosmospora keratoplastica* em diferentes períodos de avaliação.....70

Tabela 4 - Parâmetros de docking para os controles positivos em CYP51A (média \pm desvio padrão, n=3)82

Tabela 5 - Parâmetros de docking para os controles positivos no CBS de α/β -tubulina (média \pm desvio padrão)88

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AACPD	Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença
AF2	AlphaFold2
AlphaFill	Algoritmo para inserção de cofatores
ANOVA	Análise de Variância
BDA	Batata-Dextrose-Ágar
BHI	Brain Heart Infusion
CBS	Colchicine Binding Site
CF	ColabFold
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CYP51A	Lanosterol 14 α -desmetilase
DMSO	Dimetilsulfóxido
OE	Óleo essencial
OEs	Óleos essenciais
GenBank	Banco de dados público de sequências genéticas
IC ₅₀	Concentração inibitória capaz de reduzir 50%
kcal/mol	Quilocaloria por mol
MH	Monoterpenos hidrocarbonetos
OM	Monoterpenos oxigenados
OS	Sesquiterpenos oxigenados
SH	Sesquiterpenos hidrocarbonetos
PAE	Predicted Aligned Error
PDB	Protein Data Bank
pLDDT	Predicted Local Distance Difference
Test pTM	Predicted Template Modeling score
RMSD	Root Mean Square Deviation
RMSF	Root Mean Square Fluctuation
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
Å ²	Ångström ao quadrado

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta minúsculo
Δ	Delta maiúsculo
ΔG	Varição da energia livre de Gibbs
μ	Prefixo micro (10^{-6})
μg	Micrograma
μL	Microlitro
$^{\circ}\text{C}$	Grau Celsius
\AA	Ångström
%	Porcentagem
\pm	Mais ou menos
/	Relação entre grandezas
(E)	Configuração estereoquímica
14 α	Posição estrutural

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	19
1.1	Objetivos	20
1.1.1	Objetivo Geral	20
1.1.2	Objetivos Específicos	20
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	21
2.1	Aspectos gerais de <i>Adenium obesum</i> (Forssk.) Roem. & Schult	21
2.2	Aspectos taxonômicos e nomenclaturais de <i>Adenium</i> spp.	22
2.3	Diferenças entre as espécies do gênero <i>Adenium</i> spp.	23
2.3.1	<i>Adenium Arabicum</i> Balf. f.	24
2.3.2	<i>Adenium boehmianum</i> Schinz	24
2.3.3	<i>Adenium crispum</i>	25
2.3.4	<i>Adenium somalense</i> Stapf	26
2.3.5	<i>Adenium dhofarensense</i> Rzepecky	27
2.3.6	<i>Adenium multiflorum</i> Klotsch	27
2.3.7	<i>Adenium oleifolium</i> Stapf	28
2.3.8	<i>Adenium socotranum</i> Vierh	29
2.3.9	<i>Adenium swazicum</i> Stapf	30
2.4	Doenças bióticas em rosas do deserto	30
2.5	<i>Neocosmospora</i> spp.	31
2.6	<i>Neocosmospora keratoplastica</i> (syn. <i>Fusarium keratoplasticum</i>)	32
	CAPÍTULO I	
1	INTRODUÇÃO	34
2	MATERIAIS E MÉTODOS	36
2.1	Bioprospecção de fungos associados a plantas de <i>adenium obesum</i> balf.	36
2.2	Isolamento por microcultivos e identificação morfológica dos	36

	fitopatógenos	
2.3	Bioensaio de patogenicidade em plantas de <i>Adenium obesum</i>	37
2.4	Caracterização morfológica e molecular do isolado F12	38
2.5	Análise de dados	38
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
3.1	Microbiota isolada	39
3.2	Patogenicidade dos isolados	40
3.3	Severidade dos isolados	43
3.4	Caracterização morfológica e molecular	45
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
	REFERÊNCIAS	52
	CAPÍTULO II	
1	INTRODUÇÃO	59
2	MATERIAIS E MÉTODOS	60
2.1	Coleta de plantas e obtenção do óleo essencial (OE)	60
3.3	Análises <i>in vitro</i>	60
3.3.1	Atividades antifúngica <i>in vitro</i> dos óleos essenciais micélio de <i>N. keratoplastica</i>	60
3.4	Análises <i>in vivo</i>	61
3.4.1	Toxicidade do óleo essencial em plântulas de <i>Adenium obesum</i>	61
3.4.2	Controle preventivo e curativo do óleo essencial	61
3.4.3	Efeito em organismos não-alvo	62
3.5	Análises <i>in silico</i>	63
3.5.1	Modelagem Molecular da CYP51 e α/β -tubulina	63
3.5.2	Preparação do receptor e dos ligantes	64

3.5.3	Docking Molecular	64
3.6	Análise de dados	65
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
3.1	Screening da atividade antifúngica de óleos essenciais em <i>Neocosmospora keratoplastica</i>	66
3.2	Efeito da atividade antifúngica do óleo essencial de <i>Ocimum tenuiflorum</i> em <i>Neocosmospora keratoplastica</i>	68
3.3	Efeito tóxico do óleo essencial de <i>Ocimum tenuiflorum</i> em plantas de <i>Adenium obesum</i>	71
3.4	Efeito Curativo e preventivo	72
3.5	Efeito do óleo essencial de manjeriço (<i>Ocimum tenuiflorum</i>) em organismos não-alvos	73
3.6	Modelagem da CYP51A, α/β -tubulina e validação do cofator heme	74
3.7	Docking Molecular	80
3.8	Validação do protocolo com controles positivos (CYP51A)	82
3.9	Análise do ligante de melhor energia em CYP51A: dehydroaromadendrano	82
3.10	Compostos majoritários do óleo: 1,8-cineole e eugenol	84
3.11	Docking Molecular no Heterodímero α/β -Tubulina (<i>Colchicine Binding Site</i>)	87
3.11.1	Visão geral do screening no colchicine binding site (CBS)	87
3.11.2	Validação do protocolo com controles positivos (α/β -tubulina)	87
3.11.3	Análise do ligante de melhor energia em α/β -tubulina: α -	88
3.12	Compostos majoritários do óleo: 1,8-cineole e eugenol	89
3.12.1	1,8-cineole	89
3.12.2	Eugenol	90
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	92
	REFERÊNCIAS	93

1. INTRODUÇÃO GERAL

A produção e comercialização de plantas ornamentais têm crescido nas últimas décadas, impulsionadas pelo valor estético, paisagístico e econômico dessas espécies. Nesse cenário, *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult., conhecida como rosa-do-deserto, destaca-se como uma das suculentas ornamentais mais valorizadas, devido ao porte escultural do cáudex e à floração exuberante. A espécie apresenta elevada plasticidade fenotípica e adaptações morfofisiológicas associadas à tolerância ao estresse hídrico, o que favorece seu cultivo em ambientes quentes e secos, como grande parte do território brasileiro (EL-TAHER et al., 2020; Hess et al., 1952).

Apesar da crescente importância comercial e ornamental, ainda são escassos os estudos sobre a sanidade de *A. obesum* no Brasil, especialmente no que se refere à identificação de patógenos associados e à compreensão de seus impactos fitossanitários (ABREU, 2023; SILVA, MOURA & OLIVEIRA, 2021; DIMMITT & EDWARDS, 2021; EL-TAHER et al., 2020). Entre os patógenos de solo com potencial de causar murchas e podridões radiculares em diferentes hospedeiros destaca-se espécieS pertencente ao complexo *Fusarium solani* (FSSC), grupo reconhecido pela elevada diversidade genética, ampla distribuição ambiental e capacidade de infectar plantas e outros organismos (Zhang et al., 2006; Sandoval-Denis et al., 2018).

A redefinição taxonômica que resultou no reconhecimento do gênero *Neocosmospora* baseou-se em evidências filogenéticas multilocus, permitindo a delimitação mais precisa de espécies crípticas anteriormente agrupadas sob *F. solani* (SANDOVAL-DENIS et al., 2018; GEISER et al., 2021). *N. keratoplastica* tem sido relatada como agente de podridões radiculares e murchas vasculares em diferentes culturas agrícolas, incluindo cucurbitáceas, morangueiro e outras espécies de interesse econômico, evidenciando sua plasticidade ecológica e potencial de adaptação a novos hospedeiros (GONZÁLEZ et al., 2020; CRUZ-LUNA et al., 2024; Vega-Gutiérrez et al., 2023). A ocorrência desse patógeno em sistemas ornamentais representa risco adicional, especialmente devido à intensa circulação de mudas e substratos em viveiros.

O manejo de doenças causadas por fungos de solo é tradicionalmente baseado no uso de fungicidas sintéticos; contudo, preocupações relacionadas à resistência de patógenos, aos impactos ambientais e à segurança de organismos não alvo têm estimulado a busca por alternativas mais sustentáveis. Nesse contexto, os óleos essenciais (OEs) de plantas destacam-se como fontes de metabólitos secundários com reconhecida atividade antimicrobiana. Sua eficácia está associada à complexa composição química, rica em monoterpenos,

sesquiterpenos e compostos fenólicos, cujas interações sinérgicas podem potencializar a ação biológica (TULLIO, 2016; STANKOVIĆ et al., 2018). Além disso, os OEs tendem a apresentar menor persistência ambiental e menor toxicidade a organismos não alvo quando comparados a pesticidas convencionais, além de dificultarem o desenvolvimento de resistência devido à multiplicidade de alvos celulares (COSTA et al., n.d.; SRIVASTAVA et al., 2014).

Diante da relevância ornamental de *A. obesum*, da emergência de patógenos de solo como *N. keratoplastica* e da necessidade de estratégias de controle mais sustentáveis, esta pesquisa foi desenvolvida com o objetivo de integrar abordagens etiológicas, biológicas e moleculares. O estudo envolveu a caracterização de fungos associados a sintomas de murcha e podridão em rosa-do-deserto, a avaliação do potencial antifúngico de óleos essenciais, com ênfase em *Ocimum tenuiflorum*, por meio de ensaios *in vitro* e *in vivo*, e a investigação de possíveis mecanismos de ação utilizando ferramentas *in silico*.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar a atividade antifúngica do óleo essencial de *Ocimum tenuiflorum* e investigar seus possíveis mecanismos de ação contra fungos fitopatogênicos por meio de abordagens biológicas, fitopatológicas e computacionais.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Isolar e identificar morfológica e molecularmente os fungos associados à podridão do caudex de rosas do deserto, confirmando sua patogenicidade;
- Caracterizar estruturalmente proteínas fúngicas essenciais envolvidas na sobrevivência e virulência do patógeno, com foco na lanosterol 14 α -desmetilase (CYP51A) e no heterodímero α/β -tubulina;
- Avaliar o efeito do óleo essencial de *Ocimum tenuiflorum* sobre o crescimento e a severidade da doença em condições *in vivo*, considerando aplicações preventivas e curativas.
- Determinar a seletividade do óleo essencial sobre organismos não alvo;
- Determinar a afinidade e o modo de ligação dos principais compostos do óleo essencial com as proteínas-alvo CYP51A e α/β -tubulina do fungo.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Aspectos gerais de *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult.

Adenium obesum (Forssk.) Roem. & Schult., popularmente conhecida como rosa-do-deserto ocorre naturalmente no sudeste do Quênia, leste da Tanzânia e nordeste de Moçambique. Em horticulivo, apresentam hábito arbustivo espalhado, com ramos delgados e pendentes, embora existam cultivares selecionadas de porte mais ereto. O desenvolvimento do cáudex costuma ser discreto na maioria dos indivíduos, mas alguns exemplares podem formar estruturas volumosas com o avanço da idade e sob condições adequadas de cultivo. As flores destacam-se por serem as maiores dentro do gênero, com diâmetro normalmente entre 5 e 7,5 cm, podendo ultrapassar 10 cm em cultivares melhoradas (DIMMITT & EDWARDS, 2021)

Em condições naturais, a coloração das pétalas tende a apresentar margens rosadas que se atenuam gradualmente em direção à garganta, geralmente branca ou amarelada. Em contraste, cultivares modernos exibem ampla variabilidade cromática, incluindo tons intensos e padrões com pouca ou nenhuma transição de cor em direção ao centro da flor. O florescimento apresenta pico principal na primavera e um segundo, menos intenso, no outono, sendo que cultivares superiores podem florescer quase continuamente ao longo do ano. Os guias de néctar na garganta floral são, em geral, pouco evidentes ou ausentes. Os apêndices das anteras alcançam a borda da garganta (Figura 1) (DE CARVALHO, 2022).

Figura 1 – *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições horticulturais; (D) planta em condições naturais



Fonte: Google foto.

Diferente de outras espécies do gênero, *A. obesum* não apresenta dormência obrigatória no inverno, podendo manter crescimento contínuo em condições tropicais. Mesmo quando submetida a déficit hídrico no período mais frio, a planta tende a permanecer com folhagem persistente. Devido à intensa seleção ornamental, os cultivares de *A. obesum* são os mais cultivados. Atualmente, estão disponíveis em ampla diversidade de cores, além de

combinações bicolors, flores dobradas e variantes com folhas variegadas ou pigmentadas (Figura 2) (MCBRIDE et al., 2014; SETIYANTO, 2024; DIMMITT & EDWARDS, 2021).

Figura 2 – Variabilidade morfológica de flores entre cultivares de *Adenium obesum*: (A) Arrogant; (B) Big Mama; (C) Rihanna; (D) Double Black Asian; (E) Golden Sun; (F) Home Ru; (G) Red Everbloomer; (H) Red Henry; (I) GM Lu; (J) BP 639; (K) Tripla Bali; (L) The B



Fonte: Google fotos.

2.2 Aspectos taxonômicos e nomenclaturais de *Adenium* spp.

A nomenclatura de *Adenium* é marcada por revisões taxonômicas que impactam diretamente a forma como *A. obesum* se relaciona taxonomicamente com outras espécies do gênero. O primeiro registro do grupo foi descrito por Forsskål, em 1775, como *Nerium obesum*, com base em material do Iêmen; posteriormente, em 1819, Roemer e Schultes transferiram a espécie para o gênero *Adenium*, estabelecendo o nome *Adenium obesum*. Balfour Jr. descreveu *Adenium arabicum* a partir de plantas da Península Arábica, mas estudos morfológicos e, mais recentemente, análises de DNA demonstraram que os *Adenium* spp., da Arábia Saudita e do Iêmen pertencem à mesma entidade taxonômica, devendo ser tratados como *A. obesum*, com exceção das populações do sul de Omã e extremo leste do

Iêmen, atualmente reconhecidas como *A. dhofarensis*. Essa redefinição, entretanto, gera um ponto de conexão e também de conflito com espécies africanas chamados de *A. "obesum"*, que são geneticamente distintos dos árabes e se aproximam de formas como *A. somalense* e *A. crispum*. As evidências moleculares disponíveis indicam que esses grupos do Leste Africano podem representar espécies separadas ou um único complexo altamente variável, situação que também envolve outros nomes publicados para a região do Sahel e do Chifre da África. Assim, *A. obesum* torna-se um eixo central na discussão taxonômica do gênero, conectando as linhagens da Península Arábica às africanas e evidenciando a necessidade de estudos integrando morfologia, distribuição geográfica e dados moleculares para delimitar com segurança as espécies de *Adenium* (EGGLI, 2002; FORSSKÅL, 1775; ROEMER & SCHULTES, 1819; DIMMITT & EDWARDS, 2021).

2.3 Diferenças entre as espécies do gênero *Adenium* spp.

O gênero *Adenium* apresenta ampla diversidade, no que se refere às características morfológicas e químicas, sendo *Adenium obesum* a espécie mais estudada. Essa diversidade manifesta-se em diferentes atributos morfológicos, como altura da planta, padrão de ramificação e características florais, os quais variam entre genótipos e influenciam diretamente o valor ornamental da espécie. Além disso, variações nas características florais, como a espessura das pétalas e o diâmetro das flores, são relatadas e possuem implicações tanto para o sucesso reprodutivo quanto para o apelo visual das plantas, aspectos valorizados em programas de melhoramento e seleção ornamental (DEEPAK et al., 2024).

As espécies são definidas a partir de critérios taxonômicos, que incluem características morfológicas consistentes, distribuição geográfica natural e, cada vez mais, evidências genéticas e citogenéticas que sustentam sua delimitação, como ocorre em *A. obesum* e *A. multiflorum*. Em contraste, os cultivares correspondem a variantes selecionadas artificialmente, apresentando características ornamentais específicas, como variações na cor, forma e tamanho das flores, espessura das pétalas e formato do cáudex, que não necessariamente refletem diferenças taxonômicas naturais. Estudos morfológicos e genéticos demonstram que muitos cultivares de *A. obesum* compartilham a mesma base genética, apesar da ampla variação fenotípica (DEEPAK et al., 2024; DIMMITT & EDWARDS, 2021; CARVALHO, 2022). Dessa forma, a diferenciação entre espécies e cultivares em *Adenium* deve considerar conjuntamente critérios taxonômicos, genéticos e o histórico de domesticação e seleção.

2.3.1 *Adenium arabicum* Balf. f.

A. arabicum tem distribuição natural restrita a uma faixa geográfica localizada no sudoeste da Península Arábica, é uma das espécies de *Adenium* que apresenta incertezas nomenclaturais e taxonômicas associadas à validação formal do nome. Sob condições de cultivo, os indivíduos atribuídos a esse grupo exibem, predominantemente, hábito arbustivo prostrado ou semiprostrado, associado ao desenvolvimento de um cáudex hipertrofiado, com elevada capacidade de armazenamento hídrico. Quando submetidas a manejo nutricional e hídrico adequado, essas plantas apresentam crescimento vigoroso, podendo atingir grande biomassa vegetativa ao longo dos anos. Os ramos são espessos, com crescimento ereto a ascendente, e a morfologia foliar demonstra alta plasticidade fenotípica quanto a dimensões, formato e textura. A presença ou ausência de tricomas foliares é variável, porém não constitui caráter taxonômico confiável dentro do grupo. As estruturas florais apresentam variação morfométrica considerável, com diâmetro moderado e diferenças na conformação das pétalas, que podem assumir morfologia lanceolada a amplamente obovada, influenciando o padrão de simetria da corola. O florescimento ocorre majoritariamente de forma sazonal, com pico na primavera, frequentemente antecedendo a emissão foliar. Plantas adultas tendem a apresentar comportamento perene, e determinados genótipos selecionados exibem padrão de floração recorrente ao longo do ano (Figura 3) (SURADINATA, 2017; DIMMITT & EDWARDS, 2021).

Figura 3 – *Adenium arabicum* Balf. f.: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições hortícolas; (D) planta em condições naturais.



Fonte: Google fotos

2.3.2 *Adenium boehmianum* Schinz

A. boehmianum tem relação filogenética com *Adenium swazicum* e ocorre no sudoeste do continente africano, com registros na Namíbia e no sul de Angola. Diferentemente de outras espécies do gênero, caracteriza-se como um arbusto de porte ereto, cujos caules apresentam baixo grau de suculência e raízes apenas moderadamente espessadas. Em populações localizadas na porção norte de sua distribuição geográfica, podem ser observados

indivíduos com troncos espessos e de conformação cônica. As folhas dessa espécie estão entre as maiores registradas no gênero *Adenium*, constituindo um traço morfológico distintivo. As flores possuem pétalas largas e frequentemente sobrepostas, sendo produzidas principalmente do final do verão até o início do inverno. *A. boehmianum* compartilha com *A. swazicum* uma característica diagnóstica relevante: a coloração das pétalas apresenta tonalidade rosa uniforme, sem gradiente de clareamento em direção à garganta escura da flor, além de apêndices das anteras bastante curtos. Apesar de suas particularidades morfológicas e fenológicas, essa espécie é considerada pouco frequente em cultivos (Figura 4) (DIMMITT & EDWARDS, 2021).

Figura 4 – *Adenium boehmianum* Schinz: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições hortícolas; (D) planta em condições naturais.



Fonte: Google fotos

2.3.3 *Adenium crispum*

A. crispum ocorre naturalmente próximo ao litoral do sul da Somália. Do ponto de vista taxonômico, ainda não foi formalmente elevado à categoria de espécie, sendo descrito na literatura como *Adenium somalense* var. *crispum* Chiov, sendo uma variedade da *A. somalense*. Em ambiente natural, apresenta cáudex fusiforme predominantemente subterrâneo, do qual se origina a maior parte do sistema radicular, concentrado na região superior dessa estrutura de reserva. Em condições de cultivo, entretanto, o cáudex costuma ser exposto acima do nível do solo, desenvolvendo novas raízes a partir de sua porção basal. Os ramos são delgados e de crescimento limitado, raramente ultrapassando cerca de 30 cm de altura. As flores, de pequenas dimensões, maioria apresenta pétalas enroladas longitudinalmente, característica pouco comum dentro do gênero. Suas flores apresentam guias de néctar que se estendem sobre as pétalas, podendo alcançar extremidades das pétalas. Em *A. somalense*, as pétalas geralmente não apresentam enrolamento acentuado. Apesar de existirem variantes com pétalas planas e coloração vermelha uniforme, a espécie (ou variedade) é pouco cultivada, devido à elevada sensibilidade a baixas temperaturas e à

intolerância a condições de calor associado à alta umidade atmosférica (Figura 5) (DIMMITT & EDWARDS, 2021).

Figura 5 – *Adenium crispum*: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições hortícolas; (D) planta em condições naturais.



Fonte: Google fotos

2.3.4 *Adenium somalense* Stapf

A. somalense ocorre no Chifre da África, ocorrendo na Somália, Etiópia, Quênia e em áreas adjacentes. Em cultivo, a forma mais comum caracteriza-se pelo desenvolvimento de um tronco suculento, alto e de conformação cônica, embora também existam formas arbustivas com cáudex subterrâneo. Do ponto de vista vegetativo, as principais características da espécie incluem o cáudex cônico bem definido e a presença de nervuras foliares de coloração mais clara. Com flores pequenas, com diâmetro variando entre aproximadamente 2,5 e 5 cm, e apresentam, em geral, pétalas estreitas e pontiagudas, conferindo aspecto estrelado à corola. A coloração varia entre branco e rosa, frequentemente com margens em tons mais intensos de rosa-escuro ou vermelho. Possuem guias de néctar, que se estendem sobre as pétalas na forma de linhas mais claras, porém menores do que as observadas na maioria das flores de *A. crispum*. A espécie apresenta maior popularidade em regiões de clima tropical, onde as condições ambientais favorecem seu desenvolvimento (Figura 6) (DIMMITT & EDWARDS, 2021; DEEPAK et al., 2024).

Figura 6 – *Adenium somalense*: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições hortícolas; (D) planta em condições naturais.

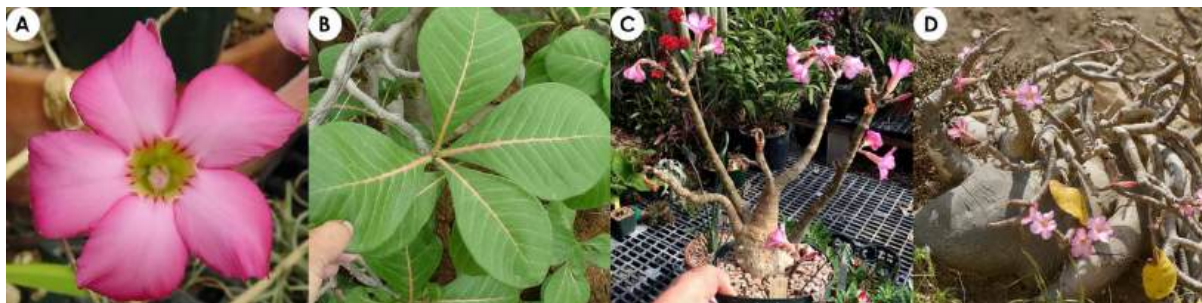


Fonte: Google fotos.

2.3.5 *Adenium dhofarensense* Rzepecky

A. dhofarensense foi descrita como uma nova espécie em 2015 por Alain Rzepecky, tendo sido anteriormente incluída no complexo taxonômico de *A. arabicum*. Sua distribuição natural concentra-se na faixa costeira de Omã e no extremo leste do Iêmen. A espécie possui um cáudex amplo, deprimido e de aspecto achatado, que pode atingir até cerca de um metro de diâmetro. Os ramos são delgados, frequentemente flexíveis e pendentes, podendo enraizar ao entrarem em contato com o solo, embora também existam cultivares com crescimento ereto. As folhas estão entre as maiores registradas no gênero *Adenium*, constituindo um caráter morfológico marcante. A floração ocorre predominantemente no final da primavera, geralmente antecedendo a emissão foliar, e produz flores de coloração rosada e tamanho variável, em geral de pequenas dimensões. A espécie apresenta crescimento lento, característica que influencia tanto sua ecologia quanto seu potencial de cultivo ornamental (Figura 7) (DIMMITT & EDWARDS, 2021; RZEPECKY, 2015).

Figura 7 – *Adenium dhofarensense* Rzepecky: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições hortícolas; (D) planta em condições naturais.



Fonte: Google fotos

2.3.6 *Adenium multiflorum* Klotsch

A. multiflorum (Figura 8) é nativa do sudeste da África, principalmente em Moçambique e no Zimbábue. Em seu habitat natural, apresenta ampla variação no porte,

podendo ocorrer desde arbustos escassamente ramificados em sub-bosque até arbustos eretos que ultrapassam 2,5 m de altura. Diferentemente de várias espécies do gênero, geralmente não desenvolve um cáudex claramente definido, embora raízes e caules se tornem espessos. A floração ocorre de forma abundante durante o inverno, período em que as plantas se encontram desprovidas de folhas. As características diagnósticas incluem flores predominantemente brancas com bordas vermelhas estreitas, produzidas no inverno, além de apêndices das anteras fortemente exsertos que se projetam bem além da garganta floral, a qual exibe guias de néctar proeminentes. A espécie é pouco difundida em cultivo, devido ao seu crescimento lento e à exigência de condições ambientais específicas, como outono fresco e alta luminosidade no inverno para floração (DIMMITT & EDWARDS, 2021).

Figura 8 – *Adenium multiflorum* Klotsch: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições hortícolas; (D) planta em condições naturais.

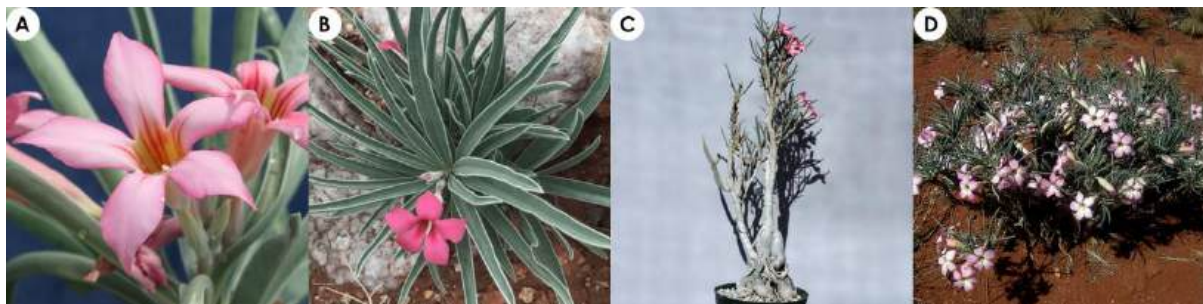


Fonte: Google fotos

2.3.7 *Adenium oleifolium* Stapf

A. oleifolium ocorre na África Austral, com registros na África do Sul e no extremo sul de Botsuana. É considerada a menor espécie do gênero *Adenium*. O cáudex é predominantemente subterrâneo, enquanto os caules apresentam baixo grau de succulência e cerca de 30 cm de altura. Em cultivo, as plantas produzem flores pequenas, geralmente de coloração rosa-clara, com garganta amarelada e guias de néctar vermelhos bem evidentes. Possuem uma ampla variabilidade fenotípica, tanto no porte das plantas quanto na coloração floral, que pode variar do branco ao rosa e até tonalidades vermelho-escuro (Figura 9) (DIMMITT & EDWARDS, 2021).

Figura 9 – *Adenium oleifolium* Stapf: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições hortícolas; (D) planta em condições naturais



Fonte: Google fotos

2.3.8 *Adenium socotranum* Vierh

A. socotranum é uma espécie endêmica da ilha de Socotra é a maior espécie do gênero *Adenium*, as plantas adultas podem atingir aproximadamente 4,5 m de altura e desenvolver tronco cilíndrico com diâmetro basal que pode ultrapassar 2 m, conferindo aspecto marcadamente arborescente. A espécie apresenta período de crescimento vegetativo bastante curto, com emissão foliar geralmente ocorrendo apenas a partir do meio do verão. O alongamento caulinar concentra-se em um único surto de crescimento que dura poucas semanas ao longo do ano. A floração ocorre na primavera, quando as plantas ainda se encontram desprovidas de folhas, produzindo flores de coloração rosada. Apesar de ser considerada de cultivo simples, *A. socotranum* apresenta crescimento extremamente lento e floração de difícil indução, em condições de calor excessivo associadas a noites frias parecem inibir a formação floral, enquanto, em ambientes com temperaturas mais estáveis, a irrigação durante o período seco da primavera pode atuar como estímulo para a sua floração (Figura 10) (DIMMITT & EDWARDS, 2021).

Figura 10 – *Adenium socotranum* Vierh: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições hortícolas; (D) planta em condições naturais

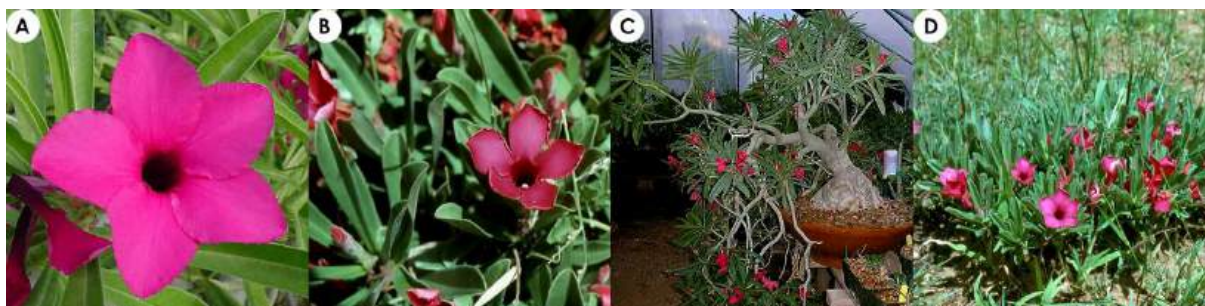


Fonte: Google fotos

2.3.9 *Adenium swazicum* Stapf

A. swazicum ocorre naturalmente em Eswatini e em regiões adjacentes da África do Sul. A espécie apresenta caules geralmente delgados, com hábito de crescimento mais prostrado, enquanto seu cáudex é constituído por raízes espessadas e permanece no subterrâneo. A floração ocorre, no final do verão e ao longo do outono, a principal característica floral da espécie é a coloração uniforme das pétalas, que não apresenta gradiente de clareamento em direção à garganta da flor. A garganta, por sua vez, é mais escura e não exibe guias de néctar visíveis. Além disso, os apêndices das anteras são extremamente curtos e permanecem inclusos no tubo da corola. Essas características florais também são compartilhadas por *A. boehmianum*; entretanto, as duas espécies podem ser diferenciadas pelo hábito de crescimento, sendo *A. swazicum* um arbusto de ramos laxos, enquanto *A. boehmianum* apresenta porte mais ereto e frequentemente arborescente (DIMMITT & EDWARDS, 2021).

Figura 11 – *Adenium swazicum* Stapf: (A) flor; (B) folhas; (C) planta cultivada em condições hortícolas; (D) planta em condições naturais



2.4 Doenças bióticas em rosas do deserto

As doenças fúngicas representam um dos principais problemas em viveiros de rosa-do-deserto, afetando não apenas o valor ornamental, mas também o desempenho fisiológico das plantas e a viabilidade econômica da produção. Diversos patógenos já foram relatados como ameaças, que comprometem a qualidade das mudas e impõem desafios fitossanitários aos viveiros ornamentais. De modo geral, doenças fúngicas são frequentes em plantas ornamentais e costumam resultar em redução da qualidade comercial e do rendimento produtivo. Os sintomas incluem manchas foliares, murcha e declínio do vigor, exigindo estratégias de manejo eficientes e contínuas (DOMINGUES & TÖFOLI, 2023).

Entre os principais patógenos associados a *A. obesum*, *Pestalotiopsis microspora* destaca-se por causar manchas foliares com bordas necróticas e áreas de clorose (JESUS et al., 2022). Já *Colletotrichum siamense* e *C. truncatum* são reconhecidos como agentes de antracnose foliar, provocando lesões extensas e queda prematura das folhas (NUÑEZ-GARCÍA et al., 2024), *Neocosmospora ipomoeae* causando podridão ao caudex (CUSTÓDIO, 2023), espécies do gênero *Aristastoma* também já foram relacionadas a surtos severos de manchas foliares, com potencial para comprometer lotes inteiros de plantas (MCMILLAN et al., 1997).

As lesões foliares reduzem drasticamente o valor ornamental, que é o principal atributo comercial da espécie. Fisiologicamente, infecções recorrentes podem levar à desfolha, redução da fotossíntese e crescimento limitado. Economicamente, surtos de doenças resultam em perdas diretas de mudas e aumento dos custos com manejo, afetando a rentabilidade do setor (DOMINGUES & TÖFOLI, 2023). Além disso, o controle desses patógenos em ambientes de produção ornamental apresenta desafios fitossanitários, o uso contínuo de fungicidas sintéticos nem sempre é eficaz e pode gerar impactos ambientais, além do risco de seleção de populações resistentes.

2.5 *Neocosmospora* spp.

O gênero *Neocosmospora*, anteriormente inserido no complexo de espécies *Fusarium solani* (FSSC), passou por revisões taxonômicas nas últimas décadas, impulsionada por avanços em análises filogenéticas multilocus. O gênero reúne espécies com ampla diversidade ecológica, incluindo organismos saprófitos, fitopatogênicos e oportunistas em humanos, tendo importância tanto para a agricultura quanto para a saúde pública. A reorganização taxonômica foi necessária devido à dificuldade de delimitação de espécies dentro do FSSC, onde muitos apresentavam alta similaridade morfológica. Estudos recentes reconheceram cerca de 68 espécies dentro do gênero *Neocosmospora*, incluindo novas espécies descritas e diversas recombinações nomenclaturais previamente atribuídas a *Fusarium* (SANDOVAL-DENIS et al., 2018; GEISER et al., 2021).

Essa redefinição foi sustentada por evidências moleculares, que confirmaram a monofilia do gênero e permitiram separar linhagens filogenéticas distintas que antes eram agrupadas sob um único nome. Do ponto de vista morfológico, as espécies de *Neocosmospora* apresentam variações em estruturas reprodutivas, especialmente na forma, tamanho e septação dos conídios, além de diferenças na morfologia do micélio e das estruturas de frutificação.

Espécies recentemente descritas, como aquelas isoladas na província de Yunnan, na China, demonstram combinações únicas de características morfológicas e moleculares que reforçam a importância da taxonomia integrativa para a correta delimitação do grupo (JIA et al., 2025).

As abordagens moleculares, principalmente, aquelas baseadas em múltiplos genes, como regiões do rDNA e genes codificadores de proteínas, têm sido decisivas para esclarecer as relações evolutivas internas do gênero. Essas análises permitiram distinguir espécies crípticas e compreender melhor a diversidade genética existente, consolidando *Neocosmospora* como um clado bem definido dentro da família *Nectriaceae* (SANDOVAL-DENIS et al., 2018; GEISER et al., 2021).

2.6 *Neocosmospora keratoplastica* (syn. *Fusarium keratoplasticum*)

Fusarium keratoplasticum foi formalmente recombinação como *Neocosmospora keratoplastica*, com base em evidências filogenéticas obtidas a partir de marcadores, como ITS, LSU, EF-1 α e RPB2. O estudo de SANDOVAL-DENIS, 2018, demonstrou que essa espécie forma um clado bem definido dentro de *Neocosmospora*, distinto de outras linhagens do FSSC, justificando sua nova combinação nomenclatural. A mudança teve como objetivo alinhar a nomenclatura à filogenia evolutiva do grupo, reduzindo ambiguidades na identificação de patógenos clinicamente e agronomicamente relevantes. Durante décadas, diversas linhagens geneticamente distintas foram agrupadas sob complexo de *F. solani*, apesar de apresentarem diferenças filogenéticas, ecológicas e patogênicas significativas (SANDOVAL-DENIS, 2018).

Na agricultura, *N. keratoplastica* é descrita como patógeno de solo capaz de causar murcha vascular e podridões radiculares, especialmente em cucurbitáceas como melão e melancia (GONZÁLEZ et al., 2020). A ocorrência da espécie em diferentes sistemas de cultivo e regiões produtoras indica potencial de disseminação e adaptação a novos hospedeiros, configurando um risco fitossanitário relevante (CRUZ-LUNA et al., 2024).

CAPÍTULO I - ETIOLOGIA, PATOGENICIDADE E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Neocosmospora* sp. ASSOCIADO A PODRIDÃO EM *Adenium obesum*

RESUMO

Adenium obesum (rosa-do-deserto) é uma planta ornamental amplamente cultivada em regiões tropicais, valorizada por sua rusticidade e características estéticas. Apesar de sua crescente importância comercial, há escassez de informações sobre os agentes etiológicos associados a doenças que afetam a espécie, especialmente aquelas relacionadas à murcha e à podridão do caudex. Este estudo teve como objetivo isolar, avaliar a patogenicidade e caracterizar morfológica e molecularmente fungos associados a sintomas dessas doenças em *A. obesum*. A bioprospecção foi realizada em plantas sintomáticas coletadas nos estados do Tocantins e Pará. Fragmentos de tecidos lesionados foram submetidos à desinfestação superficial e cultivados em meio BDA para isolamento dos fungos. A caracterização morfológica inicial indicou a predominância de isolados do gênero *Fusarium*. A patogenicidade foi avaliada por inoculação de discos miceliais no caudex de plantas saudáveis, mantidas sob condições controladas. A severidade da doença foi monitorada por 28 dias, utilizando escala de notas e cálculo da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD). Todos os isolados testados foram capazes de induzir sintomas, incluindo clorose foliar, murcha, necrose e podridão do caudex, confirmando seu potencial fitopatogênico e satisfazendo os Postulados de Koch. Houve variação significativa na virulência entre os isolados, destacando-se o isolado F12, que apresentou maior severidade e maior área de lesão. Esse isolado foi submetido à caracterização morfológica detalhada e identificação molecular por sequenciamento das regiões gênicas TEF1- α , TUB2 e RPB2, seguida de análises filogenéticas. Os resultados confirmaram a identidade do isolado F12 como *Neocosmospora keratoplastica* (sin. *Fusarium keratoplasticum*), pertencente ao complexo *Fusarium solani* (FSSC). Até o momento, não há relatos dessa espécie associada a *A. obesum*, configurando o primeiro registro mundial desse patógeno nesse hospedeiro.

Palavras-chave: *Adenium obesum*. rosa do deserto. Atividade fúngica.

HAPTER I – ETIOLOGY, PATHOGENICITY AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *Neocosmospora* sp. ASSOCIATED WITH ROT IN *Adenium obesum*

ABSTRACT

Adenium obesum (desert rose) is an ornamental plant widely cultivated in tropical regions, valued for its hardiness and aesthetic characteristics. Despite its increasing commercial importance, there is a lack of information regarding the etiological agents associated with diseases affecting this species, especially those related to wilt and caudex rot. This study aimed to isolate, evaluate the pathogenicity, and morphologically and molecularly characterize fungi associated with symptoms of these diseases in *A. obesum*. Bioprospecting was conducted using symptomatic plants collected in the states of Tocantins and Pará, Brazil. Fragments of diseased tissues were surface-disinfested and cultured on PDA medium for fungal isolation. Initial morphological characterization indicated the predominance of isolates belonging to the genus *Fusarium*. Pathogenicity was assessed by inoculating mycelial discs into the caudex of healthy plants maintained under controlled conditions. Disease severity was monitored for 28 days using a rating scale and by calculating the Area Under the Disease Progress Curve (AUDPC). All tested isolates were able to induce symptoms, including leaf chlorosis, wilting, necrosis, and caudex rot, confirming their phytopathogenic potential and fulfilling Koch's postulates. Significant variation in virulence was observed among isolates, with isolate F12 showing the highest severity and largest lesion area. This isolate was subjected to detailed morphological characterization and molecular identification through sequencing of the TEF1- α , TUB2, and RPB2 gene regions, followed by phylogenetic analyses. The results confirmed the identity of isolate F12 as *Neocosmospora keratoplastica* (syn. *Fusarium keratoplasticum*), belonging to the *Fusarium solani* species complex (FSSC). To date, there are no reports of this species associated with *A. obesum*, representing the first worldwide record of this pathogen infecting this host.

Keywords: *Adenium obesum*. desert rose. fungal activity.

1 INTRODUÇÃO

Adenium obesum (Forssk.) Roem. & Schult., conhecida popularmente como rosa-do-deserto, é uma planta ornamental suculenta pertencente à família Apocynaceae, amplamente cultivada em regiões tropicais e subtropicais. O gênero *Adenium* é relativamente pequeno dentro da família Apocynaceae, sendo amplamente reconhecido na literatura botânica, embora ainda apresente problemas nomenclaturais e de delimitação específica que permanecem em debate (DIMMITT, 2021). As espécies distinguem-se pelas características foliares, morfológicas e químicas que, quando analisadas em conjunto, mostram tanto correlações quanto divergências entre elas (EL-TAHER, 2020).

Entre as espécies mais estudadas, *A. obesum* apresenta ampla variabilidade fenotípica e elevada capacidade de adaptação a ambientes quentes e secos, favorecida por características morfofisiológicas associadas à tolerância ao estresse hídrico (EL-TAHER et al., 2020; Hess et al., 1952). No Brasil, tem ganhado destaque no paisagismo e na produção ornamental devido à sua rusticidade e à capacidade de adaptação às condições tropicais. A espécie apresenta boa tolerância a temperaturas elevadas e à escassez de água, características que favorecem seu cultivo em diferentes regiões do país, especialmente no Cerrado, onde o clima quente e sazonalmente seco estimula seu desenvolvimento.

Além do apelo estético, decorrente da forma escultural do cáudex e da intensa floração, o aumento da demanda comercial e a propagação em viveiros e coleções domésticas têm contribuído para sua ampla disseminação. No entanto estudos sobre sua sanidade e agentes fitopatogênicos associados ao cultivo ornamental no país são escassos (ABREU, 2023; SILVA, MOURA & OLIVEIRA, 2021; DIMMITT & EDWARDS, 2021; EL TAHER et al., 2020). Com a expansão do cultivo e a popularização da rosa-do-deserto como planta ornamental, têm sido relatados casos crescentes de doenças associadas à murcha e à podridão no cáudex, comprometendo a absorção de água e nutrientes, resultando em sintomas como perda de turgor, amarelecimento foliar, necrose tecidual e colapso total da planta. Em infecções severas, o apodrecimento do e das raízes pode levar à morte da planta.

De modo geral, as medidas de manejo recomendadas incluem boas práticas de drenagem e higiene, monitoramento constante, aplicação de fungicidas específicos e o uso de alternativas biotecnológicas, como óleos essenciais e agentes biocontroladores (CUSTÓDIO, 2022; SOUZA, 2024; KIYAN, 2023; SOMERA, 2024). Apesar da crescente popularidade da

rosa-do-deserto, ainda há escassez de estudos voltados à sua sanidade vegetal, especialmente quanto à etiologia e ao comportamento de patógenos associados a sintomas de murcha e podridão. A ausência de informações sobre agentes causadores de doenças e seus mecanismos de infecção limita o desenvolvimento de estratégias de manejo adequadas e aumenta o risco de disseminação de patógenos em viveiros e coleções ornamentais. Diante desse cenário, a presente pesquisa teve como objetivo realizar a bioprospecção e caracterização de fungos associados a *A. obesum* com sintomas de doenças, avaliando seu potencial fitopatogênico e identificando, por meio de análises morfológicas e moleculares.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Bioprospecção de fungos associados a plantas de *Adenium obesum* balf. F

Inicialmente entre junho e novembro de 2024, foram coletadas amostras vegetais com sintomas sugestivos de etiologia biótica, provenientes de plantas ornamentais de dois jardins residenciais no município de Gurupi, Tocantins, localizados na coordenada 11°44'45"S e 49°04'07"O (Gurupi 2) e de jardins residenciais localizados nos municípios de Natividade, Tocantins (11°42'36" S e 47°43'22" O) e Conceição do Araguaia, Pará (8°15'43" S e 49°15'46" O).

O material proveniente de caules foi submetido ao processo de desinfestação superficial seguindo a metodologia descrita por Maheshwari (2017) com adaptações. Inicialmente, o material foi emergido em álcool 50% por 30 segundos e, em seguida, em solução de hipoclorito de sódio a 1% por 40 segundos, seguida por três lavagens com água destilada esterilizada e, por fim, secas em papel-filtro estéril. Posteriormente, segmentos de aproximadamente 5 mm foram cortados utilizando bisturi previamente esterilizados, das regiões lesionadas e adjacentes às áreas saudáveis dos tecidos. Os fragmentos foram colocados em placas de Petri de 80 mm de diâmetro, com meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) (200 g/L de batata, 18 g/L de Dextrose, 15 g/L de Ágar). Em seguida foram seladas com filme de policloreto de vinila (PVC) e mantidas em câmara de incubação a 25 °C, fotoperíodo de 12 horas durante 10 dias para o desenvolvimento e crescimento de colônias fúngicas presentes nas amostras.

2.2 Isolamento por microcultivos e identificação morfológica dos fitopatógenos

Para a caracterização morfológica, foram observadas as estruturas fúngicas reprodutivas, por meio da técnica de microcultivo (Brasil, 2009). Inicialmente, foi empregada a técnica de isolamento em meio BDA, seguida da incubação das amostras. Para o isolamento, fragmentos das colônias previamente cultivadas em BDA foram transferidos para o centro de novas placas contendo o mesmo meio de cultura. As placas foram mantidas em temperatura ambiente durante sete dias; após este período foi realizada a análise morfológica das culturas, onde, por meio de observações em microscópio óptico (Leica Microsystems Ltd, DMC2900, Alemanha) utilizando as lentes de x40 e x100 considerando a observação e mensura das estruturas morfológicas. Os fungos foram identificados com base em suas características, tendo como referência descrições da literatura (BARNETT & HUNTER, 1972; ELLIS, 1971; WATANABE, 2010).

2.3 Bioensaio de patogenicidade em plantas de *Adenium obesum*

Para avaliação da patogenicidade dos isolados obtidos, foram utilizadas três plantas de *A. obesum* por isolado fúngico, onde dois discos de micélio de 5 mm foram inoculados em lados opostos do caudex das plantas. Em seguida, as plantas foram mantidas em câmara úmida por 48 horas a 25 °C, a fim de favorecer as condições ideais para o estabelecimento do patógeno (Mourão, 2023) com adaptações. Para fins comparativos, foi realizado o controle negativo, onde foram pressionados dois discos tendo apenas o meio BDA. Após esse período inicial, a severidade da doença foi monitorada durante 28 dias, por meio de avaliações realizadas a cada dois dias, nas folhas e caudex e a realizada a mensura das lesões no caudex. Na severidade, utilizou-se uma escala de notas adaptada de Santos *et al.* (2005), na qual: 0 – planta sadia, sem sintomas aparentes; 1 – lesões em menos de 1% da superfície foliar e/ou no caudex; 3 – sintomas em 1 a 5% da área foliar e/ou caudex; 5 – comprometimento entre 6 e 25% da área foliar e/ou do caudex; 7 – sintomas abrangendo 26 a 50% da área foliar e/ou do caudex; 9 – severidade superior a 50% da área foliar e/ou do caudex. Com os dados das avaliações realizada foi calculado, utilizando a equação 1 a Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença (AACPD), conforme Schneider *et al.* (1976)

$$AACPD = \sum_{i=1}^{n-1} \frac{(Y_{i+1}+Y_i)(T_{i+1}+T_i)}{2} \quad \text{Eq. (1)}$$

Onde:

AACPD= Área abaixo da curva de progresso da doença;

Y_{i+1} : severidade da doença na época da avaliação;

Y_i : severidade da doença na época da avaliação anterior i ;

T : época da avaliação;

T_{i+1} : época da avaliação anterior $i+1$;

n : número total de avaliações;

i : número de dias após a emergência das plântulas.

2.4 Caracterização morfológica e molecular do isolado F12

Para identificação molecular dos isolados foi realizado o cultivo monospórico, seguido do sequenciamento das regiões gênicas recomendadas *Fusarium* spp: Elongation

Factor 1- α (TEF1- α), β -tubulina (TUB) e RNA polymerase II second largest subunit (RPB2). O DNA fúngico foi extraído a partir de material moído em nitrogênio líquido, utilizando o kit Wizard Genomic DNA Purification (Promega), conforme as instruções do fabricante. A qualidade e concentração do DNA foram avaliadas em espectrofotômetro Nanodrop, ajustando-se a 50 ng/ μ L. A identificação molecular dos isolados foi realizada por PCR e sequenciamento da região do fator de alongação (EF). Os produtos de PCR foram separados em gel de agarose 1,5%, purificados com o sistema ReliaPrep™, e sequenciados em ambas as direções pela empresa ATCGene (Porto Alegre, RS). As sequências foram editadas no Dragon 1.6.0, alinhadas no MEGAX com o algoritmo Muscle, e comparadas ao GenBank por meio do BLAST, utilizando os genes EF e RPB2. As análises filogenéticas foram conduzidas pelo método da Máxima Verossimilhança no MEGAX, com 1000 repetições.

2.5 Análise de dados

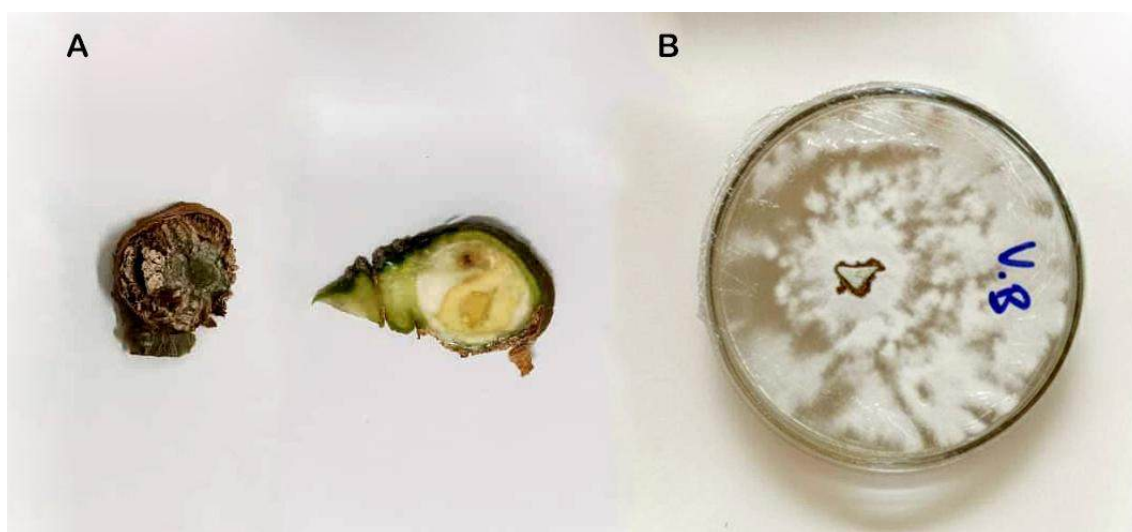
Os dados da Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença (AACPD) foram submetidos a análises de variância, Tukey teste ($P < 0.05$) e o tamanho da lesão pelo Kruskal-Wallis teste ($P < 0.05$). A normalidade e igualdade de variância foi conferida e quando necessário os dados foram transformados (\sqrt{n}). as análises estatísticas foram realizadas no software GraphPad Software, San Diego, CA, EUA (versão 8.1).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Microbiota isolada

A partir do isolamento do material vegetal, porção apical do caule e fragmentos seccionados do caule, (Figura 1A), foi observado crescimento de micélio ao redor dos fragmentos inoculados, o que indicou a presença de fungos associados aos tecidos vegetais (Figura 1B).

Figura 1 - Tecidos infectados da porção apical do caule e caule seccionado (A); Desenvolvimento de micélio fúngico ao redor do segmento seccionado do caule (B)



Fonte: Autor, 2025.

Dentre todas as amostras incubadas em BDA, foram isolados 12 fungos, com base nas suas características micromorfológicas. Os isolados foram pré-identificados como *Fusarium* spp. (Tabela 1).

Tabela 1 – Local de coleta, tecido infectado e Gênero identificado de fungos associados a Rosa do Deserto

Local	Material Vegetal	Código	Gênero
Natividade	Segmento intermediário do caule	F01	<i>Fusarium</i> sp.
Gurupi 1	Fragmento apical do caule	F02	<i>Fusarium</i> sp.
Gurupi 2	Segmento intermediário do caule	F03	<i>Fusarium</i> sp.
Gurupi 2	Fragmento seccionado do caule	F04	<i>Fusarium</i> sp.
Natividade	Fragmento seccionado do caule	F05	<i>Fusarium</i> sp.
Conceição do Araguaia	Segmento intermediário do caule	F06	<i>Fusarium</i> sp.
Conceição do Araguaia	Segmento intermediário do caule	F07	<i>Fusarium</i> sp.
Conceição do Araguaia	Segmento intermediário do caule	F08	<i>Fusarium</i> sp.
Gurupi 1	Fragmento apical do caule	F09	<i>Fusarium</i> sp.
Gurupi 1	Fragmento seccionado do caule	F10	<i>Fusarium</i> sp.
Gurupi 1	Fragmento seccionado do caule	F11	<i>Fusarium</i> sp.
Natividade	Segmento intermediário do caule	F12	<i>Neocosmospora</i> sp

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

A predominância do gênero *Fusarium* spp. pode estar relacionado a uma combinação de fatores fisiológicos da planta, e às condições ambientais do Cerrado. Os fungos do gênero *Fusarium* apresentam alta capacidade de colonização de tecidos vegetais, tanto em associação endofítica quanto patogênica, devido à ampla plasticidade fisiológica e genômica do grupo (Coleman, 2016; O'donnell et al., 2020). Essa versatilidade permite que sobrevivam como parasitas facultativos no solo e se tornem oportunistas-patogênicas quando encontram condições favoráveis, como ferimentos no caule, raízes, sob estresse hídrico, situações comuns em plantas cultivadas como ornamentais.

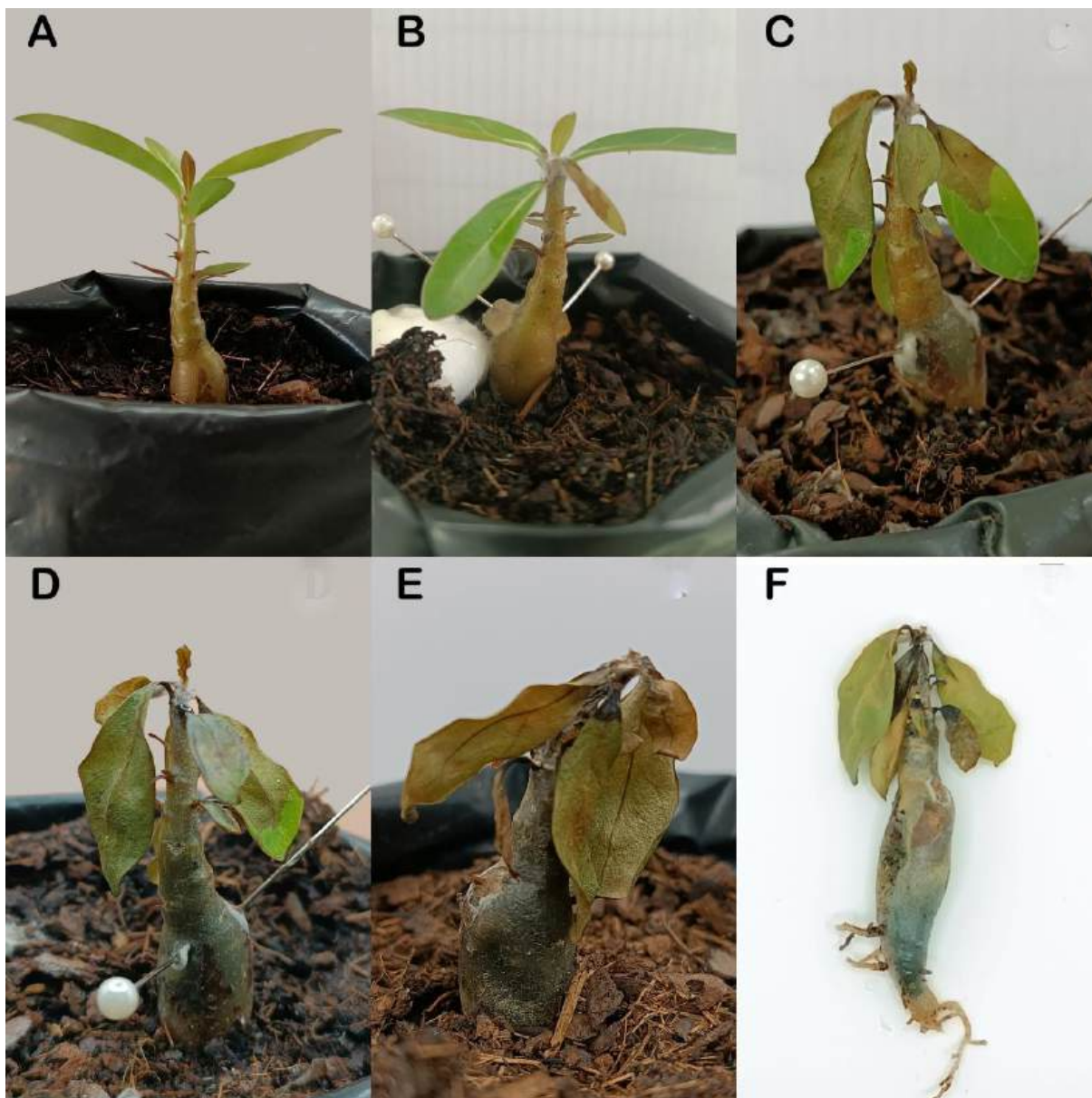
A fisiologia da Rosa-do-deserto também pode favorecer esse tipo de associação, por ser uma planta suculenta com alta concentração de açúcares e compostos fenólicos nos tecidos vasculares, ela fornece substratos ideais para fungos do gênero *Fusarium*, que possuem um conjunto de enzimas de degradação de carboidratos e compostos fenólicos (Thatcher, Kidd & Kazan, 2016; Zhang et al., 2023). Outro fator importante é às condições edafoclimáticas do Cerrado, caracterizadas por temperaturas elevadas e variações hídricas sazonais, condições que favorecem o desenvolvimento de fungos filamentosos termotolerantes, como *Fusarium*, que possuem elevada capacidade de esporulação e resistência a variações de umidade (Carter et al., 2002; Zhu et al., 2023). Essa adaptação ecológica explica, em parte, a predominância do gênero *Fusarium* isolado.

3.2 Patogenicidade dos isolados

Os resultados obtidos na avaliação da patogenicidade demonstraram que todos os isolados testados apresentaram capacidade de infectar *A. obesum*, causando sintomas característicos de podridões e murchas. Observou-se, contudo, que houve variação entre os isolados quanto ao nível de severidade, ao tipo de sintomas manifestados e à velocidade de progresso das lesões ao longo do período de avaliação. Após as 48 horas em câmara úmida, as plantas permaneciam visualmente saudáveis (Figura 2A). A clorose foliar foi um dos primeiros sintomas a surgir (Figura 2B), seguida pela murcha das folhas (Figura 2C) e pela expansão progressiva das lesões no caudex (Figura 2D). Em alguns casos, a infecção avançou rapidamente, resultando na morte das plantas (Figura 2E-F). Os fungos inoculados foram reisolados, a partir das plantas sintomáticas, analisados morfológicamente e comparados às características micromorfológicas observadas no isolamento inicial, confirmando que o microrganismo recuperado correspondia ao mesmo patógeno originalmente inoculado, validando a relação causal entre o fungo e os sintomas observados,

confirmando seu potencial como agentes causadores de doenças e completando os Postulados de Koch.

Figura 2 – Progresso da podridão do caudex em *Adenium obesum* inoculada com o isolado F12 nos dias 0 (A); 2 (B); 4 (C); 6 (D); 14 (E) e 28 (F) dias após a câmara úmida

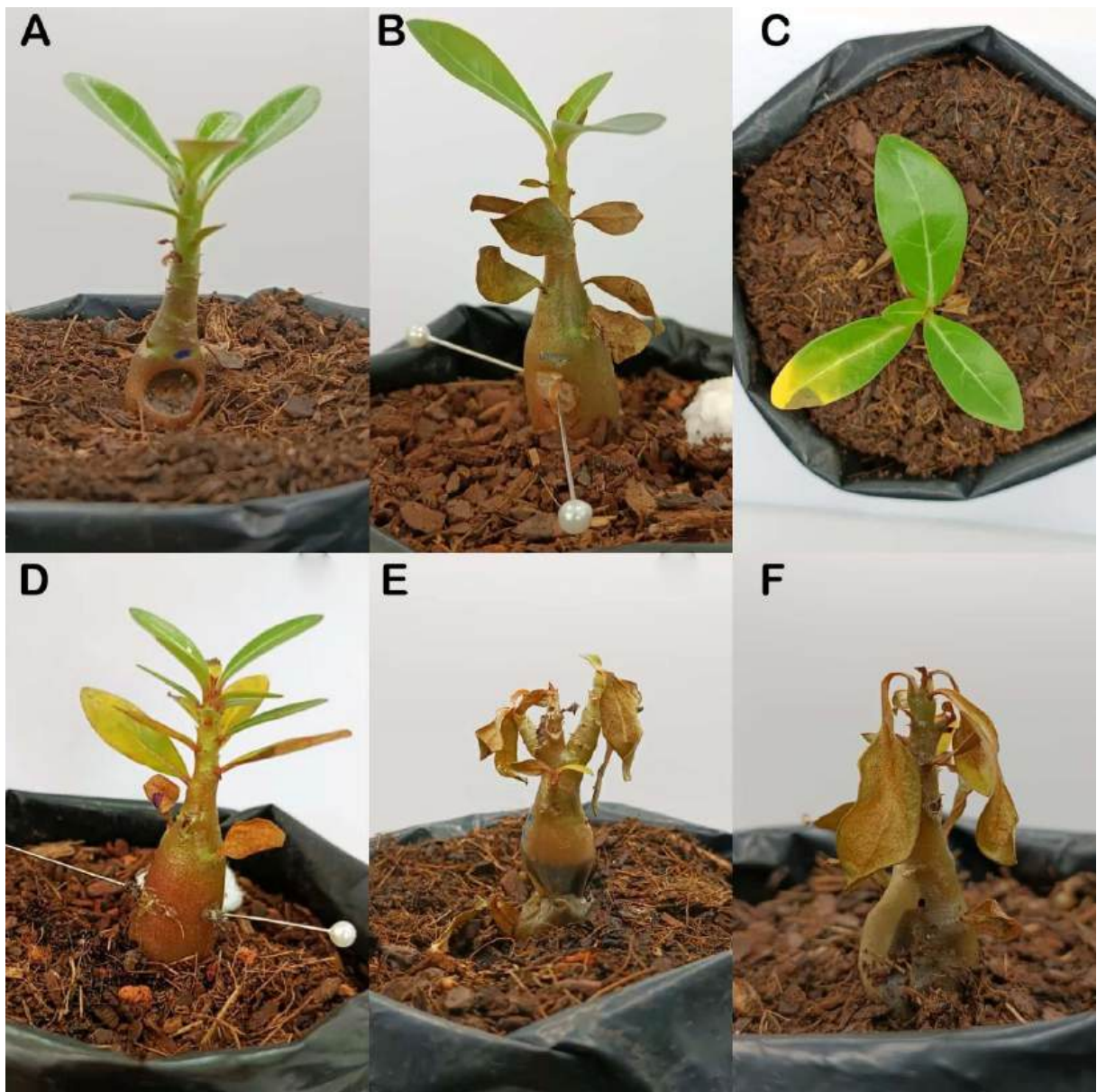


Fonte: Autor, 2025

Nos primeiros dias após a inoculação, observaram-se lesões com sintomas de podridão nos locais de inoculação do patógeno (Figura 3A), que aumentaram progressivamente. A partir de aproximadamente cinco dias após a inoculação, os sintomas tornaram-se mais variados e severos, incluindo murcha nas folhas próximas ao ponto de inoculação (Figura 3B), manchas foliar (Figura 3C), clorose foliar (Figura 3D), expansão das lesões no caudex (Figura 3E) e em casos mais avançados, morte de algumas plantas (Figura 3F). A progressão da

infecção pode ser explicada pelo comportamento de fungos do gênero *Fusarium*, que apresentam crescimento das hifas tanto intercelular quanto intracelular no córtex do caule, degradando componentes da matriz da parede celular antes de alcançar os vasos condutores (Zhu, 2023; Srivastava, 2024).

Figura 3 – Diversidade de sintomas observados em *Adenium obesum*: A) podridão no caudex; B) murcha foliar; C) clorose e mancha foliar; D) clorose e murcha das folhas; E) podridão generalizada da planta; F) necrose da planta.



Fonte: Autor, 2025.

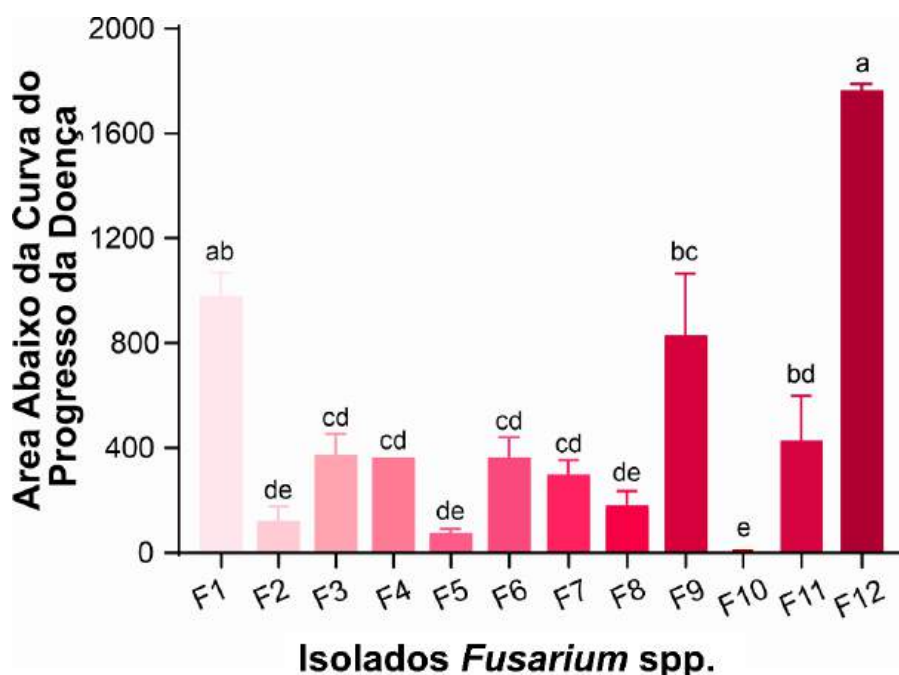
Uma vez estabelecido no xilema, o fungo alterna entre o crescimento das hifas e a produção de esporos, o que favorece sua disseminação pelo sistema vascular. Durante esse processo, ocorre obstrução dos vasos pelo acúmulo de estruturas fúngicas, que causa a

redução ou bloqueio do fluxo de seiva, levando à embolia, à perda do transporte de água e, consequentemente, ao surgimento de sintomas de murcha (Mohamed, 2019). Além da obstrução dos vasos, a produção de micotoxinas tem um importante papel na severidade dos sintomas, alguns compostos contribuem para necrose tecidual e modulam as respostas de defesa da planta, assim, aumentando os danos (De la Cruz, 2021; Giacomello, 2010).

3.3 Severidade dos isolados

A severidade dos fungos em plantas de Rosa do Deserto, estimada pela Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), apresentou variações em função dos diferentes isolados testados. Entre os isolados avaliados, os isolados F12 e F1 foi o que apresentou maior AACPD, seguido pelo isolado F9, enquanto os demais não diferiram estatisticamente entre si (Figura 4).

Figura 4 – Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença em plantas de *Adenium obesum* inoculadas com diferentes isolados de *Fusarium* spp.



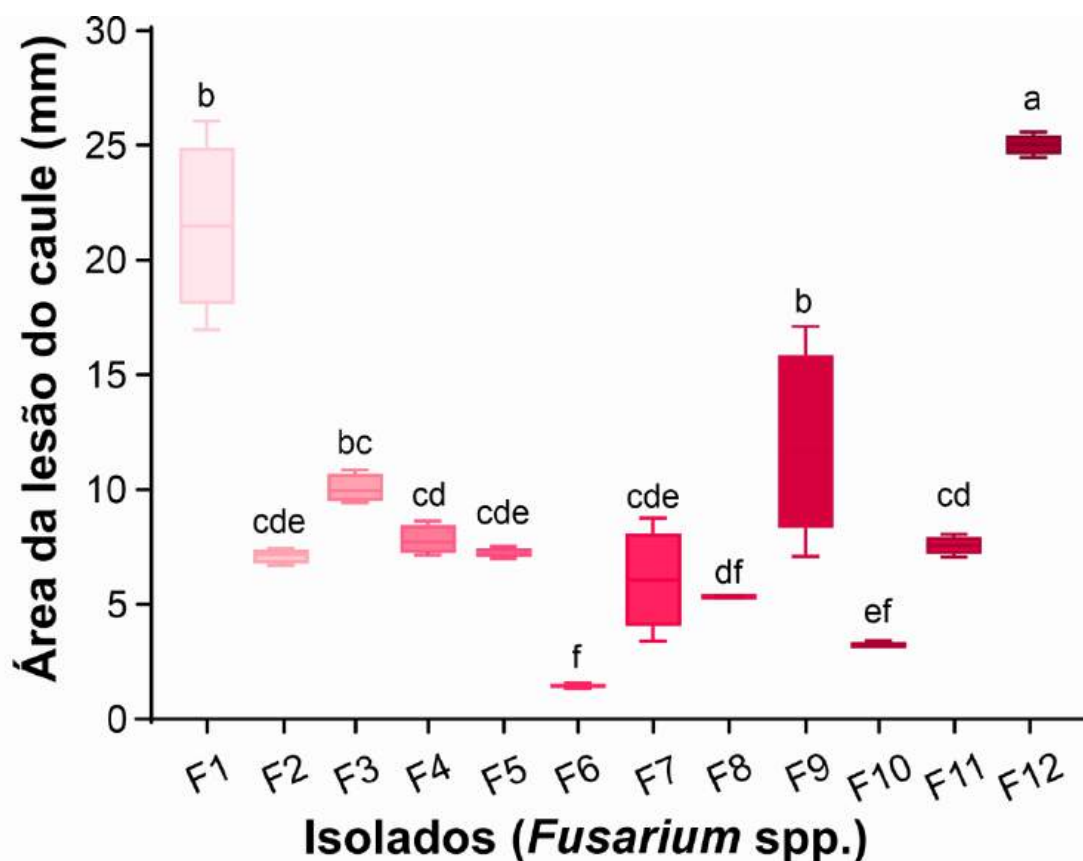
Fonte: Elaborado pelo autor, 2025

Nota: abc Médias que compartilham uma ou mais letras nas colunas não possuem diferença estatística pelo teste de Tukey (<0.05).

Além da severidade avaliada pela AACPD, também foi determinada a área média de lesão no caudex ao final do período experimental, afim de comparar diretamente a intensidade dos danos causados por cada isolado (Figura 5). A variação entre os isolados, confirmou os diferentes níveis de virulência dentro os isolados. Os isolados F1, F9 e F12 apresentaram as maiores médias de área de lesão ($21,50 \pm 2,63 \text{ mm}^2$ e $20,84 \pm 4,20 \text{ mm}^2$,

respectivamente), não diferindo estatisticamente entre si. O isolado F9 ($12,11 \pm 2,90 \text{ mm}^2$) apresentou valores intermediários. Já os isolados F6 e F10 apresentaram médias próximas de zero, mas mesmo sem lesões de podridão no caudex, ainda foram patógenos a planta.

Figura 5 – Área média de lesão (mm^2) do caudex *Adenium obesum* quando expostas a diferentes isolados de *Fusarium* spp.



Nota: abc Médias que compartilham uma ou mais letras nas colunas não possuem diferença estatística pelo teste de Kruskal-Wallis a nível de 5% de confiança.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

A variabilidade observada entre isolados de *Fusarium* spp. está relacionada, em grande parte, a diferenças entre grupos genéticos, à produção de micotoxinas e a genes associados à síntese de fatores de virulência (Carter, 2002). A produção de tricotecenos, como nivalenol e vomitoxinas, podem estar associadas à severidade da doença, visto que esses metabólitos podem provocar diversos danos às plantas, incluindo crescimento reduzido, aumento da necrose e comprometimento do desenvolvimento de sementes e plântulas, efeitos atribuídos a uma combinação de processos fisiopatológicos, como inibição da síntese proteica, indução de estresse oxidativo e perda da capacidade fotossintética (Yao, 2021; Thatcher, 2016; Desjardins, 2006).

Outro mecanismo associado à virulência é a produção de enzimas, a ação enzimática tem um papel importante na virulência de fitopatógenos, por meio da secreção de enzimas capazes de degradar polímeros da parede celular vegetal, como pectinas e hemiceluloses. Esse conjunto de hidrolases não apenas facilita a penetração e expansão do patógeno nos tecidos do hospedeiro, mas também disponibiliza nutrientes importantes para a colonização (Kang, 2002; Zhang, 2023). Enzimas degradadoras de parede celular (CWDE), como as cutinases, poligalacturonases e xilanases também aumentam a suscetibilidade das plantas à infecção colaborando com o estabelecimento da doença (Kang, 2002; Thatcher; Kidd; Kazan, 2016). Análises genômicas comparativas evidenciam que alguns os genomas sequenciados de espécies de *Fusarium* apresentam de genes que codificam diferentes classes de enzimas CWDE (Ma et al., 2010; Cuomo et al., 2007; Zhao et al., 2024). Essa diversidade molecular explica porque isolados morfologicamente semelhantes podem expressar níveis distintos de virulência e adaptação ao hospedeiro (Srivastava et al., 2024).

A origem geográfica das amostras também pode estar relacionada a essa variância, espécies de *Fusarium* podem apresentar adaptação local a determinadas condições edafoclimáticas, o que influencia na sua capacidade de infecção (Coleman, 2016; Zhu et al., 2023). Os isolados F1 e F12 foram obtidos em Natividade, enquanto o isolado F09 originou-se de Gurupi regiões que, embora pertencentes ao mesmo estado, possuem diferenças microclimáticas. Gurupi apresenta clima mais quente e seco, enquanto Natividade possui um regime pluviométrico ligeiramente mais elevado (INMET, 2025), o que pode ter favorecido a seleção de isolados mais tolerantes à umidade e, conseqüentemente, mais agressivos em condições experimentais.

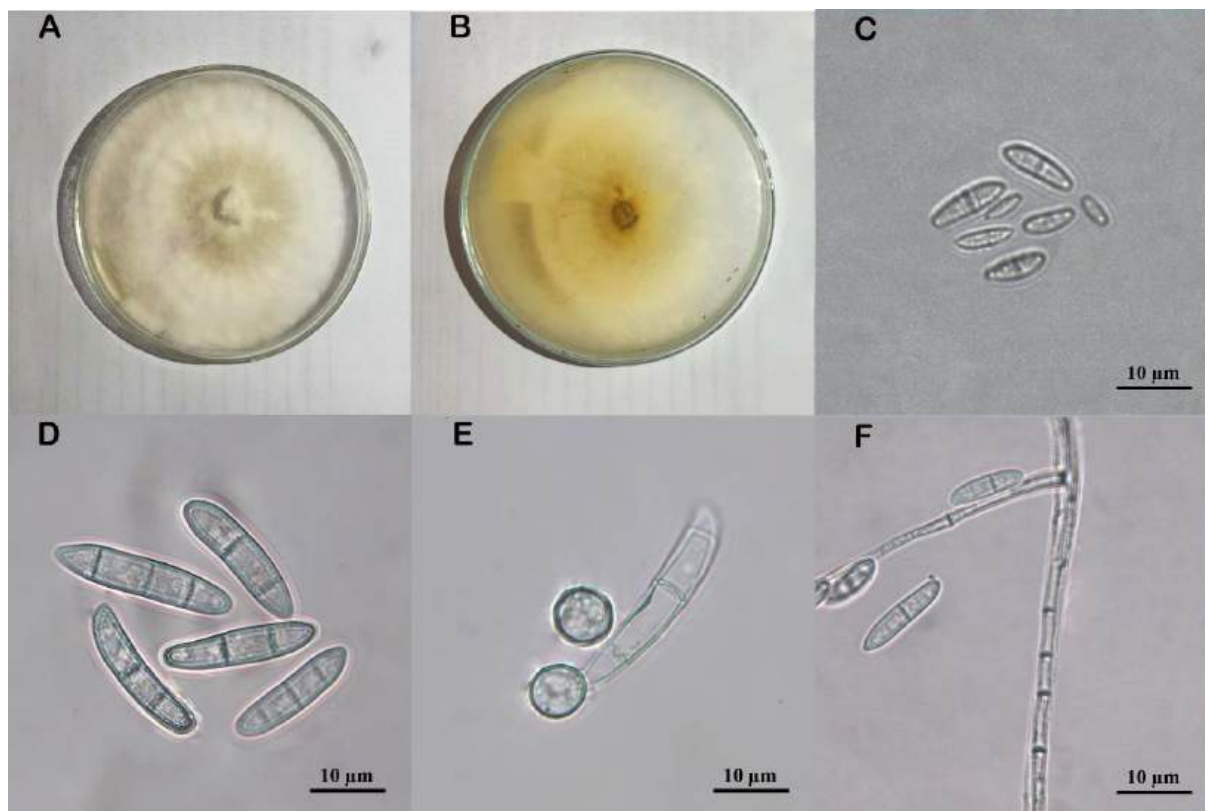
Portanto, a variação da virulência e dos sintomas observado entre os dozes isolados pode estar relacionada a uma combinação de fatores ecológicos, anatômicos e genéticos, mostrando o potencial adaptativo de *Fusarium* spp. em diferentes ambientes e tecidos vegetais.

3.4 Caracterização morfológica e molecular

A colônia do isolado F12 apresentou coloração branca (Figura 6A), com micélio amarelado no verso da placa (Figura 6B), com hifas finas hialinas septadas e ramificadas (Figura 6F), os microconídios apresentavam estrutura cilíndrica variando de 6,86 a 11,72 μm de comprimento (9,29 μm) e de 2,24 a 3,52 μm de largura (2,88 μm) e de 0 a 1 septos. (Figura 6C), os macroconídios observados apresentaram estrutura fusiforme variando de 25,85 a 50,01 μm de comprimento (50,85 μm) e de 4,22 a 7,08 μm de largura (5,65 μm) e de

3 a 5 septos (Figura 6D) e os clamidósporos apresentavam estruturas esférica a subesférica e às vezes oval com o diâmetro médio de 9,37 (Figura 6E) ($n = 50$). Características morfológicas semelhantes foram relatadas por outros autores ao descreverem isolados de *N. keratoplastica*, confirmando o padrão morfológico da espécie (Sandoval-Denis et al., 2018; Short, 2013).

Figura 6 – Aspectos morfológicos do isolado F12: (A) Colônia em vista frontal; (B) verso da colônia; (C) microconídios; (D) macroconídios; (E) clamidósporos; (F) hifas.



Fonte: Autor, 2025

As análises filogenéticas individuais foram conduzidas para os genes TUB2 e RPB2, com o objetivo de determinar a posição taxonômica do isolado F12 em relação as árvores foram construídas pelo método de Máxima Verossimilhança (Maximum Likelihood), com 1.000 repetições de bootstrap, utilizando sequências depositadas no GenBank. A espécie identificada corresponde ao táxon atualmente reconhecido como *Neocosmospora keratoplastica*, anteriormente denominada *Fusarium keratoplasticum*. Ambas as denominações se referem ao mesmo organismo, diferindo apenas quanto à classificação taxonômica adotada. O nome *Fusarium keratoplasticum* era utilizado em estudos anteriores, sobretudo antes das revisões filogenéticas recentes que reavaliaram o complexo *Fusarium solani* (FSSC). Com base em análises multilocus e reestruturações taxonômicas propostas por

Sandoval-Denis (2018), o gênero *Neocosmospora* spp. passou a englobar diversas espécies previamente incluídas em *Fusarium* spp.

Na árvore obtida para o gene TUB2 (Figura 7), o isolado F12 com alto suporte estatístico (bootstrap = 87%) composto exclusivamente por isolados de *Fusarium keratoplasticum*, demonstrando forte similaridade genética entre o isolado e membros reconhecidos dessa espécie. De forma consistente, a análise com o gene RPB2 (Figura 8) mostrou o isolado F12 novamente inserido no clado de *F. keratoplasticum*, com alto suporte de bootstrap (87%), juntamente com cepas-tipo *F. keratoplasticum* CBS 490.63T e *F. keratoplasticum* NRRL 43649.

Figura 7 – Árvore filogenética obtida a partir da análise da sequência do gene TUB2

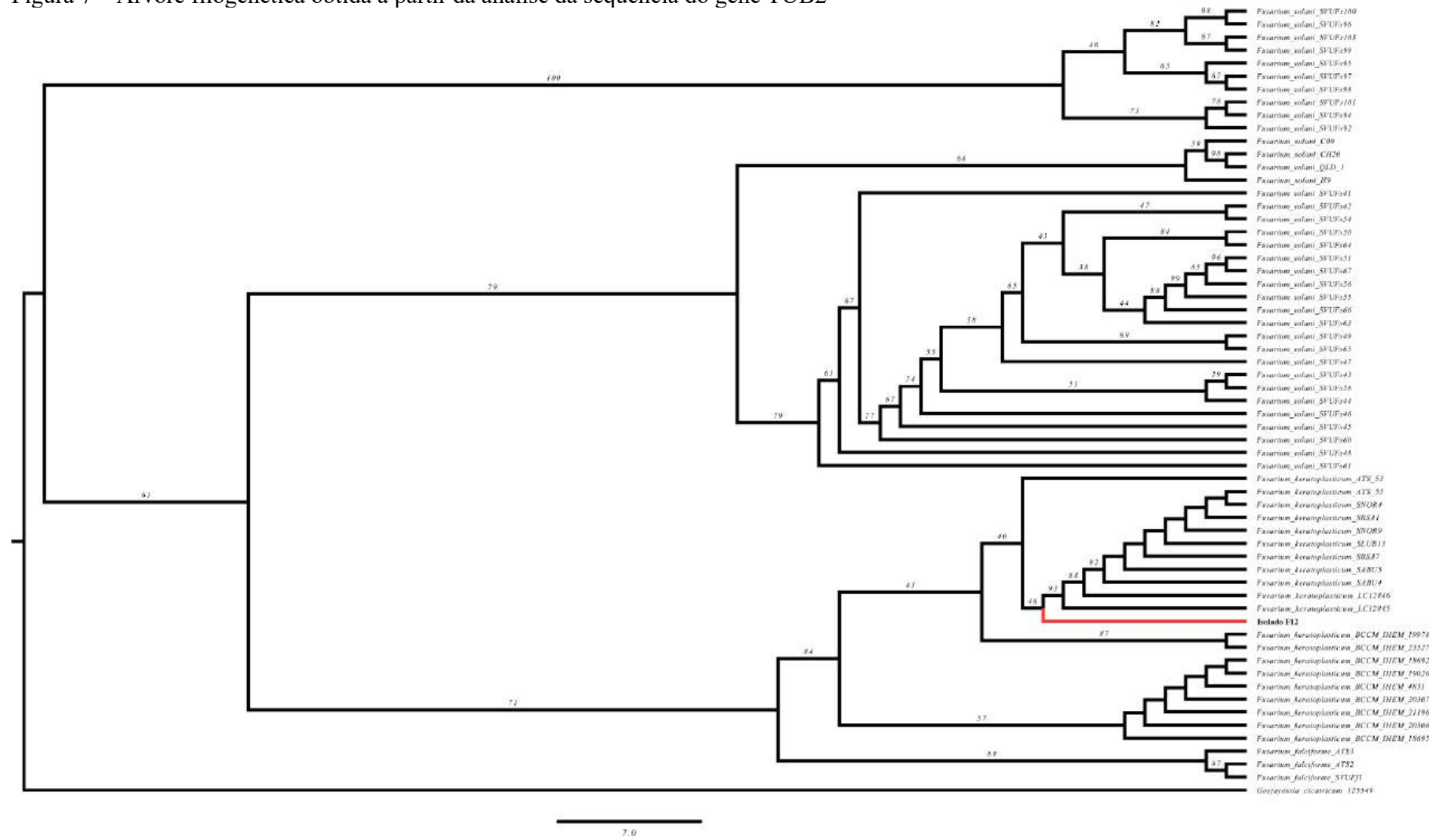
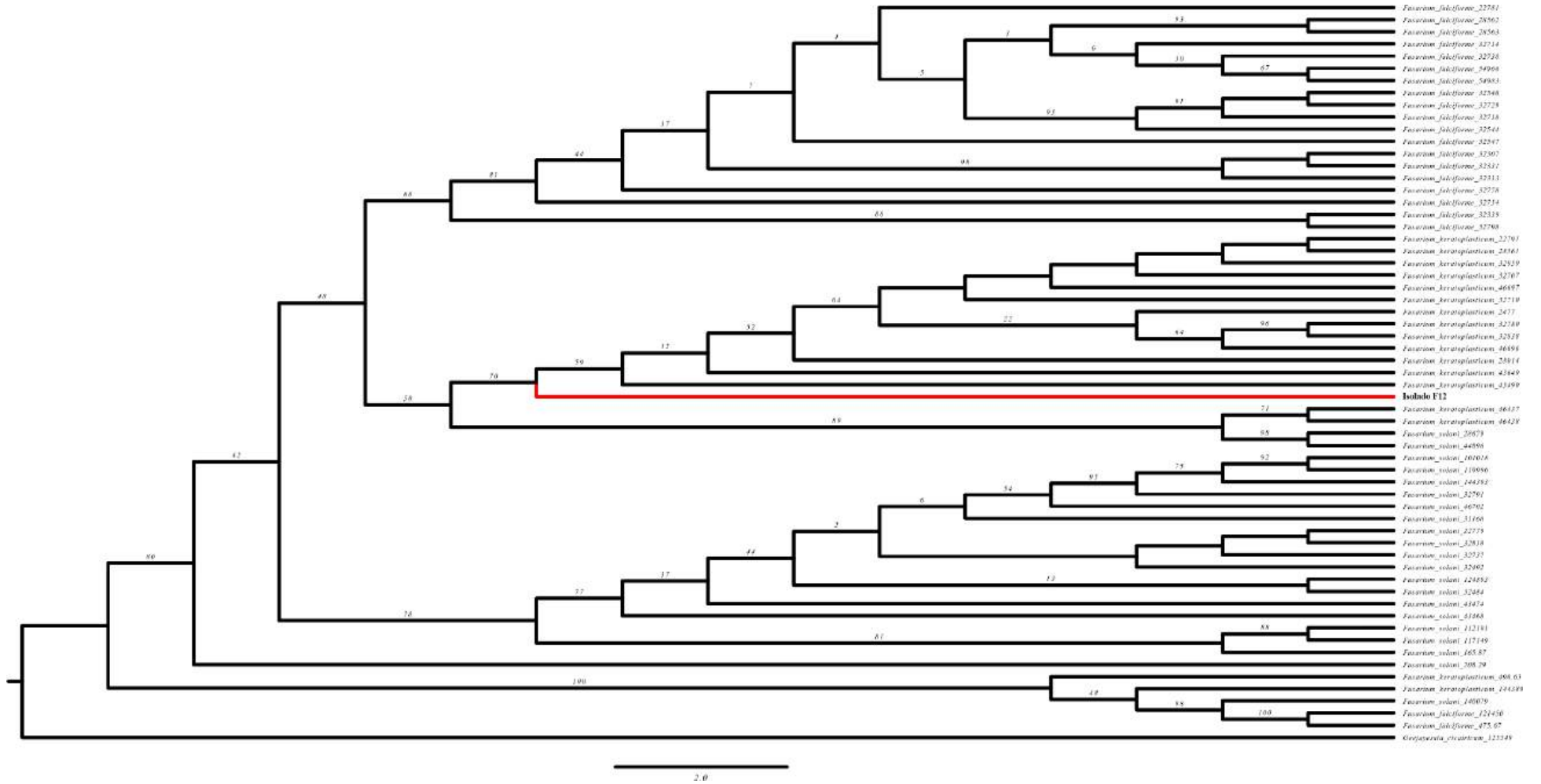


Figura 8 – Árvore filogenética obtida a partir da análise da sequência do gene RPB2



Fonte: Autor, 2025.

O agrupamento está separado de outros clados representando *F. falciforme* e *F. solani*, o que reforça a delimitação taxonômica. A congruência entre os dois marcadores analisados confirma a identidade do isolado como pertencente à espécie *Fusarium keratoplasticum* (syn. *Neocosmospora keratoplastica*), integrante do clado 2 do complexo *F. solani* (FSSC).

O *F. keratoplasticum* pertence ao complexo de espécies FSSC, um grupo conhecido por sua complexidade taxonômica e pela semelhança morfológica entre isolados, fatores que dificultam a identificação precisa das espécies. Estudos filogenéticos multilocus posicionam *F. keratoplasticum* no clado 2 do FSSC, sendo atualmente reconhecido como uma espécie taxonomicamente distinta dentro do complexo (Zhang et al., 2006; Short et al., 2011; Coleman, 2016; O'Donnell et al., 2020).

Até o momento, *N. keratoplastica* havia sido descrita e relatado como agente etiológico de doenças em diferentes culturas agrícolas. No México, foi identificado causando sintomas de podridão radicular e murcha em morangueiros (Vega-Gutiérrez et al., 2023). Relatos semelhantes foram obtidos na Espanha, onde o patógeno foi associado à ocorrência de podridão de frutos e lesões no caule em abóboras (Pérez-Hernández et al., 2020) e a murcha e podridão radicular em culturas de melancia e melão (González, 2020).

Até a presente data, não há registros na literatura científica descrevendo *N. keratoplastica* associada a sintomas de murcha e podridão em *A. obesum*, ampliando o espectro de hospedeiros conhecidos para o fungo e ressalta sua capacidade de adaptação a diferentes espécies vegetais. O isolamento dessa espécie em uma planta ornamental amplamente cultivada e comercializada no Brasil, indica uma nova rota de infecção e um potencial risco fitossanitário para o setor ornamental. Como *Adenium obesum* é propagada frequentemente por estacas e mantida em substratos orgânicos compartilhados, há risco de disseminação do patógeno por meio de material propagativo contaminado, o que pode facilitar sua introdução em coleções e viveiros comerciais.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível identificar e caracterizar fungos associados a sintomas de murcha e podridão em *Adenium obesum*, com destaque para a predominância do gênero *Fusarium* spp. Os ensaios de patogenicidade confirmaram o potencial fitopatogênico dos isolados, evidenciando diferentes níveis de virulência entre eles. A caracterização molecular do isolado F12 revelou sua identidade como *Neocosmospora keratoplastica* (syn. *Fusarium keratoplasticum*), representando, até o momento, o primeiro relato mundial dessa espécie em *A. obesum*. Esses resultados ampliam o conhecimento sobre a etiologia de doenças em plantas ornamentais. Além de reforçar a necessidade de monitoramento fitossanitário na produção de rosa-do-deserto e indicam potenciais riscos de disseminação do patógeno em viveiros e coleções ornamentais.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009. 399 p. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/lfd/a/arquivos-publicacoes-laboratorio/regras-para-analise-de-sementes.pdf>
- CARTER, J. P., Rezanoor, H. N., Holden, D., Desjardins, A. E., Plattner, R. D., & Nicholson, P. Variation in pathogenicity associated with the genetic diversity of *Fusarium graminearum*. **European Journal of Plant Pathology**, 2002. DOI: 10.1023/A:1019921203161.
- COLEMAN, J. J. The *Fusarium solani* species complex: ubiquitous pathogens of agricultural importance. **Molecular Plant Pathology**, v. 17, n. 2, p. 146–158, 2016. DOI: 10.1111/mpp.12289.
- CUOMO, C. A., Guldener, U., Xu, J. R., Trail, F., Turgeon, B. G., Di Pietro, A., & Kistler, H. C. The *Fusarium graminearum* genome reveals a link between localized polymorphism and pathogen specialization. **Science**, v. 317, n. 5843, p. 1400-1402, 2007. DOI: 10.1126/science.1143708.
- CUSTÓDIO, Fábio Alex; PEREIRA, Olinto Liparini. First report of *Neocosmospora ipomoeae* causing basal stem rot on *Adenium obesum*. **Crop Protection**, v. 164, p. 106138, 2023. doi: 10.1016/j.cropro.2022.106138.
- DE CARVALHO, Renata Rodrigues; DOS SANTOS MAGALHÃES, Cledson; RANDAU, Karina Perrelli. Revisão dos aspectos botânicos, químicos e farmacológicos de *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. e28211225843-e28211225843, 2022.
- DE LA CRUZ, Marco Tulio Solano et al. Understanding the Molecular Bases of the Endophytic/Pathogenic Behavior of *Fusarium oxysporum* Interacting With *Vanilla planifolia*. **Preprints.org**, v. 1, 8 jun. 2021. DOI: 10.20944/preprints202106.0214.v1.
- DEEPAK, S.; PADMAPRIYA, S.; SATHIYAMURTHY, V. A.; RENUKA, R.; SANTHANAKRISHNAN, V. P. Genetic diversity and morphological characterization of different *Adenium* genotypes. *Plant Science Today* [Internet], v. 11, n. 3, 20 set. 2024. Disponível em: <https://horizonpublishing.com/journals/index.php/PST/article/view/4439>.
- DESJARDINS, Anne E. *Fusarium* Mycotoxins: Chemistry, Genetics and Biology. St. Paul, MN: American Phytopathological Society, 2006. ISBN 978-0890543351.
- DIMMITT, Mark; EDWARDS, Taylor. *Adenium* Taxonomy and Nomenclature: Progress Creates More Questions. **Cactus and Succulent Journal**, v. 93, n. 4, p. 252-266, 2021. DOI: 10.2985/015.093.0401.
- DOMINGUES, RICARDO JOSÉ; TÖFOLI, JESUS GUERINO. Doenças fúngicas da roseira: sintomatologia, etiologia e controle. 2023.
- EGGLI, Urs (Ed.). **Illustrated handbook of succulent plants: dicotyledons**. Springer Science & Business Media, 2002.

EL-TAHER, A. M., Gendy, A. E. N. G. E., Alkahtani, J., Elshamy, A. I., & Abd-ElGawad, A. M. . Taxonomic implication of integrated chemical, morphological, and anatomical attributes of leaves of eight Apocynaceae taxa. **Diversity**, 12(9), 334, 2020. DOI: 10.3390/d12090334.

FORSSKÅL, Peter. **Petri Forskål Flora Aegyptiaco-Arabica sive descriptiones plantarum, quas per Aegyptum inferiorem et Arabiam felicem detexit**. Möller, 1775.

Geiser, D. M., Al-Hatmi, A. M., Aoki, T., Arie, T., Balmas, V., Barnes, I., ... & Viljoen, A. Phylogenomic analysis of a 55.1-kb 19-gene dataset resolves a monophyletic *Fusarium* that includes the *Fusarium solani* species complex. **Phytopathology**®, v. 111, n. 7, p. 1064-1079, 2021.

GIACOMELLO, Francesca. *A Fusarium graminearum* PG is required for virulence during wheat infection. 2010. 70 f. Tese (Doutorado em Protezione delle Colture) — Università degli Studi di Padova, Padova, 2010. Disponível em: <https://tesidottorato.depositolegale.it/handle/20.500.14242/110561>

GONZÁLEZ, V., García-Martínez, S., Flores-León, A., Ruiz, J. J., Picó, B., & Garcés-Claver, A. *Neocosmospora keratoplastica*, a relevant human fusarial pathogen is found to be associated with wilt and root rot of muskmelon and watermelon crops in Spain: Epidemiological and molecular evidences. **European Journal of Plant Pathology**, v. 156, n. 4, p. 1189-1196, 2020. DOI: 10.1007/s10658-020-01931-z.

HESS, JC von; HUNGER, A.; REICHSTEIN, T. Die Glycoside von *Adenium Boehmianum* Schinz. Glykoside und Aglykone, 101. Mitteilung. **Helvetica Chimica Acta**, v. 35, n. 7, p. 2202-2226, 1952.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa – BDMEP. **Brasília**, DF: INMET, 2025. Disponível em: <https://bdmep.inmet.gov.br/> . Acesso em: 08 jun. 2025.

JESUS de, J. M. I., RODRIGUES, A. B. L., DE PAULA, K. L. M., & DA CUNHA, M. G. Pestalotiopsis microspora causes leaf spot on Adenium obesum. **Journal of Phytopathology**, v. 170, n. 6, p. 408-413, 2022.

JIA, M., FAN, Q., YANG, Z. S., WANG, Y. B., WANG, X. H., & ZENG, W. B. Molecular and Morphological Evidence Reveals Four New Neocosmospora Species from Dragon Trees in Yunnan Province, China. **Journal of Fungi**, v. 11, n. 8, p. 571, 2025.

KANG, Z.; BUCHENAUER, H. Studies on the infection process of *Fusarium culmorum* in wheat spikes: Degradation of host cell wall components and localization of trichothecene toxins in infected tissue. **European Journal of Plant Pathology**, v. 108, n. 7, p. 653-660, 2002. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1020627013154>

KIYAN, V., Smagulova, A., Kovenskiy, A., Bekenova, A., & Uakhit, R. First report of stem rot of *Adenium obesum* and leaf spot of *Persea americana* caused by *Aspergillus niger* in Kazakhstan. **Plant Disease**, v. 107, n. 9, p. 2849, 2023. DOI: 10.1094/PDIS-02-23-0202-PDN.

MAHESHWARI, Dinesh K.; MAHESHWARI, Rinaudo; RINAUDO. **Endophytes: biology and biotechnology**. New York, NY, USA: Springer, 2017. DOI: 10.1007/978-3-319-66541-2

MCBRIDE, K., HENNY, R. J., CHEN, J., & MELLICH, T. A. Effect of light intensity and nutrition level on growth and flowering of *Adenium obesum* 'Red' and 'Ice Pink'. **HortScience**, v. 49, n. 4, p. 430-433, 2014.

MCMILLAN JR, R. T.; GRAVES, W. R.; LEAHY, R. M. First report of *Aristastoma* leaf spot on desert rose. **Plant Disease**, v. 81, n. 8, p. 960-960, 1997.

MOHAMED, R. A.; ELSALAHY, H.; AL-BEDAK, O. A. Rapid histochemical staining method visualizing the role of *Fusarium oxysporum* catalase in xylem embolism formation and lupine wilt. **J Microbiol Exp**, v. 7, n. 4, p. 189-197, 2019. DOI: 10.15406/jmen.2019.07.00259

MOURÃO, D. S. C.; HAN, J. S.; OSÓRIO, P. R. A.; ARAÚJO, S. H. C.; LIMA, L. R.; SANTOS, G. R. Potencial fungitóxico dos óleos essenciais de plantas do cerrado no controle dos fitopatógenos *Curvularia lunata* e *Rhizoctonia solani*. **Peer Review**, v. 5, n. 15, p. 112-127, 2023.

NUÑEZ-GARCÍA, P. R., SALAZAR-MESTA, R. J., CAMACHO-TAPIA, M., VIEIRA, W. A., CONTRERAS-SOTO, M. B., & TOVAR-PEDRAZA, J. M. First worldwide record of *Colletotrichum siamense* and *Colletotrichum truncatum* causing leaf anthracnose on desert rose (*Adenium obesum*). **Journal of Phytopathology**, v. 172, n. 2, p. e13296, 2024.

O'DONNELL, Kerry; WHITAKER, Briana K.; LARABA, Imane; PROCTOR, Robert H.; BROWN, Daren W.; BRODERS, Kirk; KIM, Hye-Seon; McCORMICK, Susan P.; BUSMAN, Mark; AOKI, Takayuki; TORRES-CRUZ, Terry J.; GEISER, David M. DNA sequence-based identification of *Fusarium*: a work in progress. **Plant Disease**, v. 104, n. 10, p. 2824–2849, 2020. DOI: 10.1094/PDIS-09-21-2035

PÉREZ-HERNÁNDEZ, A., Rocha, L. O., Porcel-Rodríguez, E., Summerell, B. A., Liew, E. C., & Gómez-Vázquez, J. M. Pathogenic, morphological, and phylogenetic characterization of *Fusarium solani* f. sp. cucurbitae isolates from cucurbits in Almería Province, Spain. **Plant disease**, 104(5), 1465-1476, 2020. DOI: 10.1094/PDIS-09-19-1954-RE

ROEMER, J. J.; SCHULTES, J. A. c. von Linne, *Systema Vegetabilinum*, Vol. 4. 1819.

RZEPECKY, Alain. *Adenium dhofarensense* Rzepecky sp. nov. a long-overlooked species from the central-southern part of the Arabian Peninsula. **Cactus and Succulent Journal**, v. 87, n. 3, p. 129-135, 2015

SANDOVAL-DENIS, M.; CROUS, Pedro Willem. Removing chaos from confusion: assigning names to common human and animal pathogens in *Neocosmospora*. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 41, n. 1, p. 109-129, 2018. DOI: 10.3767/persoonia.2018.41.06.

SANDOVAL-DENIS, M.; LOMBARD, L.; CROUS, Pedro Willem. Back to the roots: a reappraisal of *Neocosmospora*. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 43, n. 1, p. 90-185, 2019.

SETIYANTO, A. E. R., ZULFATIM, H. S., SARI, S. T. P., & KRISNAWATI, D. Ethnobotany of *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. &Schult.: A Review. **Biotropika: Journal of Tropical Biology**, v. 12, n. 2, p. 87-94, 2024

- SHORT, D. P. G. et al. Systematics of key phytopathogenic *Fusarium* species: current status and future challenges. **Fungal Genetics and Biology**, v. 48, n. 9, p. 724–731, 2011. DOI: 10.1016/j.fgb.2011.03.001.
- SHORT, D. P., O'DONNELL, K., THRANE, U., NIELSEN, K. F., ZHANG, N., JUBA, J. H., & GEISER, D. M. Phylogenetic relationships among members of the *Fusarium solani* species complex in human infections and the descriptions of *F. keratoplasticum* sp. nov. and *F. petroliphilum* stat. nov. **Fungal Genetics and Biology**, v. 53, p. 59-70, 2013. DOI: 10.1016/j.fgb.2013.01.004.
- SOMERA, A., Gomes, F. R., Ragagnin, A. L. S. L., Silveira-Neto, A. N., Hurtado-Salazar, A., Cruz, S. C. D. S., ... & Kuster, V. C. Fungus gnats (Diptera: Sciaridae) damage the desert rose (*Adenium obesum* Forssk. Roem. & Schult) crop in Jataí-Goiás, Brazil. **Ciência Rural**, v. 54, n. 11, p. e20230396, 2024. DOI: 10.1016/j.fgb.2013.01.004.
- SOUZA, M. K. H., Marques, M. L. da S., Pereira, A. S. F., Sousa, G. B., Lima, L. E. R. D., Martins, A. L. da S., Rangel, W. de M., & Brioso, P. S. (2024). Estratégias sustentáveis no controle da gomose em rosa do deserto. **Contribuciones a Las Ciencias Sociales**. <https://doi.org/10.55905/revconv.17n.1-475>
- SRIVASTAVA, V., Patra, K., Pai, H., Aguilar-Pontes, M. V., Berasategui, A., Kamble, A. & Redkar, A.. Molecular dialogue during host manipulation by the vascular wilt fungus *Fusarium oxysporum*. **Annual review of phytopathology**, v. 62, n. 1, p. 97-126, 2024. DOI: 10.1146/annurev-phyto-021722-034823.
- SURADINATA, Yayat Rochayat; AMALIA, Adinda Cikal; NURAINI, Anne. Pengaruh pemangkasan terhadap pertumbuhan: percabangan dan pembesaran bonggol tiga kultivar kamboja Jepang (*Adenium arabicum*). **Kultivasi**, v. 16, n. 2, 2017. DOI: 10.24198/kultivasi.v16i2.11768.
- THATCHER, Louise F.; KIDD, Brendan N.; KAZAN, Kemal. Belowground defence strategies against *Fusarium oxysporum*. In: **Belowground defence strategies in plants**. Cham: Springer International Publishing, 2016. p. 71-98. DOI:10.1007/978-3-319-42319-7_4
- VEGA-GUTIÉRREZ, T. A., López-Orona, C. A., Molina-Cárdenas, L., López-Urquidez, G. A., Payán-Arzapalo, M. A., & Tirado-Ramírez, M. A. First report of *Fusarium keratoplasticum* causing strawberry root rot in Sinaloa, Mexico. **Plant Disease**, 107(9) p, 2879, 2023. DOI: 10.1094/PDIS-10-22-2441-PDN
- YAO, Jinai et al. *Fusarium oxysporum* is the pathogen responsible for stem rot of the succulent plant *Echeveria* 'Perle von Nürnberg' and observation of the infection process. **European Journal of Plant Pathology**, v. 159, n. 3, p. 555-568, 2021. DOI: 10.1007/s10658-020-02186-4.
- ZHANG, N. et al. Members of the *Fusarium solani* species complex that cause infections in both humans and plants are common in the environment. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 6, p. 2186–2190, 2006. DOI: 10.1128/JCM.00120-06.
- ZHANG, W., Jiménez-Jiménez, Á., Capellades, M., Rencoret, J., Kashyap, A., & Coll, N. S. Determination of de novo suberin-lignin ferulate deposition in xylem tissue upon vascular pathogen attack. In: **Xylem: Methods and Protocols**. New York, NY: Springer US, 2023. p. 117-127. DOI: 10.1007/978-1-0716-3477-6_9

ZHU, Y., Abdelraheem, A., Cooke, P., Wheeler, T., Dever, J. K., Hake, K., ... & Zhang, J. Comparative analysis of infection process in Upland cottons differing in resistance to *Fusarium wilt* caused by *Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum* race 4. **Crop Science**, 63(3), 1330-1343, 2023. DOI: 10.1094/PHYTO-05-21-0203-R

CAPÍTULO II: ÓLEOS ESSENCIAIS COMO FONTES DE MOLÉCULAS NO CONTROLE DE *Neocosmospora keratoplastica*. *in vitro*, *in vivo* e *in sílico*.

RESUMO

Doenças causadas por fungos representam uma das principais limitações fitossanitárias na produção de *Adenium obesum* (rosa-do-deserto), favorecendo a busca por alternativas sustentáveis de controle. Nesse contexto, óleos essenciais (OEs) de plantas destacam-se por seu potencial antifúngico devido à presença de metabólitos secundários bioativos. Este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica de diferentes óleos essenciais sobre o crescimento micelial de *Neocosmospora keratoplastica* associados à podridão do caudex em *A. obesum*. Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação e caracterizados quimicamente por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). A atividade antifúngica foi avaliada *in vitro* por meio de ensaios de crescimento micelial em meio BDA suplementado com diferentes concentrações dos OEs. Os resultados demonstraram que a atividade antifúngica variou entre os óleos avaliados e entre as concentrações testadas. O óleo essencial de *Ocimum tenuiflorum* destacou-se por apresentar maior capacidade de inibição do crescimento micelial, promovendo redução no desenvolvimento do patógeno. A análise química revelou a predominância de compostos fenólicos e terpenoides, frequentemente associados à atividade antifúngica, como eugenol, timol e linalol, os quais podem atuar na desestabilização de membranas celulares fúngicas e na inibição de processos metabólicos essenciais. Os achados reforçam o potencial dos óleos essenciais como agentes naturais no manejo de fitopatógenos associados à rosa-do-deserto, especialmente *O. tenuiflorum*, que demonstrou ação antifúngica mais consistente. Esses resultados contribuem para o desenvolvimento de estratégias alternativas de controle, com menor impacto ambiental.

Palavras-chaves: *Adenium obesum*. rosa do deserto. Atividade antifúngica.

ABSTRACT

Diseases caused by fungi represent one of the main phytosanitary constraints in the production of *Adenium obesum* (desert rose), encouraging the search for sustainable control alternatives. In this context, plant essential oils (EOs) stand out due to their antifungal potential associated with the presence of bioactive secondary metabolites. This study aimed to evaluate the antifungal activity of different essential oils on the mycelial growth of *Neocosmospora keratoplastica* associated with caudex rot in *A. obesum*. Essential oils were obtained by hydrodistillation and chemically characterized using gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS). Antifungal activity was evaluated in vitro through mycelial growth assays on PDA medium supplemented with different EO concentrations. The results showed that antifungal activity varied among the evaluated oils and across the tested concentrations. The essential oil of *Ocimum tenuiflorum* stood out for exhibiting the highest inhibition of mycelial growth, significantly reducing pathogen development. Chemical analysis revealed a predominance of phenolic and terpenoid compounds commonly associated with antifungal activity, such as eugenol, thymol, and linalool, which may act by destabilizing fungal cell membranes and inhibiting essential metabolic processes. These findings reinforce the potential of essential oils as natural agents in the management of phytopathogens associated with desert rose, particularly *O. tenuiflorum*, which demonstrated the most consistent antifungal activity. The results contribute to the development of alternative control strategies with lower environmental impact.

Keywords: *Adenium obesum*. desert rose. antifungal activity.

1 INTRODUÇÃO

As doenças fúngicas estão entre os principais desafios fitossanitários na produção de plantas ornamentais. Esses patógenos são conhecidos por sua capacidade de persistir no solo e infectar uma ampla gama de hospedeiros, infecções que comprometem não apenas o desenvolvimento e a sobrevivência das plantas, mas também sua qualidade estética, atributo essencial para o valor comercial de espécies ornamentais. Espécies de *Neocosmospora*, têm sido associadas a perdas em cultivos ornamentais e outras plantas de interesse comercial, como relatado para diferentes hospedeiros em sistemas agrícolas e ornamentais (GWINN et al., 2022; KAMALI-SARVESTANI et al., 2022).

A ampla distribuição desses patógenos também é evidenciada por levantamentos realizados na Europa, onde diversos isolados de *Fusarium* e *Neocosmospora* foram identificados como agentes causais de doenças em múltiplas espécies ornamentais, reforçando sua relevância fitossanitária no setor florícola (GUARNACCIA et al., 2019).

O crescente interesse por insumos de origem vegetal tem impulsionado a investigação de óleos essenciais como fontes de moléculas bioativas com potencial aplicação em um controle mais sustentável desses patógenos. A complexidade química dos óleos essenciais está diretamente relacionada à sua eficácia biológica. Essas substâncias consistem em misturas de compostos voláteis, predominantemente monoterpenos, sesquiterpenos e fenóis, cuja atuação combinada potencializa seus efeitos antimicrobianos (TULLIO, 2016; STANKOVIĆ et al., 2018).

Do ponto de vista ambiental, os óleos essenciais apresentam vantagens em relação aos pesticidas sintéticos. Em geral, esses compostos naturais demonstram menor toxicidade para organismos não-alvo, contribuindo para a redução de riscos a espécies benéficas, como polinizadores e inimigos naturais de pragas (COSTA et al., n.d.). Além disso, por serem constituídos por misturas complexas de metabólitos, os óleos essenciais dificultam o desenvolvimento de resistência por parte das pragas, o que favorece sua eficácia e viabilidade em programas de manejo a longo prazo (SRIVASTAVA et al., 2014).

Apesar do crescente número de pesquisas sobre o uso de óleos essenciais no controle de fitopatógenos, ainda são limitadas as informações sobre sua eficácia contra *Neocosmospora keratoplastica*. Diante disso, este capítulo teve como objetivo avaliar o potencial de óleos essenciais como fontes de moléculas bioativas no controle de *Neocosmospora keratoplastica*, por meio de abordagens integradas *in vitro*, *in vivo* e *in sílico*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Coleta das plantas e obtenção do óleo essencial (OE)

Para a realização do *screening* inicial, foram selecionadas vinte e quatro plantas que, de acordo com o conhecimento popular, apresentam atividade antifúngica, sendo o material vegetal coletado na região de Gurupi, Tocantins, Brasil. Após a coleta, o material foi transportado para o laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal do Tocantins (UFT), onde se procedeu à extração do óleo essencial (Seixas et al., 2012 com adaptações). Inicialmente, o material foi submetido à desidratação à temperatura ambiente por um período de cinco dias. Em seguida, o material seco foi triturado em moinho de facas do tipo Willey. Para a hidrodestilação, foram utilizados 200g do material vegetal moído, adicionados a 1L de água destilada em balão de fundo redondo com capacidade de 2L. O sistema foi submetido ao aquecimento por 2h em manta aquecedora, acoplada a um destilador do tipo Clevenger e a um condensador refrigerado por circulação contínua de água (Guimarães et al., 2008 com adaptações). Ao final do processo, o óleo essencial foi coletado na forma de sobrenadante, transferido para frasco âmbar e armazenado sob refrigeração a 4 °C, permanecendo nessas condições até sua utilização nas análises.

3.3 Análises *in vitro*

3.3.1 Atividades antifúngica *in vitro* dos óleos essenciais micélio de *N. keratoplastica*

Inicialmente, foi realizada um *screening* utilizando os óleos essenciais na concentração de 5%, com o objetivo de identificar amostras que apresentassem inibição parcial ou total do crescimento micelial de *N. keratoplastica*. Para avaliar o efeito do óleo essencial sobre o crescimento micelial do patógeno, foram pipetadas alíquotas de 200 µL de solução (óleo essencial a 5% + Dimetilsulfóxido (DMSO) a 2% + tween 20 a 1% + Água destilada) distribuídas uniformemente sobre a superfície do meio de cultura em placas de Petri (90 mm), com o auxílio de uma alça do tipo Drigalsky. Em seguida, um disco de micélio-ágar com 5 mm de diâmetro foi inoculado no centro de cada placa. As placas foram incubadas em câmara do tipo BOD, a 25 °C, por um período de 10 dias. As avaliações do crescimento micelial foram realizadas a cada dois dias (2, 4, 6, 8 e 10 dias), por meio da mensuração do diâmetro da colônia com paquímetro digital. Para isso, foram traçados dois eixos ortogonais entre si, passando pelo centro da placa, sendo o crescimento micelial expresso pela média aritmética dessas medidas. Como controle positivo, foi utilizado o fungicida comercial tiofanato metílico, na concentração de 20 mg/mL, enquanto o controle negativo consistiu na aplicação

da solução de água, tween e DMSO. O óleo essencial que apresentou a maior inibição do crescimento micelial na concentração de 5% foi posteriormente avaliado em concentrações variando de 1 a 10%, seguindo a mesma metodologia empregada no *screening* inicial.

A partir das avaliações realizadas, foram calculados a Inibição do Crescimento Micelial (ICM). O ICM foi determinado por meio da equação 1, conforme metodologias propostas por Gomes (2002) e Bastos (1997), respectivamente.

$$ICM (\%) = \frac{[Diametro da testemunha - Diâmetro do tratamento]}{Diametro da testemunha} \quad Eq.(1)$$

3.4 Análises *in vivo*

3.4.1 Toxicidade do óleo essencial em plântulas de *Adenium obesum*

Em condições de casa de vegetação, foi conduzido o teste de fitotoxicidade do óleo essencial. Para o experimento, as sementes foram semeadas em bandejas com areia autoclavadas, após a emergência, as plantas foram transferidas para sacos de polietileno 35x15 com substrato comercial, irrigadas diariamente por um período de 90 dias. As soluções (óleo essencial + DMSO a 2% + tween 20 a 1% + Água destilada) foram aplicadas nas concentrações 1, 2.5, 5 e 7.5 % (10 µL/mL, 25 µL/mL, 50 µL/mL e 75 µL/mL, respectivamente) com o auxílio de borrifadores manuais, pulverizando-se 2 mL por planta. Os tratamentos foram comparados a uma planta sadia (irrigada apenas com água). As avaliações foram realizadas 24 horas após a aplicação dos tratamentos, considerando o grau de intensidade da fitotoxicidade, conforme escala adaptada de Dequech et al. (2008), Freitas et al. (2009) e Cogliatti et al. (2011). A escala foi baseada na presença ou ausência de clorose e necrose nas folhas ou plantas, sendo atribuídos os seguintes valores: 0: ausência de fitotoxicidade; 1–25%: necrose leve da folha ou clorose leve da planta; 26–50: necrose moderada da folha ou clorose moderada da planta; 51–75: necrose intensa da folha ou clorose intensa da planta; e 76–100: murcha e ressecamento da planta.

3.4.2 Controle preventivo e curativo do óleo essencial

A partir do teste de fitotoxicidade, foram identificadas as concentrações seguras do óleo essencial para aplicação nas plantas, ou seja, aquelas que não apresentaram efeitos tóxicos. As concentrações consideradas seguras foram de 10, 20, 30, 40 e 50 µL/mL. Para a avaliação do efeito preventivo do OE, foram adotadas as mesmas condições experimentais utilizadas no teste de fitotoxicidade. No ensaio preventivo, 2 mL de cada solução foram

previamente pulverizados sobre as plantas e, após um intervalo de duas horas, foram inoculados dois discos contendo micélios de *N. keratoplastica* em cada repetição. Após a inoculação, as plantas foram transferidas para câmaras úmidas a 25 °C por um período de 48 h, permanecendo em incubação por até 10 dias. O ensaio curativo seguiu a mesma metodologia dos tratamentos preventivos, diferindo apenas quanto ao momento da inoculação de *N. keratoplastica*, a qual foi realizada antes da aplicação das concentrações do OE. Após o surgimento das primeiras lesões nas plantas, as soluções nas diferentes concentrações foram aplicadas. A severidade da doença foi avaliada a cada dois dias, totalizando cinco avaliações. A severidade foi avaliada em folhas e lesões no caudex, utilizando-se uma escala de notas adaptada, descrita por Santos et al. (2005), em que: 0: plantas 100% sadias; 1: menos de 1% do tecido foliar e do colmo apresentando sintomas da doença; 3: de 1 a 5% do tecido foliar afetado; 5: de 5 a 25% do tecido da folha e do colmo afetados; 7: de 26 a 50% dos tecidos afetados; e 9: mais de 50% do tecido foliar e do colmo afetados pela doença. As avaliações foram realizadas em intervalos de dois dias, até o décimo dia. Com base nos dados obtidos, foi calculada (equação 2) a Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença (AACPD), conforme metodologia proposta por Schneider et al. (1976)

$$AACPD = \sum_{i=1}^{n-1} \frac{(Y_{i+1} + Y_i)(T_{i+1} + T_i)}{2} \quad \text{Eq. (2)}$$

Onde:

AACPD= Área abaixo da curva de progresso da doença;

Y_{i+1} : severidade da doença na época da avaliação;

Y_i : severidade da doença na época da avaliação anterior i ;

T : época da avaliação;

T_{i+1} : época da avaliação anterior $i+1$;

n : número total de avaliações;

i : número de dias após a emergência das plântulas.

3.4.3 Efeito em organismos não-alvo

O efeito em organismos não alvo, foi avaliado por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), utilizando o método de microdiluição em caldo em placas de 96 poços, conforme diretrizes do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), com adaptações. As cepas bacterianas foram previamente cultivadas em meio BHI por 24 h a 55 ± 2 °C. Colônias isoladas foram suspensas em solução salina estéril (0,85%) e a

turbidez da suspensão foi ajustada para a escala 0,5 de McFarland, correspondente a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, utilizando espectrofotômetro com leitura em 600 nm. Após a padronização, a suspensão foi diluída em caldo BHI para obtenção de concentração final de aproximadamente 1×10^6 UFC/mL no inóculo de trabalho. O óleo essencial foi previamente solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO) e tween 20% e diluído em caldo BHI, nas concentrações de interesse (10, 20, 30, 40 e 50 $\mu\text{L/mL}$) nas placas de 96 poços, com volumes finais de 100 μL por poço. Em seguida, foram adicionados 100 μL da suspensão bacteriana padronizada a cada poço, resultando em volume final de 200 μL . Foram incluídos os seguintes controles: Controle de crescimento: caldo + inóculo bacteriano Controle de esterilidade: apenas caldo Controle do solvente: caldo + DMSO na maior concentração utilizada Controle positivo: antibiótico padrão. As placas foram incubadas a 25 ± 2 °C por 24 h. Após a incubação, a leitura foi realizada com auxílio de leitor de microplacas a 600 nm. A CIM foi definida como a menor concentração do óleo essencial capaz de inibir completamente o crescimento visível das bactérias. Todos os ensaios foram realizados em triplicata independente.

3.5 Análises *in silico*

3.5.1 Modelagem Molecular da CYP51 e α/β -tubulina

A sequência primária da enzima lanosterol 14-alfa desmetilase (CYP51A) de *Fusarium keratoplasticum* foi obtida na base de dados GenBank sob o código de acesso QGR26270.1 (JAMES et al., 2020). A estrutura tridimensional do CYP51 foi predita com AlphaFold2, executado via ColabFold (notebook público). O AlphaFold2 emprega aprendizado profundo para predição estrutural de alta acurácia, e o ColabFold fornece uma implementação acessível do pipeline de predição (JUMPER et al., 2021; KIM et al., 2025; MIRDITA et al., 2022).

Considerando que CYP51 é uma monooxigenase do citocromo P450 dependente de heme, o cofator foi inserido na estrutura predita através do algoritmo AlphaFill método que transplanta ligantes/cofatores para modelos preditos com base em similaridade de sequência e estrutura (HEKKELMAN et al., 2023). O transplante do cofator baseou-se no molde de alta similaridade PDB ID: 4UYL, Sterol alpha-demethylase (CYP51B) de *Aspergillus fumigatus*, identidade de 0,587 (HARGROVE et al., 2015). A qualidade geométrica do grupo heme e sua coordenação com a cisteína característica foram verificadas através de scripts customizados em Python. Foram avaliados parâmetros de planicidade do anel porfirínico (desvio RMS dos nitrogênios pirrólicos), deslocamento do ferro em relação ao plano do anel e a presença de choques estéricos (*clashes*) com um *cutoff* de 2,0 Å.

A sequência da cadeia β -tubulina de *Fusarium keratoplasticum* foi obtida na base de dados GenBank sob o código de acesso XP_052915278.1, enquanto a cadeia α -tubulina foi obtida sob o código XP_052919683.1 (HOH et al., 2022). A estrutura tridimensional da α/β -tubulina foi predita com AlphaFold2, executado via ColabFold (notebook público), em condições análogas às empregadas para CYP51A, visando à construção do heterodímero preservando a geometria do colchicine binding site (CBS) no contexto da interface entre as subunidades. Para ambas as proteínas foi gerado o gráfico Ramachandran no servidor SAVES v6.0 (<https://saves.mbi.ucla.edu/>), utilizando a análise PROCHECK para obter as qualidades estereoquímicas, analisando a geometria resíduo por resíduo e a geometria geral da estrutura do modelo (LASKOWSKI et al., 1993).

3.5.2 Preparação do receptor e dos ligantes

Os receptores foram preparados utilizando a ferramenta Meeko para parametrização compatível com AutoDock4.2 (tipos atômicos e cargas) e exportação do receptor em .pdbqt (SANTOS-MARTINS et al., 2025). Os ligantes consistiram em 27 moléculas do óleo essencial sob estudo. As estruturas químicas foram obtidas no PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) em formato sdf (RODRIGUES et al., 2022; ZENG et al., 2022). Em seguida, os ligantes foram preparados no Meeko e exportados em formato .pdbqt, visando à compatibilidade com AutoDock4.2 (SANTOS-MARTINS et al., 2025).

3.5.3 Docking Molecular

As simulações de acoplamento molecular (docking) foram realizadas no software AutoDock 4.2 (MORRIS et al., 2009). A região de busca (Grid Box) para CYP51A abrangeu os resíduos do sítio ativo descritos na literatura e o entorno do cofator, incluindo os resíduos TYR105, PRO107, LEU108, VAL112, PHE212, THR287, MET290, ALA291, HIS294, SER295, SER361 e LEU363 (JAMES et al., 2020), além do grupo heme com o átomo de ferro (Fe). A caixa de busca (*grid box*) foi construída pelo Meeko com dimensões de 22,5 x 22,5 x 22,5 Å e espaçamento de 0,375 Å.

Para o heterodímero α/β -tubulina, a identificação do sítio ativo foi conduzida por meio de busca de homólogos estruturais no PDB via BLASTp, seguida da seleção de um molde com elevada identidade de sequência e ligante cocrystalizado no colchicine binding site (CBS) na subunidade β -tubulina. O melhor alinhamento foi obtido com a estrutura PDB 5CA1 (Tubulin beta-2 chain; 69,66% identidade), cuja estrutura contém o inibidor nocodazole no colchicine binding site (CBS) da subunidade β -tubulina, a qual foi utilizada como referência

para o alinhamento estrutural do modelo de β -tubulina predito (WANG et al., 2016). A caixa de busca foi construída sobre a β -tubulina no Meeko com dimensões de $15 \times 15 \times 15 \text{ \AA}$ e espaçamento de $0,375 \text{ \AA}$, centrada no CBS, tendo como resíduos TYR50, GLN139, ALA170, THR204, PHE205, VAL241, CYS244, LEU251, LEU255, MET258, SER319, ILE321, THR356, ALA357 e VAL373.

Para cada ligante (as mesmas 27 moléculas do óleo essencial) foram executadas 100 corridas (*runs*) contra CYP51A e α/β -tubulina sob os mesmos parâmetros gerais do AutoDock4.2. Para a validação do protocolo de docking, foram selecionados três controles positivos, antifúngicos comerciais, inibidores de cada proteína, sendo eles voriconazol, itraconazol e tebuconazol (CYP51); e carbendazim, nocodazol e benzimidazol (α/β -tubulina). Os controles positivos foram docados sob os mesmos parâmetros do conjunto experimental (mesma caixa, mesmo número de *runs* e mesmo receptor) e executados em triplicata. Dessa forma, foram obtidas 300 poses por controle positivo (3 réplicas \times 100 *runs*), permitindo a avaliação do modo de ligação da melhor pose de cada réplica.

As poses finais (controles positivos e as 27 moléculas do óleo essencial) foram selecionadas considerando-se a energia de afinidade (kcal/mol); as estimativas de constante de inibição (K_i) reportadas pelo AutoDock4.2 e pela inspeção estrutural das melhores poses: verificação do posicionamento do ligante no sítio ativo, checagem de proximidade geométrica com o heme/Fe (especialmente para os azóis), e identificação de contatos e interações relevantes (hidrogênio, hidrofóbicas e contatos de coordenação no entorno do cofator). A visualização e geração de mapas de interação foram realizadas no PyMOL 3.1 e no BIOVIA Discovery Studio Visualizer (v21.1.0.20298).

3.6 Análise de dados

Dados da Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) obtidos na medida curativa e preventiva foram submetidos a análises de regressão lineal, tendo como variável independente a concentração do óleo usada e como variável dependente a AACPD. Os análises foram feitos no software SigmaPlot V 12.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 *Screening* da atividade antifúngica de óleos essenciais em *Neocosmospora keratoplastica*

Dentre os OE avaliados na concentração de 50 µL/mL frente ao isolado F12 (Tabela 1), apenas o OE de *Ocimum tenuiflorum* (manjerição-sagrado) apresentou diminuição significativa do crescimento micelial até o décimo dia de avaliação. Os OE de *Cinnamomum verum* (Canela), *Baccharis latifolia* (Chilca) e *Syzygium aromaticum* (Cravo) durante a primeira avaliação, com 48 horas, apresentaram efeito inibitório inicial, evidenciado pela diminuição do diâmetro das colônias em comparação ao controle positivo, sugerindo retardo temporário na expansão das hifas. Contudo, esse efeito não se manteve ao longo do experimento, uma vez que, com 96 horas, observou-se a retomada do crescimento micelial, com completa ocupação da placa de Petri. Indicando que, esses OE apresentam ação fungistática temporária e não fungicida no isolado, o OE de *O. tenuiflorum* demonstrou potencial antifúngico mais consistente nas condições avaliadas. A redução inicial do crescimento pode estar associada à volatilidade e à degradação progressiva dos compostos bioativos presentes nos OE, especialmente monoterpenos, além de possíveis mecanismos de adaptação fisiológica do isolado (MONA, 2016; NAZZARO, 2017; SUMALAN, 2013).

Já o OE de *Capsicum* sp. (pimenta) apresentou baixa atividade inibitória (0,5%) nas condições avaliadas, sugerindo que, na concentração testada, o óleo não foi eficaz no controle do crescimento do isolado, no entanto, não se pode descartar a possibilidade de que concentrações mais elevadas ou diferentes condições experimentais resultem em maior efeito inibitório (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização dos óleos essenciais avaliados, inibição *in vitro* e composto majoritário e fontes bibliográficas da composição química.

Óleo essencial	Nome popular	Parte utilizada	País de origem	Inibição <i>in vitro</i> (%)	Composto majoritário	Fonte
<i>Aloysia citrodora</i>	Erva-Luísa	-	Equador	0%	Citral	GIL, 2007
<i>Annona cherimola</i>	Cherimoia	Fruto	Equador	0%	Germacrene D	VALAREZO, 2022
<i>Baccharis latifolia</i>	Chilca	-	Equador	0%	Limonene	VALAREZO, 2013
<i>Bowdichia virgilioides</i>	Sucupira preta	Fruto	Brasil	0%	2-tridecanone	ARRIAGA, 1998
<i>Bursera graveolens</i>	Pau Santo	-	Equador	0%	Limoneno	COLORADO, 2019
<i>Capsicum sp.</i>	Pimenta	Fruto	Equador	0,5%	Thymol	DON, 2019
<i>Citrus aurantium</i>	Laranja-amarga	Fruto	Equador	0%	Limoneno	SARROU, 2013
<i>Cinnamomum verum</i>	Canela	Folhas	Brasil	0%	Eugenol	XAVIER, 2022
<i>Eucalyptus sp.</i>	Eucalipto	Folhas	Equador	0%	1,8-Cineole (eucaliptol)	HAFFAR, 2015
<i>Genipa sp.</i>	Jenipapo	Fruto	Equador	0%	1-methyldodecyl octanoate	JESUS, 2019
<i>Mentha × piperita L.</i>	Hortelã-pimenta	Folhas	-	0%	Mentol	YU, 2025
<i>Morinda citrifolia</i>	Noni	Fruto	Brasil	0%	Ácido octanoico	BARROS, 2022
<i>Morella pubescens</i>	Laurel	-	Equador	0%	Germacrene B	SANDOVAL, 2010
<i>Ocimum tenuiflorum</i>	Manjerição sagrado	Folhas	Brasil	12,88%	Eugenol	(Tabela 2)
<i>Ocotea quixos</i>	Ishpingo	-	Equador	0%	Trans-Cinnamaldeído	RADAELLI, 2016
<i>Origanum sp.</i>	Orégano	Folhas	Equador	0%	Carvacrol	BÉJAOU, 2013
<i>Pimpinella sp.</i>	Erva-doce	-	Equador	0%	Trans-Anetol	EVANGELISTA, 2023
<i>Ruta graveolens</i>	Arruda	Folhas	Equador	0%	2-Undecanona	RADAELLI, 2016
<i>Schinus molle</i>	Aroeira-salsa	-	Equador	0%	β-pinene	PRADO, 2019
<i>Siparuna eggersii</i>	Capitiú	-	Equador	0%	Epicurzerenone	RUIZ, 2010
<i>Syzygium romaticum</i>	Cravo	-	Equador	0%	Eugenol	AHAMAD, 2023
<i>Thymus vulgaris</i>	Tomilho	-	Equador	0%	Epicurzerenone	GALOVIČOVÁ, 2021
<i>Xylopiia frutescens</i>	Pindaíba	Folhas	Brasil	0%	Nopinone	MOURÃO, 2025
<i>Aloysia citrodora</i>	Erva-Luísa	-	Equador	0%	Citral	GIL, 2007

Nota: Os compostos majoritários apresentados foram identificados conforme a literatura, enquanto os dados de inibição foram determinados experimentalmente no presente trabalho

Fonte: Elaborado pelo autor, 2026

Embora alguns componentes majoritários dos OE testados, sejam classificados, na literatura, possuindo propriedades antifúngica, como timol, carvacrol (NAKASUGI, 2021), eugenol (LIMA, 2020) e citral (MENEZES, 2020), a ausência de inibição observada nos OE testados pode ser explicada por vários fatores interligados. A atividade antifúngica de um OE depende da concentração e da proporção de seus constituintes químicos, compostos antifúngicos precisam estar em quantidades suficientes para exercer efeito, e apenas a presença de um composto conhecido não garante eficácia se ele estiver em baixa proporção frente a outros componentes (ABD RASHED, 2021).

Além disso, a ação sinérgica entre os compostos químicos é importante para atividades biológicas dos OE, visto que determinadas combinações podem potencializar os efeitos antifúngicos por meio do aumento da permeabilidade da membrana celular e da intensificação do estresse oxidativo, ocasionando danos estruturais mais severos do que aqueles provocados pelos compostos de forma isolada. Assim, variações na composição química dos óleos e a ausência de interações sinérgicas eficazes podem explicar o desempenho limitado observado, mostrando como a eficiência antifúngica dos OE depende não apenas de compostos individuais, mas da complexa interação entre seus constituintes (LU, 2025; NIKKHAH, 2017; DAS, 2022).

No *screening* inicial, a maioria dos tratamentos apresentou efeito reduzido ou apenas discreta limitação do crescimento na concentração de 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Entretanto, o óleo essencial de manjeriço, apresentou a maior inibição micelial na concentração de 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$, evidenciando um possível potencial antifúngico, assim, todos os testes a seguir, foram realizados com o OE de manjeriço.

3.2 Efeito da atividade antifúngica do óleo essencial de *Ocimum tenuiflorum* em *Neocosmospora keratoplastica*

A análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas revelou que o OE de *Ocimum tenuiflorum* apresenta um perfil químico composto por compostos oxigenados, sendo o majoritário, o eugenol (47,04%) e o 1,8-cineol (29,47%), que, em conjunto, representam mais de 75% da composição total do OE. O óleo essencial de *Ocimum tenuiflorum* apresentou predominância de monoterpenos oxigenados (77,78%), seguido por monoterpenos hidrocarbonetos (10,59%) e sesquiterpenos hidrocarbonetos (9,97%), enquanto sesquiterpenos oxigenados (0,08%) e outros compostos (0,16%) ocorreram em menores proporções (Tabela 2).

Tabela 2 – Composição química e classificação dos constituintes do óleo essencial de *Ocimum tenuiflorum*

CN	RT	Compound	RIC	RIR	(%)	SD	CG	CF
1	6,46	Hexenol <(3E)->	871	871	0,16	0,01	OC	C ₆ H ₁₂ O
2	9,28	Pinene <α->	929	932	0,93	0,04	MH	C ₁₀ H ₁₆
3	11,00	Sabinene	969	969	0,88	0,04	MH	C ₁₀ H ₁₆
4	11,20	Pinene <β->	974	974	2,29	0,10	MH	C ₁₀ H ₁₆
5	11,78	Myrcene	988	988	0,75	0,03	MH	C ₁₀ H ₁₆
6	13,62	Sylvestrene	1027	1025	0,40	0,02	MH	C ₁₀ H ₁₆
7	13,76	Cineole <1,8->	1028	1026	29,47	1,33	OM	C ₁₀ H ₁₈ O
8	13,98	Ocimene <(Z)-β->	1034	1032	5,29	0,24	MH	C ₁₀ H ₁₆
9	15,01	Terpinene <γ->	1056	1054	0,05	0,00	MH	C ₁₀ H ₁₆
10	15,63	Sabinene hydrate	1067	1065	0,11	0,00	OM	C ₁₀ H ₁₈ O
11	17,10	Linalool	1097	1095	0,35	0,02	OM	C ₁₀ H ₁₈ O
12	20,47	Terpineol <δ->	1165	1162	0,19	0,01	OM	C ₁₀ H ₁₈ O
13	20,92	Terpinen-4-ol	1176	1174	0,11	0,01	OM	C ₁₀ H ₁₈ O
14	21,65	Terpineol <α->	1189	1186	0,49	0,02	OM	C ₁₀ H ₁₈ O
15	26,27	Carvacrol	1296	1298	0,02	0,00	OM	C ₁₀ H ₁₄ O
16	28,98	Eugenol	1353	1356	47,04	2,12	OM	C ₁₀ H ₁₂ O ₂
17	29,84	Copaene <α->	1373	1374	0,09	0,00	SH	C ₁₅ H ₂₄
18	30,19	Bourbonene <β->	1380	1387	0,05	0,00	SH	C ₁₅ H ₂₄
19	30,46	Elemene <β->	1387	1389	0,19	0,01	SH	C ₁₅ H ₂₄
20	31,73	Caryophyllene <(E)->	1416	1417	2,69	0,12	SH	C ₁₅ H ₂₄
21	33,25	Humulene <α->	1452	1452	0,36	0,02	SH	C ₁₅ H ₂₄
22	33,43	Aromadendrane <dehydro->	1458	1460	0,05	0,00	SH	C ₁₅ H ₂₄
23	34,33	Germacrene D	1478	1480	0,77	0,03	SH	C ₁₅ H ₂₄
24	34,66	Selinene <β->	1487	1489	4,23	0,19	SH	C ₁₅ H ₂₄
25	34,95	Amorphene <γ->	1492	1495	1,25	0,06	SH	C ₁₅ H ₂₄
26	35,89	Selinene <7-epi-α->	1519	1520	0,29	0,01	SH	C ₁₅ H ₂₄
27	38,42	Caryophyllene oxide	1579	1582	0,08	0,00	OS	C ₁₅ H ₂₄ O
					Monoterpene hydrocarbons (MH)	10,59		
					Oxygenated monoterpenes (OM)	77,78		
					Sesquiterpene hydrocarbons (SH)	9,97		
					Oxygenated sesquiterpene (OS)	0,08		
					Other compounds (OC)	0,16		
					Total identified	98,58		

CN: número do composto, atribuído de acordo com a ordem de eluição; RT: tempo de retenção; RIC: índices de retenção calculados; RIR: índice de retenção da literatura; %: abundância relativa; CG: grupo do composto; CF: fórmula química

Fonte: Elaborado pelo autor, 2026

No controle negativo, observou-se crescimento rápido, atingindo 90 mm já no 6º dia, mantendo esse valor até o final do experimento, o que confirma a ausência de efeito inibitório dos emulsificantes. O fungicida comercial, promoveu redução inicial do crescimento micelial, com valores de 31,73 mm no 2º dia e 67,92 mm no 6º dia, porém a colônia também atingiu 90 mm no 10º dia. Ainda assim, apresentou 7,68% de ICM. As menores concentrações, 3 e 4% apresentaram baixo efeito inibitório. Em ambas, o crescimento atingiu 90 mm entre o 6º e 8º dias. A 5 % já promoveu redução mais evidente, limitando o crescimento a 78,41 mm no 10º.

Os maiores percentuais de inibição foram observados nas concentrações mais elevadas (60, 70, 80, 90 e 100 $\mu\text{L}/\text{mL}$). Além disso, essas concentrações retardaram a velocidade de expansão micelial desde as primeiras avaliações, mantendo diâmetros inferiores a 40 mm até o 6º dia (principalmente de 70 a 100 $\mu\text{L}/\text{mL}$). De forma geral, os resultados demonstram que o tratamento apresenta atividade antifúngica dependente da concentração, com maior eficiência nas doses de 80 a 100 $\mu\text{L}/\text{mL}$, que proporcionaram as maiores reduções no crescimento micelial (Tabela 3).

Tabela 3 – Efeito de concentrações crescentes do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum tenuiflorum*) na Inibição do Crescimento Micelial (ICM) a partir do micélio de *Neocosmospora keratoplastica* em diferentes períodos de avaliação.

Tratamentos	Dias de Avaliação					ICM (%)
	2º	4º	6º	8º	10º	
Controle negativo	34,5±0,63	52,51±0,55	90±0	90±0	90±0	0,00
Controle positivo	31,73±0,29	49,55±1,11	67,92±1,26	89,82±0,11	90±0	7,68
30 $\mu\text{L}/\text{mL}$	32,5±0,65	50,36±0,58	90±0	90±0	90±0	2
40 $\mu\text{L}/\text{mL}$	34,43±0,11	44,3±0,5	68,18±1,28	90±0	90±0	8
50 $\mu\text{L}/\text{mL}$	27,3±1,7	38,96±1,61	75,37±0,91	77,47±0,73	78,41±0,55	18
60 $\mu\text{L}/\text{mL}$	17,62±0,39	28,49±0,33	45±0,47	50,63±0,12	68,67±0,34	42
70 $\mu\text{L}/\text{mL}$	16,68±0,55	25,21±1,42	38,88±1,64	45,15±0,15	63,41±1,46	48
80 $\mu\text{L}/\text{mL}$	16,2±0,21	23,11±0,43	35,89±0,24	40,14±0,28	57,41±0,49	52
90 $\mu\text{L}/\text{mL}$	15,41±0,1	21,96±0,11	31,63±0,32	35,61±0,12	53,15±0,27	56
100 $\mu\text{L}/\text{mL}$	13,74±0,33	19,99±0,34	30,34±0,38	32,23±0,26	50,86±0,12	59

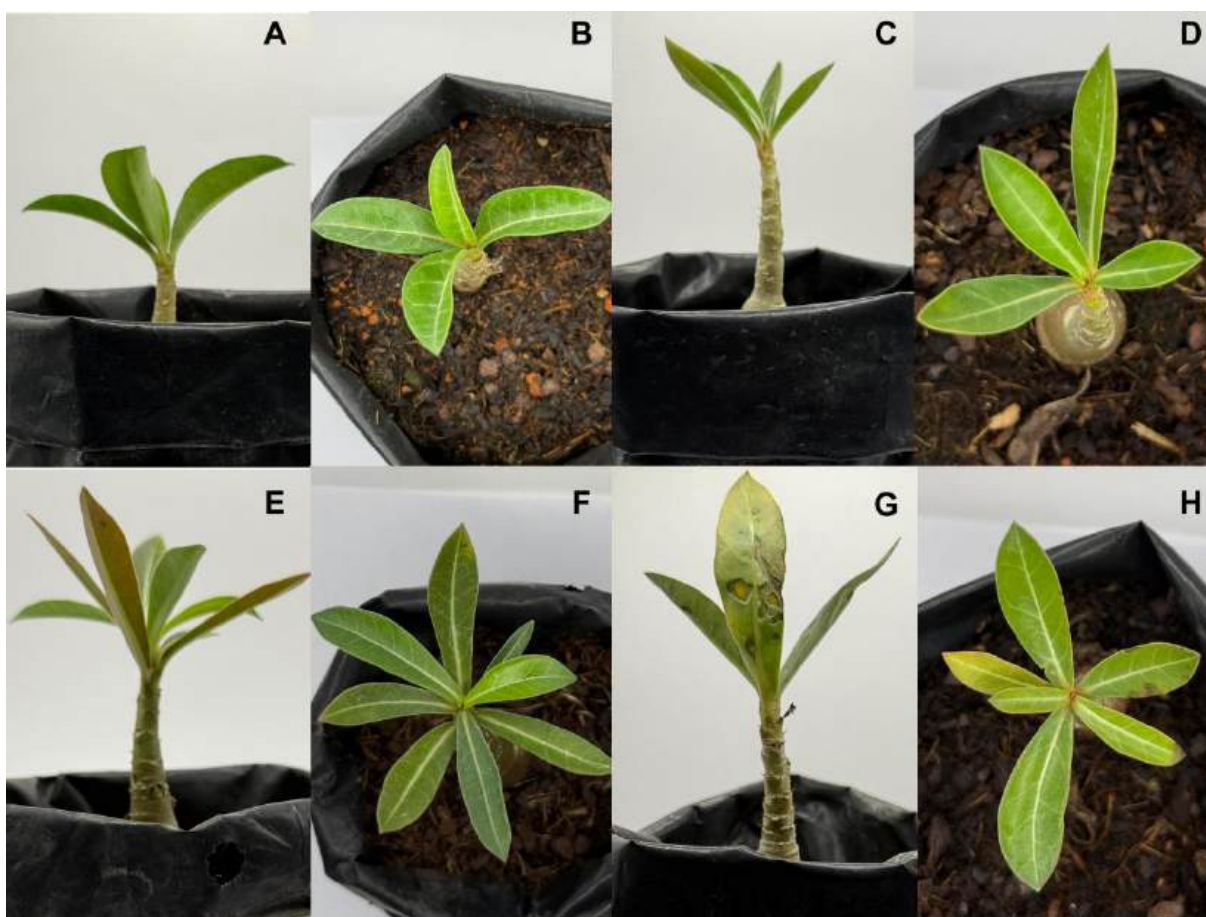
Nota: ICM= Inibição do Crescimento Micelial; Controle negativo = Água + Tween 80 1% + DMSO 2%; Controle positivo = tiofanato-metílico

Fonte: Elaborado pelo autor, 2026

3.3 Efeito tóxico do óleo essencial de *Ocimum tenuiflorum* plantas de *Adenium obesum*

Dentre as concentrações avaliadas (10, 25, 50 e 75 $\mu\text{L}/\text{mL}$), o óleo essencial de *O. tenuiflorum* não apresentou efeitos fitotóxicos nas concentrações de 1 (Figura 1A-B) e 25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ (Figura 1 C-D). Na concentração de 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$ (Figura 1 E-F), observou-se leve fitotoxicidade, caracterizada por clorose foliar, enquanto na concentração de 75 $\mu\text{L}/\text{mL}$ (Figura 1 G-H) os efeitos foram mais severos, com a ocorrência de lesões necróticas associadas à clorose.

Figura 1 – Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de manjericão (*Ocimum tenuiflorum*) sobre a fitotoxicidade foliar: (A-B) 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$ (C-D) 25 $\mu\text{L}/\text{mL}$; (E-F) 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$; (G-H) 75 $\mu\text{L}/\text{mL}$



Fonte: Autor, 2025

A fitotoxicidade observada nas concentrações 50 e 75 $\mu\text{L}/\text{mL}$ está pode estar relacionada à desorganização estrutural e funcional das membranas celulares, promovida por monoterpenos e compostos fenólicos presentes no OE. Esses metabólitos secundários apresentam caráter lipofílico, o que favorece sua incorporação na bicamada lipídica,

resultando em alterações no empacotamento dos lipídios e na fluidez da membrana, comprometendo sua função como barreira seletiva (KAUR, 2011; CHOWHAN, 2013)

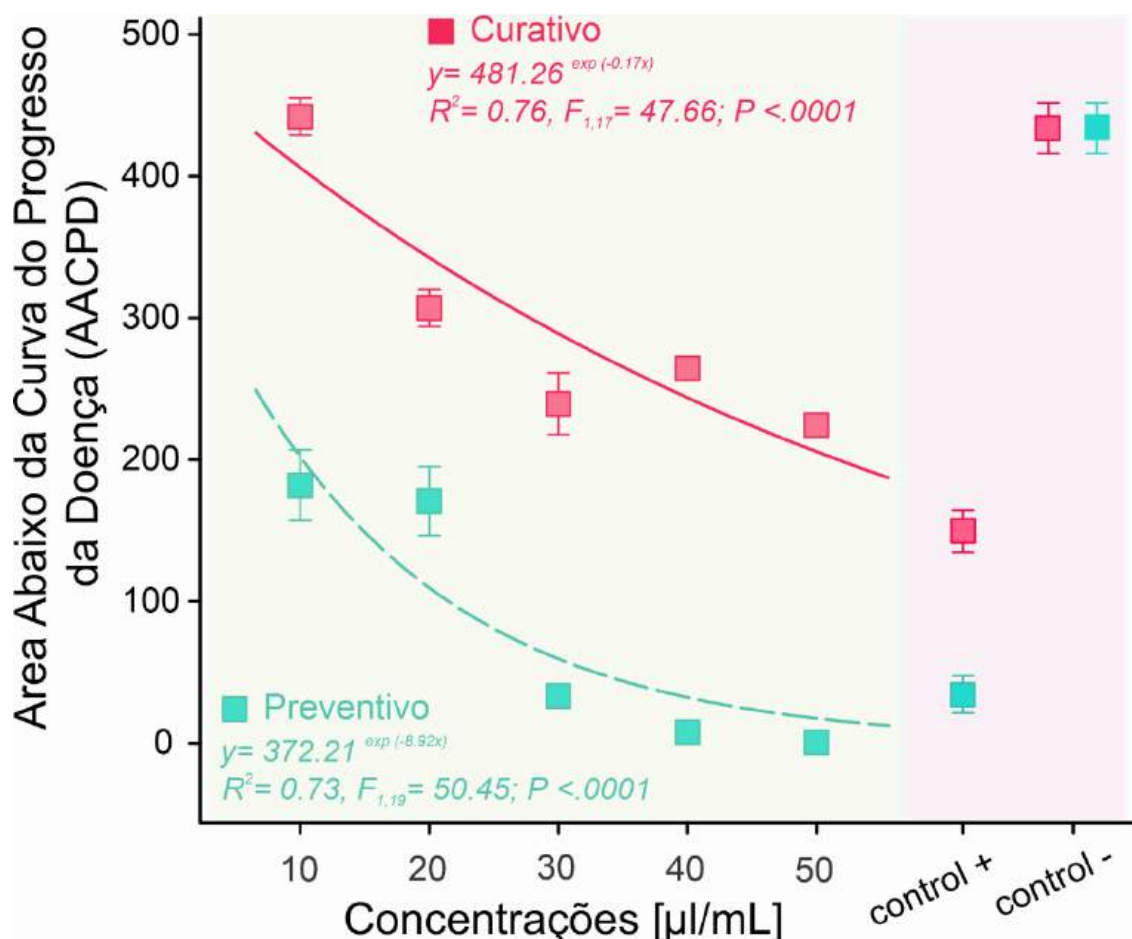
A inserção desses compostos na membrana é acompanhada por ruptura funcional associada à peroxidação lipídica, configurando um dos principais mecanismos de dano celular induzido por óleos essenciais (KAUR, 2011; CHOWHAN, 2013). Os compostos fenólicos, como timol, carvacrol e eugenol, apresentam ação intensa sobre as membranas celulares, atuando tanto pela incorporação lipofílica quanto pela perturbação das interações lipídio-proteína, o que potencializa os efeitos oxidativos e a perda de permeabilidade seletiva (HAZRATI, 2017; ALIPOUR, 2019; ZHANG, 2021). O eugenol, o composto majoritário do OE testado, compromete a integridade da membrana plasmática em espécies vegetais sensíveis, promovendo vazamento de eletrólitos e aumento de marcadores de dano oxidativo, enquanto o carvacrol apresenta efeito fitotóxico direto em folhas quando aplicado em altas concentrações (HAZRATI, 2017; ZHANG, 2021).

De modo geral, a fitotoxicidade induzida por óleos essenciais depende da concentração, sendo que doses baixas podem ser subletais ou até induzir respostas de defesa, enquanto concentrações elevadas podem desencadear peroxidação lipídica intensa, vazamento maciço de solutos e necrose tecidual.

3.4 Efeito Curativo e preventivo

No tratamento preventivo, observou-se redução da área abaixo da curva da AACPD à medida que a concentração do OE aumentou, indicando eficiência do OE quando aplicado antes do estabelecimento do patógeno. Em concentrações mais elevadas, os valores de AACPD foram próximos de zero, demonstrando capacidade de proteção das plantas e sugerindo que o OE atua de forma eficaz na prevenção da infecção inicial e/ou no impedimento da colonização do tecido vegetal. Já no tratamento curativo, embora também tenha sido observada redução da AACPD com o aumento da concentração do óleo essencial, o efeito foi menor quando comparado ao tratamento preventivo, mesmo nas maiores concentrações testadas, os valores de AACPD permaneceram elevados, indicando que o OE apresenta capacidade limitada de reversão dos danos já causados pelo patógeno (Figura 2).

Figura 2 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em plantas submetidas a tratamentos preventivo e curativo com diferentes concentrações de óleo essencial de manjeriçao (*Ocimum tenuiflorum*).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025

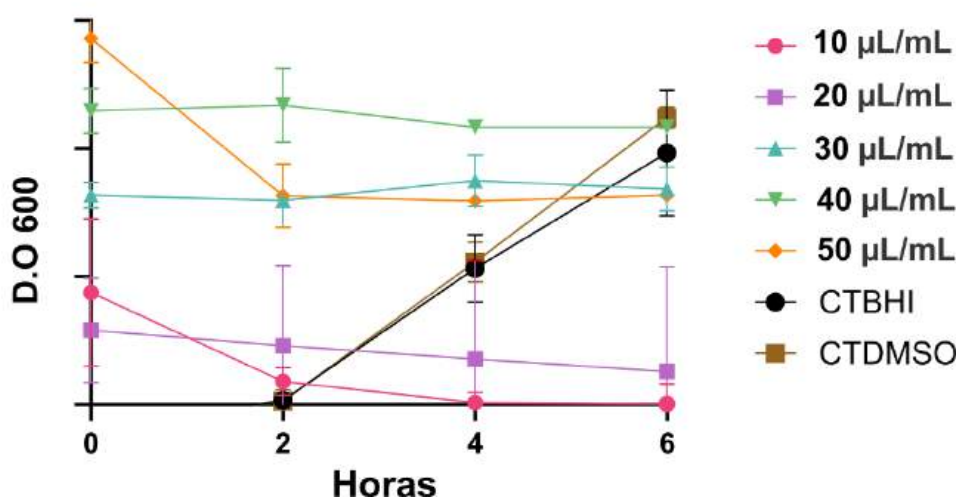
A maior eficiência do tratamento preventivo em relação ao tratamento curativo pode ser explicada pelo fato de que a aplicação antecipada do OE impede que o patógeno complete importantes do processo de infecção, como a germinação e a penetração nos tecidos do hospedeiro. Esses estágios iniciais são mais vulneráveis à ação de compostos bioativos, uma vez que o patógeno ainda não se encontra estabelecido nem protegido por estruturas ou por hifas miceliais densas (SOYLU, 2010; PEIXINHO, 2017; SILVA, 2014). Em contraste, após a colonização do hospedeiro, o patógeno passa a apresentar maior tolerância aos tratamentos, pois o micélio já desenvolvido ou as estruturas intracelulares tornam-se mais difíceis de serem eliminadas, exigindo produtos de ação sistêmica ou concentrações mais elevadas para obtenção de controle efetivo (QUEIROZ, 2020; SOYLU, 2010).

3.5 Efeito do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum tenuiflorum*) em organismos não-alvos

A avaliação dos efeitos do óleo essencial sobre organismos não-alvo mostrou atividade biológica também sobre a cepa de *Bacillus subtilis*. Observou-se que, já na primeira leitura, houve inibição do crescimento bacteriano em todos os tratamentos contendo o óleo essencial, quando comparados ao controle positivo. Esse comportamento indica que os compostos presentes no óleo apresentam ação antimicrobiana de rápida resposta, interferindo precocemente na multiplicação celular bacteriana.

A inibição inicial sugere que o óleo essencial pode atuar sobre estruturas essenciais das células bacterianas, como a integridade da membrana plasmática ou processos metabólicos fundamentais, resultando em efeito bacteriostático ou bactericida desde os estágios iniciais de exposição (ROSARIO et al., 2024; BAJPAI et al., 2014). Em contraste, o controle positivo apresentou crescimento normal, confirmando a viabilidade dos microrganismos e a ausência de fatores externos que pudessem interferir nos resultados. Embora o óleo essencial de manjeriço seja promissor no controle do patógeno alvo, ele também exerce efeito sobre organismos não alvo, como bacilos, o que ressalta a importância de avaliações ecotoxicológicas e microbiológicas complementares (Figura 3).

Figura 3 – Crescimento bacteriano em diferentes concentrações do óleo essencial de manjeriço



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025

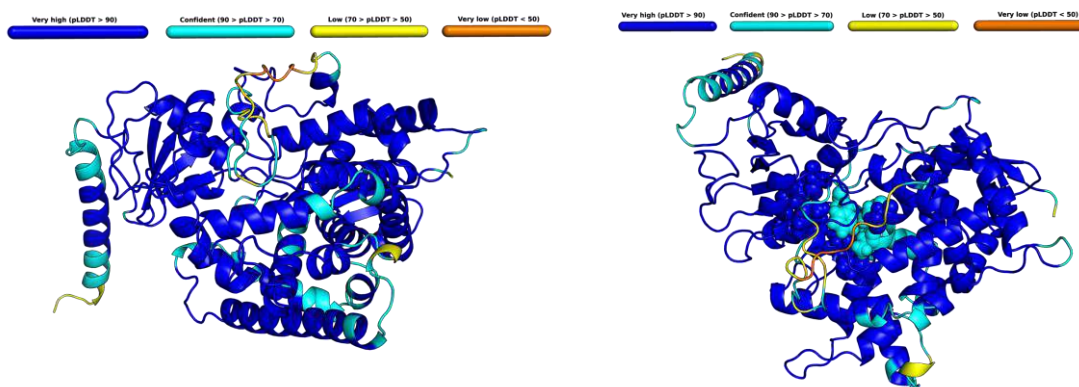
3.6 Modelagem da CYP51A, α/β -tubulina e validação do cofator heme

A proteína CYP51A corresponde à enzima lanosterol 14 α -desmetilase, um citocromo P450 heme-tiólato envolvido na etapa-chave de desmetilação do lanosterol na via de biossíntese de ergosterol em fungos filamentosos (CELIA-SANCHEZ et al., 2022; ZHANG et al., 2019). A inibição dessa enzima por azóis, como itraconazol e voriconazol, ocorre por coordenação do anel triazólico ao ferro do heme, bloqueando o acesso do lanosterol ao sítio catalítico e levando ao acúmulo de esteróis metilados e à desorganização da membrana fúngica (Hargrove et al., 2017; Vermeulen et al., 2022). Em espécies do gênero *Fusarium*, incluindo complexos como *Fusarium graminearum* e o complexo de espécies de *Fusarium solani*, múltiplos parálogos de CYP51 (CYP51A, CYP51B e CYP51C) contribuem para a variabilidade na sensibilidade a azóis e para o surgimento de resistência (CELIA-SANCHEZ et al., 2022; KOCH; STEIN; KOGEL, 2018; RABELO et al., 2017).

O modelo estrutural de CYP51A utilizado neste estudo corresponde ao ranking principal de AlphaFold2, apresentando valor médio de predicted local distance difference test (pLDDT) de 91,2 e predicted template modeling score (pTM) de 0,903. O pLDDT sumariza a confiança local do posicionamento de átomos/resíduos ao longo da cadeia, enquanto o pTM é uma estimativa de confiabilidade topológica/global (relacionada a acurácia de organização relativa de elementos estruturais). Esses valores indicam alta confiança local na maioria dos resíduos e uma organização topológica global consistente com um dobramento bem definido (JUMPER et al., 2021).

A estrutura está colorida de acordo com o pLDDT, em que azul escuro representa regiões de confiança muito alta, azul-ciano indica confiança alta, e amarelo/laranja correspondem a segmentos de confiança reduzida ou maior flexibilidade conformacional. Na visão geral do modelo (Figura 4A), observa-se que o núcleo catalítico de CYP51A é composto predominantemente por hélices α em azul, compatíveis com a arquitetura típica de citocromos P450, enquanto regiões em amarelo/laranja se concentram em laços de superfície e extremidades N- ou C-terminais, sugerindo maior mobilidade estrutural nesses segmentos (GUENGERICH; WATERMAN; EGLI, 2016; ZHANG et al., 2019). O bolso catalítico localizado no interior do domínio helicoidal, no qual o cofator heme é acomodado, encontra-se circundado por resíduos representados sobretudo em tons de azul, indicando elevada confiança na geometria local das hélices e laços que definem o sítio ativo (Figura 4B).

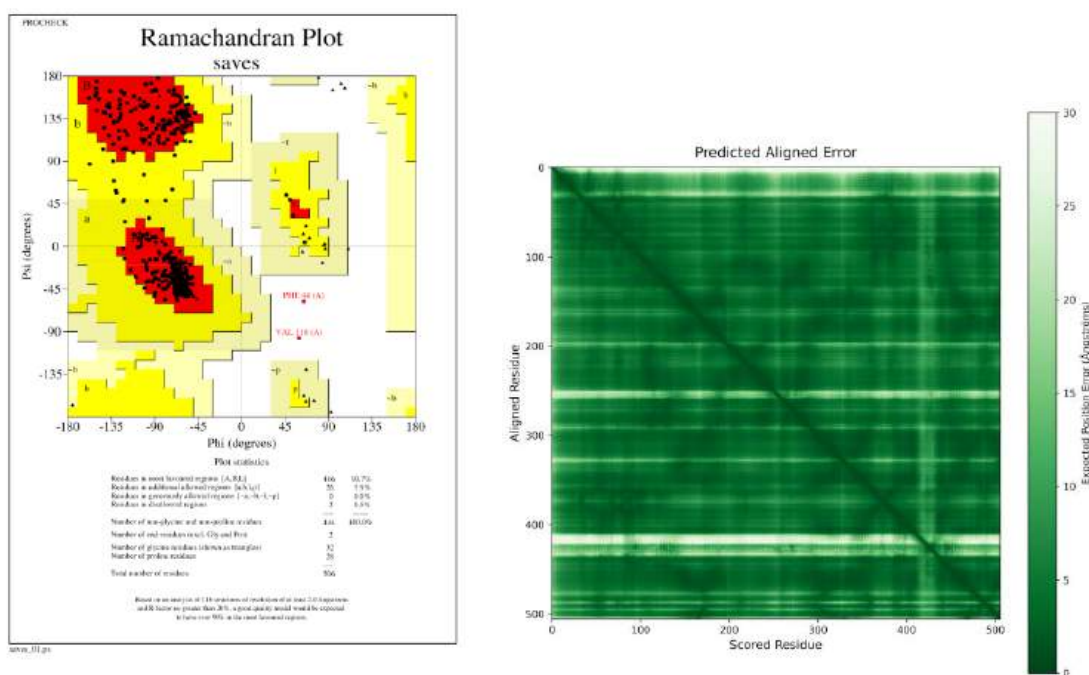
Figura 4 – Modelo estrutural tridimensional da proteína CYP51A com coloração baseada nos valores de pLDDT. (A) Visão geral do modelo, destacando o predomínio de hélices α no núcleo catalítico; (B) Detalhe do sítio ativo, evidenciando a região de acomodação do grupo heme.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025

O gráfico de Ramachandran (Figura 5A) indicou 93,7% dos resíduos em regiões mais favorecidas, 5,9% em regiões adicionalmente permitidas e 0,5% em regiões proibidas. A matriz de predicted aligned error (pae), figura 5B, reforça a estabilidade interdomínios, apresentando baixos valores de erro esperado (tons de verde escuro) ao longo de toda a estrutura, o que reforça a confiabilidade da estrutura.

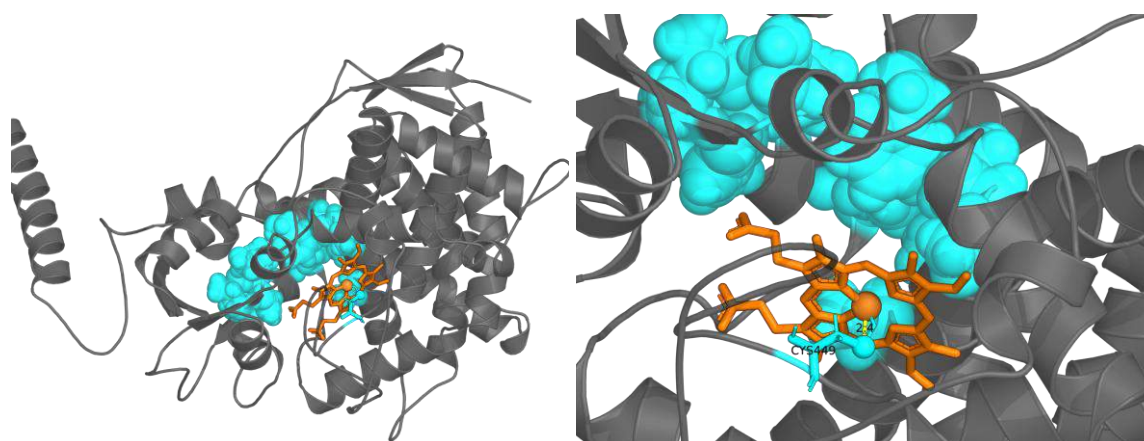
Figura 5 – Análises de validação estrutural do modelo de CYP51A: (A) Gráfico de Ramachandran.; (B) Matriz PAE.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025

O cofator heme foi inserido no modelo predito por meio da ferramenta AlphaFill, que transfere grupos prostéticos e ligantes de estruturas experimentais análogas para modelos de predição estrutural (Hekkelman et al., 2022). Em seguida, a geometria do heme foi avaliada com raio de busca axial de 3,0 Å e cutoff de 2,0 Å para detecção de clashes. A análise identificou um único grupo heme com átomo de ferro localizado na cadeia B e confirmou a presença de um único ligante axial proximal do tipo enxofre do resíduo cisteína 449 da cadeia A, a uma distância Fe–S(Cys) de aproximadamente 2,40 Å (Figura 6). Essa distância é coerente com valores descritos para a ligação Fe–S em citocromos P450 heme-tiólato fúngicos, nos quais o cisteinato proximal estabiliza o estado férrico e modula o potencial redox do ferro durante o ciclo catalítico (GUENGERICH; WATERMAN; EGLI, 2016; MOHAMED et al., 2024).

Figura 6 – Modelagem e análise da coordenação do grupo heme (laranja) no sítio ativo da proteína CYP51A (azul).



Os parâmetros de planicidade indicaram desvios das posições dos nitrogênios pirrólicos NA, NB, NC e ND em relação ao plano médio do anel porfirínico de 0,020; 0,020; 0,019 e 0,020 Å, respectivamente, com desvio quadrático médio (RMS) de 0,020 Å e deslocamento do átomo de ferro em relação a esse plano foi de +0,058 Å, valor pequeno e compatível com um heme praticamente plano e levemente deslocado em direção ao ligante axial proximal (CYS449), como descrito para citocromos P450 de fungos e outros eucariotos (Guengerich, 2016; Zhang et al., 2019). Não foram detectados clashes entre o heme e a proteína com distância inferior a 2,0 Å, o que sugere encaixe estereoquimicamente favorável do grupo prostético na cavidade hidrofóbica formada pelas hélices do domínio catalítico.

A ausência de clashes detectáveis, a planicidade adequada do anel porfirínico e a distância Fe–S(Cys) compatível com citocromos P450 suportam a coerência geométrica do

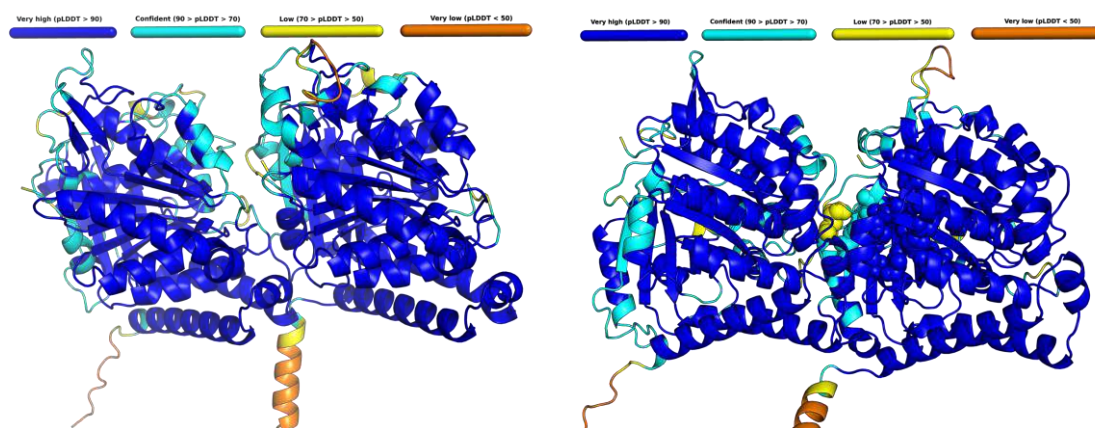
cofator heme inserido no modelo de CYP51A. Em conjunto com os altos valores de pLDDT no entorno do sítio catalítico e com a boa qualidade estereoquímica global, esses resultados indicam que o modelo é apropriado para aplicações posteriores de docking e simulações de dinâmica molecular.

A α/β -tubulina de *Fusarium keratoplasticum* constitui o heterodímero básico responsável pela formação de microtúbulos, estruturas centrais para a organização do citoesqueleto e da dinâmica mitótica em fungos filamentosos. Em fungos filamentosos, a tubulina é um alvo farmacológico/fungicida relevante, uma vez que compostos que desestabilizam microtúbulos (incluindo benzimidazóis), o sítio de ligação do tipo colchicine binding site (CBS) localiza-se na interface entre as subunidades α e β , sendo reconhecido como alvo de inibidores que desestabilizam microtúbulos ao interferir na conformação do dímero e na polimerização do protofilamento, inclusive em espécies de *Fusarium* e outros fitopatógenos (LU et al., 2012; WANG et al., 2016).

O modelo heterodimérico de alfa/beta-tubulina foi obtido com AlphaFold2 (versão multimer), que combina redes neurais profundas e informações evolutivas para prever simultaneamente a estrutura tridimensional das duas cadeias e a interface entre elas. O pLDDT médio observado foi de 90,2, enquanto o pTM global alcançou 0,907; adicionalmente, a interface predicted template modeling score (ipTM), que indica a confiabilidade da orientação das duas subunidades do complexo, foi de 0,911; estas métricas indicam elevada confiança tanto na dobra individual de cada cadeia quanto na organização relativa do heterodímero. Em termos práticos, esses valores sugerem que a topologia global das subunidades α e β , bem como a interface onde se localiza o CBS, apresenta qualidade compatível com o uso em estudos de interação ligante-receptor e em análises de dinâmica molecular voltadas à modulação da tubulina fúngica (HORGAN et al., 2023; JUMPER et al., 2021).

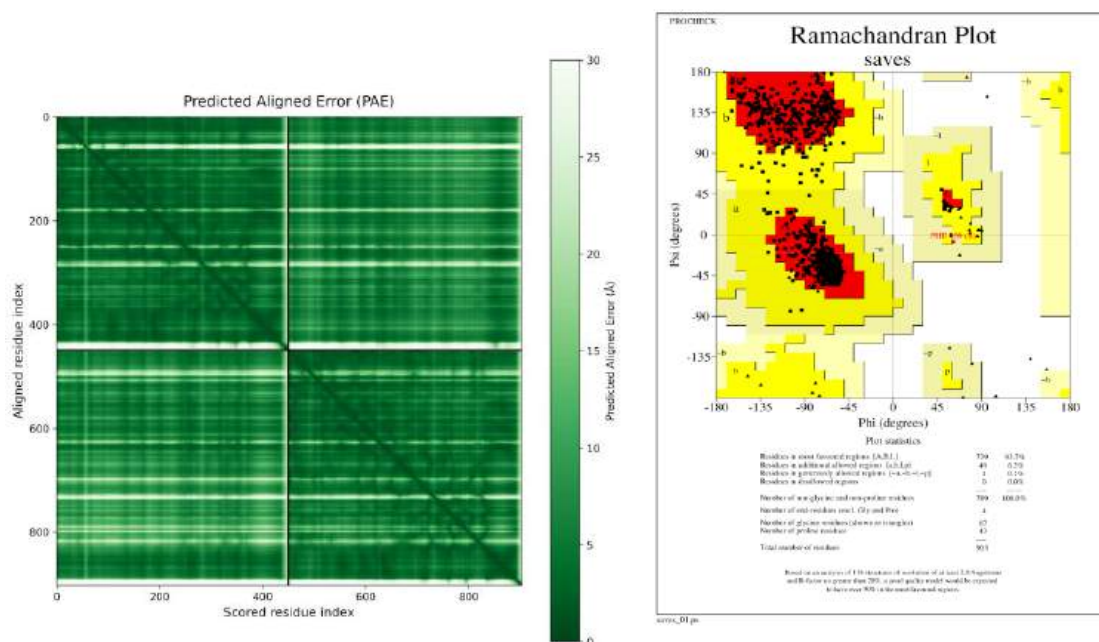
Na visualização colorida por pLDDT (figura), a maior parte do núcleo helicoidal das subunidades α e β encontra-se em tons de azul escuro, compatíveis com alta confiança local na predição da posição dos átomos, enquanto segmentos mais flexíveis nas extremidades N- e C-terminais são exibidos em tons de amarelo e laranja, refletindo maior incerteza ou possível desordem intrínseca. Já no sítio ativo, o agrupamento dos resíduos nessa posição (Figura 7) delimita um bolso na interface α/β ; o entorno do CBS apresenta coloração azul a ciano, com poucos trechos em amarelo, indicando boa confiabilidade na disposição espacial dos resíduos.

Figura 7 - Modelo estrutural da proteína com mapeamento de confiança local (pLDDT) e organização do sítio ativo na interface entre as subunidades α e β .



O mapa PAE (FIGURA) do modelo heterodimérico mostra baixos valores de incerteza relativa na diagonal correspondente às subunidades individuais e na região que representa a interface α/β , denotando alta confiança relativa na orientação mútua das cadeias, em contraste com erros previsivelmente maiores entre domínios mais distantes ou regiões terminais flexíveis. Adicionalmente, o gráfico de Ramachandran obtido por PROCHECK revela que 93,7% encontram-se nas regiões mais favorecidas, com ausência de resíduos em regiões proibidas (Figura 8), sugerindo geometria estereoquímica globalmente adequada para as duas cadeias, o que sustenta o uso desse modelo para estudos *in silico* de inibidores dirigidos especificamente à beta-tubulina de fungos.

Figura 8 - Análises de confiabilidade estrutural do modelo heterodimérico α/β

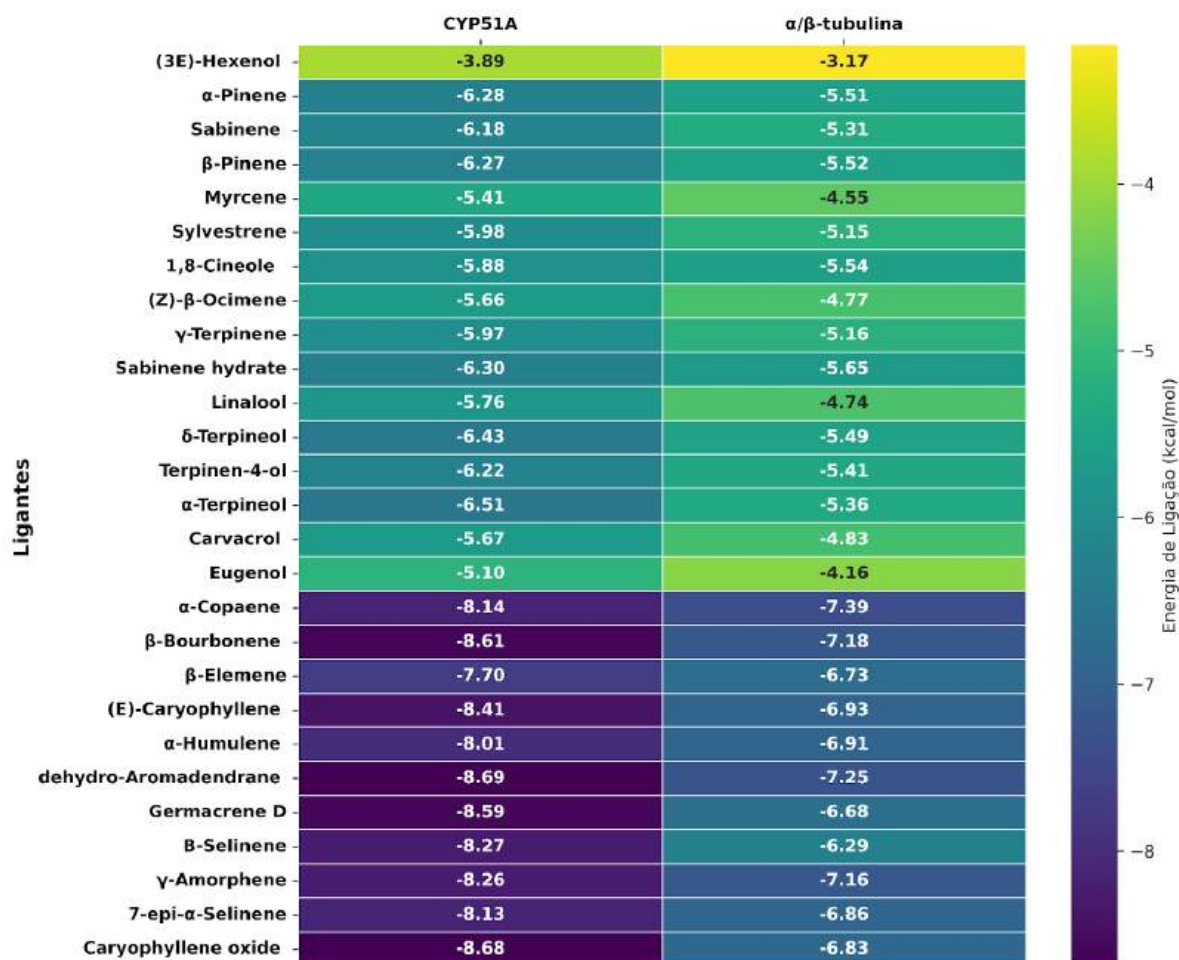


Fonte: Elaborado pelo autor, 2026

3.7 Docking Molecular

A Figura 9 (heatmap) sintetiza o desempenho do docking para os 27 ligantes do óleo essencial nas duas proteínas-alvo (CYP51A e α/β -tubulina), evidenciando o gradiente de energias estimadas de ligação (ΔG). Em termos globais, observa-se que CYP51A tende a apresentar ΔG mais negativos para a maioria dos compostos quando comparada à α/β -tubulina, sugerindo maior compatibilidade estérico-hidrofóbica com os ligantes. Em CYP51A, os valores variam aproximadamente de $-3,89$ a $-8,69$ kcal/mol, com um subconjunto de ligantes (predominantemente monoterpenos e compostos menores) exibindo escores em torno de $-5,10$ a $-6,51$ kcal/mol, enquanto sesquiterpenos e compostos mais hidrofóbicos apresentam ΔG mais favorável, de $-7,70$ a $-8,69$ kcal/mol.

Figura 9 - Heatmap das energias estimadas de ligação (ΔG) obtidas por docking molecular para 27 ligantes do óleo essencial nas proteínas-alvo CYP51A e α/β -tubulina.



Fonte: elaborado pelo autor, 2026

Para a α/β -tubulina, embora se mantenha o mesmo padrão qualitativo (ligantes mais volumosos com ΔG relativamente mais negativo), a faixa desloca-se para valores menos favoráveis, de $-3,17$ a $-7,39$ kcal/mol, indicando redução sistemática do escore em relação a CYP51A. O conjunto intermediário concentra-se aproximadamente entre $-4,16$ e $-5,65$ kcal/mol, enquanto o grupo mais favorável concentra-se entre $-6,29$ e $-7,39$ kcal/mol.

O composto dehydroaromadendrano apresentou o ΔG mais favorável em CYP51A ($-8,69$ kcal/mol), seguido por β -bourboneno ($-8,61$ kcal/mol) e germacreno D ($-8,59$ kcal/mol), configurando-se como os melhores candidatos do óleo em termos de afinidade estimada. Comparativamente, os valores de ΔG em α/β -tubulina foram sistematicamente menos negativos para a maioria dos ligantes, com diferenças médias de $0,8$ – $1,8$ kcal/mol entre os dois alvos, indicando uma tendência de maior afinidade estimada para CYP51A, especialmente entre os sesquiterpenos. Tal padrão sugere potencial de seletividade estrutural

para a lanosterol 14 α -desmetilase, embora essa inferência permaneça dependente de validação experimental.

3.8 Validação do protocolo com controles positivos (CYP51A)

A confiabilidade do protocolo de docking foi atestada pela análise dos inibidores azólicos comerciais (Tabela 4). Entre controles positivos, o itraconazol exibiu o menor ΔG médio ($-10,00 \pm 1,07$ kcal/mol), enquanto voriconazol ($-6,81 \pm 0,22$ kcal/mol) e tebuconazol ($-6,87 \pm 0,05$ kcal/mol) apresentaram valores próximos entre si, estabelecendo uma faixa de afinidades de referência para inibidores azólicos de CYP51. Os desvios-padrão reduzidos, especialmente para tebuconazol, indicam convergência consistente das poses ao longo das três réplicas no AutoDock 4.2.

Tabela 4. Parâmetros de docking para os controles positivos em CYP51A (média \pm desvio padrão, n=3).

Ligante	Energia Livre (ΔG) (kcal/mol)	RMSD (Å)	Distância ao Heme/Fe (Å)
Voriconazol	$-6,81 \pm 0,22$	$0,42 \pm 0,19$	$2,25 \pm 0,05$
Tebuconazol	$-6,87 \pm 0,05$	$1,36 \pm 0,25$	$2,42 \pm 0,02$
Itraconazol	$-10,00 \pm 1,07$	$1,30 \pm 0,09$	$2,38 \pm 0,28$

Fonte: Elaborado pelo autor, 2026

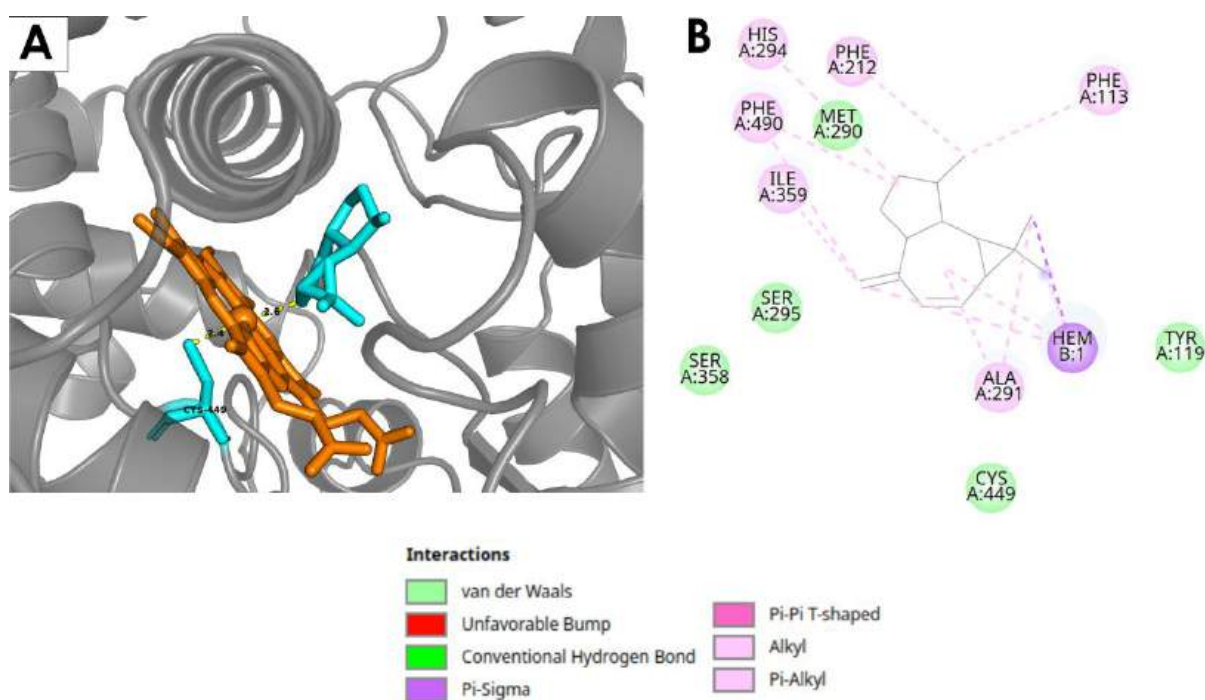
Os valores médios de RMSD entre as poses selecionadas foram de $0,42 \pm 0,19$ Å para voriconazol, $1,36 \pm 0,25$ Å para tebuconazol e $1,30 \pm 0,09$ Å para itraconazol, indicando convergência do algoritmo para modos de ligação similares entre réplicas. Além disso, as distâncias médias ao grupo heme ($2,25 \pm 0,05$, $2,42 \pm 0,02$ e $2,38 \pm 0,28$ Å, respectivamente) são consistentes com o posicionamento esperado de azóis no sítio ativo de CYP51, em proximidade estreita ao Fe-heme, conforme descrito para citocromos P450 14 α -desmetilases fúngicos, nos quais o par de elétrons do nitrogênio do anel azólico coordena-se ao ferro do grupo heme prostético (JAMES et al., 2020). Essa validação atesta a capacidade do protocolo de reproduzir modos de ligação compatíveis com o mecanismo de inibição da enzima.

3.9 Análise do ligante de melhor energia em CYP51A: dehydroaromadendrano

O sesquiterpeno dehydroaromadendrano foi selecionado para análise detalhada por apresentar o ΔG mais favorável no screening com a CYP51A ($-8,69$ kcal/mol), conforme

evidenciado no heatmap. O diagrama 2D de interações (Figura 10B) indica que esse sesquiterpeno interage majoritariamente com resíduos hidrofóbicos do sítio ativo, estabelecendo contatos com os resíduos do sítio ativo como PHE212, MET290 e HIS294, além de se localizar em proximidade ao cofator heme (HEM B:1). A coloração das interações no diagrama indica predomínio de contatos de van der Waals (verde-claro), interações alkyl e pi-alkyl (rosa claro) e sem formar ligações de hidrogênio, característico de ligantes apolares inseridos em cavidades hidrofóbicas.

Figura 10 - Modelo tridimensional do complexo CYP51A–dehydroaromadendrano evidenciando o posicionamento do ligante no sítio catalítico (azul) em relação ao grupo heme (laranja) (A); Diagrama bidimensional das interações do sesquiterpeno dehydroaromadendrano no sítio ativo da CYP51A obtido por docking molecular (B).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025

A visualização 3D (Figura 10A) revela que o dehydroaromadendrano se alinha paralelamente ao plano do heme, estabelecendo múltiplos contatos hidrofóbicos com os anéis porfirínicos e ocupando a região central do sítio catalítico. As distâncias anotadas indicam a aproximação do ligante de 2,6 Å ao heme. Observa-se também a referência estrutural da CYS449 com a distância de 2,4 Å ao heme, consistente com o papel de cisteína proximal em P450 e útil como controle interno da geometria do cofator na cena, configurando uma inserção profunda na cavidade catalítica, compatível com o posicionamento de substratos e inibidores de CYP51, embora sem evidência de coordenação direta ao Fe.

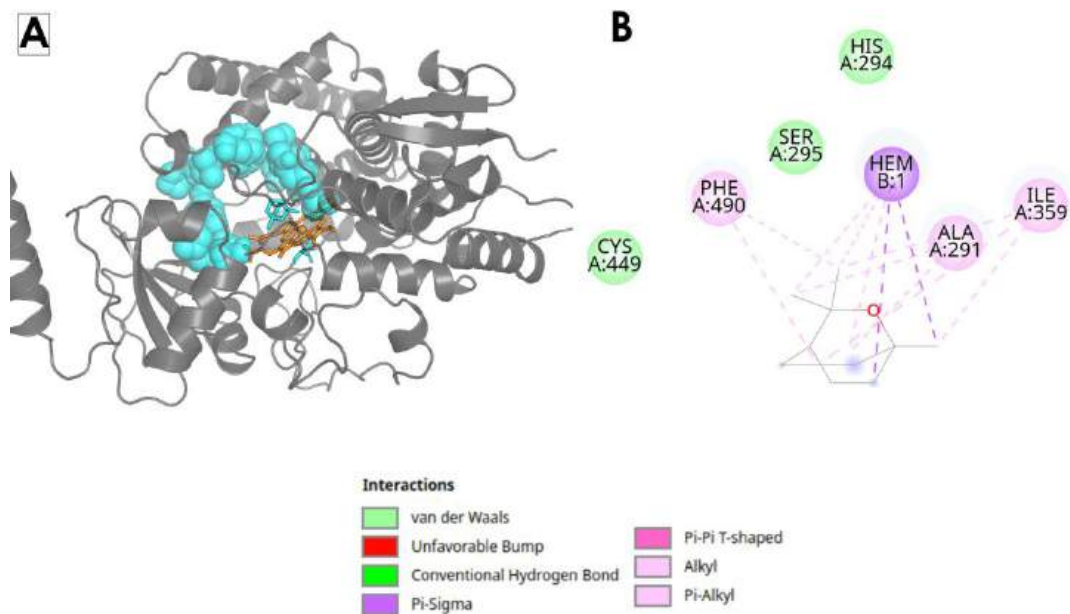
Quando comparado aos controles positivos, o ΔG de dehydroaromadendrano ($-8,69$ kcal/mol) é intermediário entre itraconazol ($-10,00$ kcal/mol) e voriconazol/tebuconazol ($\sim -6,8$ kcal/mol), sugerindo afinidade estimada superior aos triazóis de primeira geração, porém inferior ao antifúngico de maior potência. Essa observação indica que, no contexto do modelo de docking empregado, dehydroaromadendrano apresenta complementaridade estrutural relevante com CYP51A, embora a ausência de grupos coordenantes ao ferro limite sua capacidade de mimetizar o mecanismo inibitório dos azóis.

3.10 Compostos majoritários do óleo: 1,8-cineole e eugenol

No heatmap, 1,8-cineol apresentou ΔG em CYP51A de $-5,88$ kcal/mol, posicionando-se entre os ligantes de afinidade intermediária, inferior aos sesquiterpenos e aos azóis de referência. O diagrama 2D (Figura 11 B) indica que o monoterpeno oxigenado interage com os resíduos ALA291, HIS294, SER29 do sítio ativo e o cofator heme (HEM B:1), entre outros. As interações representadas são predominantemente hidrofóbicas (van der Waals e pi-alkyl) e sem indicação de ligações de hidrogênio envolvendo o oxigênio do monoterpeno.

A representação 3D (Figura 11A) revela que 1,8-cineol ocupa uma região próxima ao plano do heme, com o átomo de oxigênio do composto orientado em direção à porfirina. As distâncias numéricas exibidas indicam aproximação do ligante de $2,6 \text{ \AA}$ ao heme, bem como a distância do heme de $2,4 \text{ \AA}$ à CYS449, referência do arranjo estrutural do heme. Estudos recentes demonstraram que 1,8-cineol apresenta atividade antifúngica contra *Fusarium solani* (MIC = $46,1 \mu\text{g/mL}$), com mecanismo relacionado à inibição da biossíntese de ergosterol via upregulação de genes CYP51, corroborando a plausibilidade de interação com essa enzima (ZHANG et al., 2022).

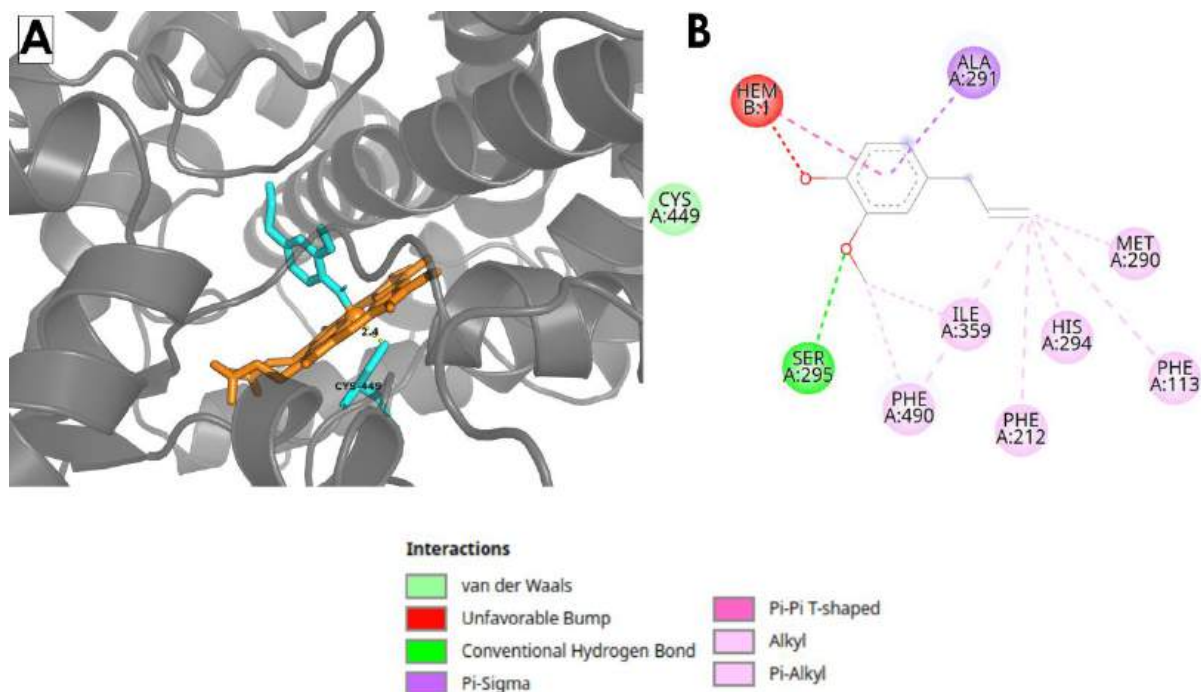
Figura 11 - Modelo tridimensional do complexo CYP51A–1,8-cineol evidenciando o posicionamento do ligante no sítio catalítico (azul) em relação ao grupo heme (laranja) (A); Diagrama bidimensional das interações do 1,8-cineol no sítio ativo da CYP51A obtido por docking molecular (B).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025

O eugenol apresentou um $\Delta G = -5,10$ kcal/mol, situando-se entre os ligantes menos favoráveis do conjunto, porém ainda dentro da faixa em que a formação de complexos. O mapa 2D (Figura 11B) evidencia que o anel aromático substituído interage com resíduos hidrofóbicos do sítio ativo, incluindo PHE212, MET290, ALA291 e HIS294, além do heme, enquanto o grupo hidroxila fenólico estabelece uma ligação de hidrogênio convencional (verde) com SER295. Além disso, o diagrama 2D indica também um contato desfavorável (vermelho) entre o grupo metoxi e o cofator heme, sugerindo impedimento estérico que pode contribuir para a menor afinidade estimada.

Figura 12 - Modelo tridimensional do complexo CYP51A–Eugenol evidenciando o posicionamento do ligante no sítio catalítico (azul) em relação ao grupo heme (laranja) (A); Diagrama bidimensional das interações do Eugenol no sítio ativo da CYP51A obtido por docking molecular (B).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025

A visualização 3D (Figura 11A) mostra eugenol relativamente próximo ao plano do heme, com a porção aromática alinhada paralelamente à porfirina e o braço alílico orientado ao longo da cavidade, enquanto o grupo hidroxila se volta para SER295. A distância entre o ligante e o Fe-heme é de aproximadamente 1,7 Å, representando a aproximação mais estreita entre todos os ligantes analisados. Contudo, essa proximidade excessiva está associada ao contato desfavorável observado no diagrama 2D, indicando que a orientação adotada pelo eugenol no sítio ativo gera sobreposição estérica prejudicial à estabilidade do complexo. Derivados de eugenol têm demonstrado atividade antifúngica contra *Fusarium solani* f. sp. piperis, com alguns análogos superando tebuconazol em potência, o que sustenta o interesse nessa classe de compostos como ponto de partida para otimização estrutural (MAXIMINO et al., 2020).

3.11 Docking Molecular no Heterodímero α/β -Tubulina (*Colchicine Binding Site*)

3.11.1 Visão geral do screening no colchicine binding site (CBS)

A avaliação da afinidade teórica dos 27 constituintes do óleo essencial frente ao sítio de ligação da colchicina (CBS), localizado na interface do heterodímero α/β -tubulina, revelou um perfil energético heterogêneo, influenciado pela natureza química e volumétrica dos ligantes. O heatmap de energias de ligação (Figura) revela que os 27 constituintes do óleo essencial apresentaram valores de ΔG no CBS da α/β -tubulina distribuídos em uma faixa aproximada de $-3,2$ a $-7,4$ kcal/mol.

O composto α -copaeno apresentou o ΔG mais favorável em α/β -tubulina ($-7,39$ kcal/mol), seguido por dehydroaromadendrano ($-7,25$ kcal/mol) e β -bourboneno ($-7,18$ kcal/mol), configurando-se como os melhores candidatos do óleo em termos de afinidade estimada para o CBS. Comparativamente, observa-se que, embora o α -copaeno apresente alta afinidade pela tubulina, sua interação com a CYP51A é ainda mais vantajosa ($-8,14$ kcal/mol). Esta tendência repete-se para a maioria dos sesquiterpenos (β -bourboneno, dehydroaromadendrene). Esse padrão sugere que a cavidade do CBS apresenta menor complementaridade estrutural para esses terpenoides em comparação com o sítio catalítico de CYP51A, podendo atuar como um alvo secundário ou sinérgico para este óleo essencial

3.11.2 Validação do protocolo com controles positivos (α/β -tubulina)

Os controles positivos benzimidazol, carbendazim e nocodazol apresentaram energias de ligação médias de $-4,15 \pm 0,00$, $-3,86 \pm 0,01$ e $+2,75 \pm 0,06$ kcal/mol, respectivamente (Tabela 5). Os valores de RMSD entre as réplicas foram extremamente baixos ($0,00 \pm 0,00$ Å para benzimidazol, $0,02 \pm 0,01$ Å para carbendazim e $0,06 \pm 0,01$ Å para nocodazol), indicando convergência consistente das poses ao longo das três réplicas de 100 runs executadas no AutoDock 4.2, com elevada reprodutibilidade conformacional.

Tabela 5 - Parâmetros de docking para os controles positivos no CBS de α/β -tubulina (média \pm desvio padrão).

Ligante	Energia Livre (ΔG) (kcal/mol)	RMSD (Å)
Benzimidazole	$-4,15 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$
Carbendazim	$-3,86 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,01$
Nocodazole	$+2,75 \pm 0,06$	$0,06 \pm 0,01$

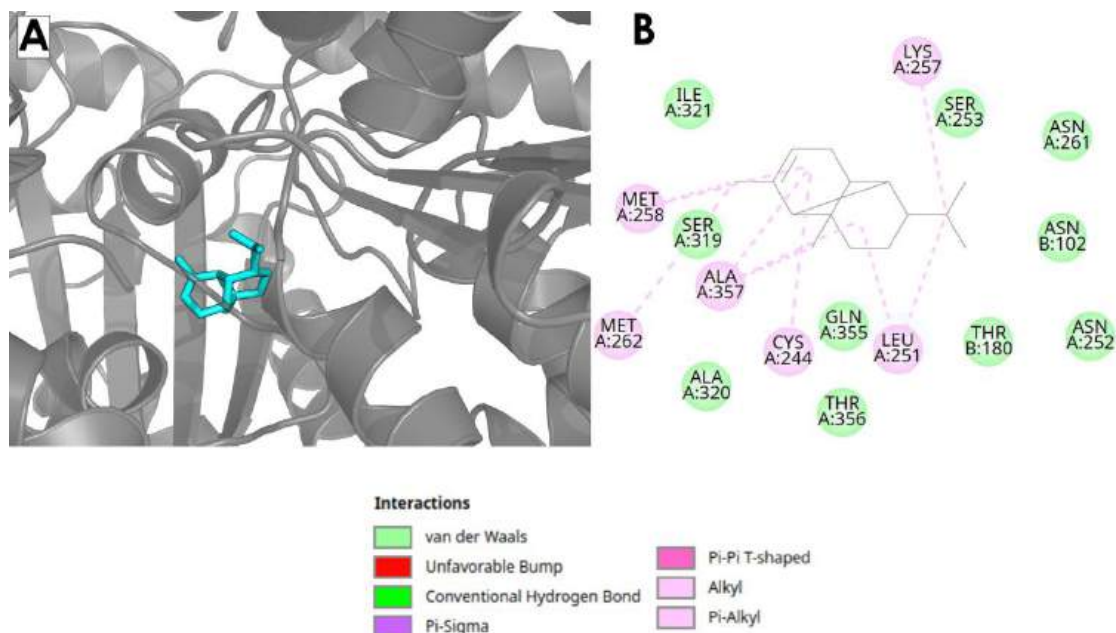
Fonte: Elaborado pelo autor, 2025

O resultado obtido para nocodazol requer interpretação cautelosa, uma vez que o ΔG positivo (+2,75 kcal/mol) é inconsistente com sua função de ligante cocristalizado no CBS da estrutura-molde PDB 5CA1 (WANG et al., 2016), mas o RMSD reduzido indica que as réplicas convergiram para um modo geométrico semelhante. Esse comportamento pode decorrer de limitações inerentes ao protocolo de docking, incluindo: (i) tratamento rígido do receptor, que impede ajustes conformacionais do CBS necessários para acomodar ligantes volumosos como nocodazol; (ii) dimensões da grid box ($15 \times 15 \times 15 \text{ \AA}$), potencialmente insuficientes para permitir a exploração completa do espaço conformacional do ligante; e (iii) diferenças entre a β -tubulina modelada por homologia e a estrutura cristalográfica de referência (FORLI et al., 2016). Por outro lado, benzimidazol e carbendazim apresentaram valores de ΔG negativos compatíveis com a literatura, validando parcialmente o protocolo para ligantes de menor volume molecular (VELA-CORCÍA et al., 2018).

3.11.3 Análise do ligante de melhor energia em α/β -tubulina: α -

O sesquiterpeno tricíclico α -copaeno foi selecionado para análise detalhada por apresentar o ΔG mais favorável no screening em α/β -tubulina ($-7,39$ kcal/mol) e acomodou-se bem na cavidade interfacial da subunidade β -tubulina. O diagrama 2D de interações (Figura 16) indica que esse composto se posiciona no interior do CBS estabelecendo contatos com múltiplos resíduos hidrofóbicos do sítio ativo da β -tubulina (cadeia A), incluindo CYS244, LEU251, MET258, SER319, ILE321, THR356 e ALA357, além de contribuições de ASN102 e THR180 da cadeia B (α -tubulina). Sugerindo participação de elementos da interface do heterodímero no confinamento do bolsão.

Figura 13 - Modelo tridimensional do complexo α/β -tubulina- α -copaeno evidenciando o posicionamento do ligante no sítio de ligação à colchicina (CBS) (azul) (A); Diagrama bidimensional das interações do α -copaeno no sítio ativo da colchicina (CBS) da α/β -tubulina obtido por docking molecular (B).



Fonte: Elaborado pelo autor, 2025

A visualização 3D (Figura 12A) revela que o esqueleto do α -copaeno ocupa a região central do CBS, orientando-se de forma a maximizar os contatos com os resíduos alifáticos que delimitam o bolso de ligação. O ligante posiciona-se em uma cavidade bem definida entre as hélices da subunidade β -tubulina, com inserção profunda no sítio. Quando comparado aos controles positivos, o ΔG de α -copaeno ($-7,39$ kcal/mol) é mais favorável que os de benzimidazol ($-4,15$ kcal/mol) e carbendazim ($-3,86$ kcal/mol), sugerindo afinidade estimada superior aos benzimidazóis de referência. Essa observação é coerente com a natureza predominantemente hidrofóbica do CBS, que favorece sesquiterpenos apolares em detrimento de heterociclos nitrogenados de menor volume. Estudos indicam que α -copaeno apresenta atividade antibacteriana com MIC entre 0,5 e 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (CHEN et al., 2024).

3.12 Compostos majoritários do óleo: 1,8-cineole e eugenol

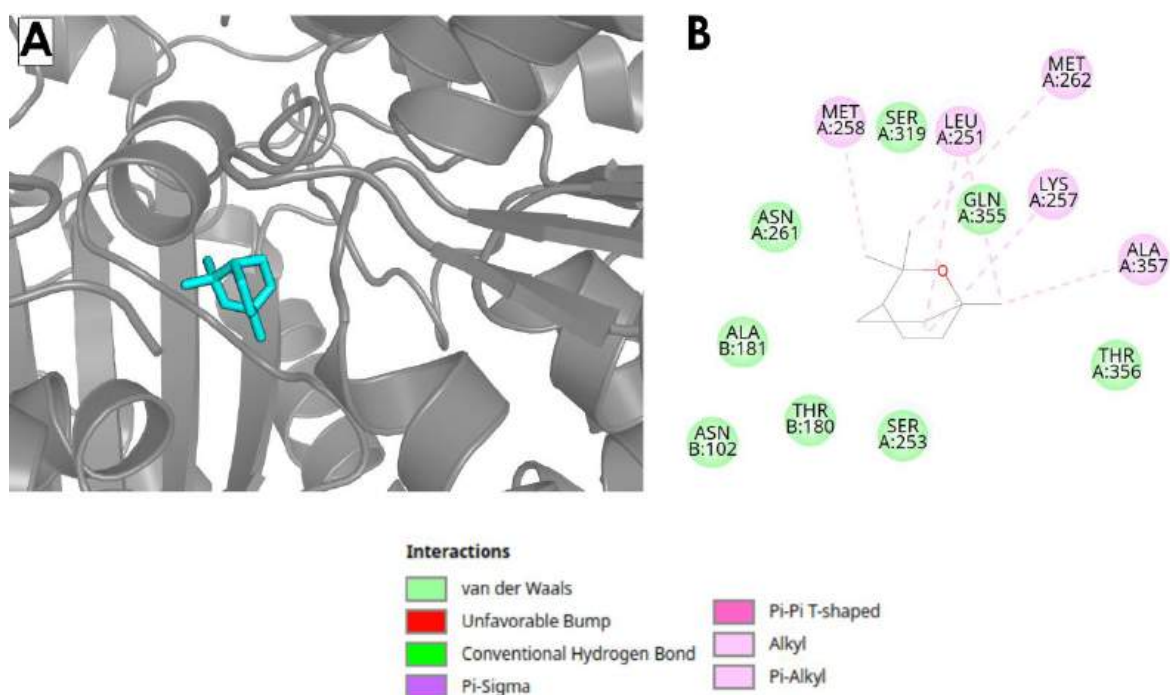
3.12.1 - 1,8-cineole

O 1,8-cineol apresentou ΔG de $-5,54$ kcal/mol, posicionando-se entre os ligantes de afinidade intermediária; o diagrama 2D (Figura 13B) indica que o monoterpreno oxigenado interage com resíduos do CBS da β -tubulina, incluindo LEU251, MET258, SER319,

THR356, ALA357 e resíduos da cadeia B (THR180, ASN102, ALA181) com contatos predominantemente de natureza alkyl e pi-alkyl, sem formação de ligações de hidrogênio.

A representação 3D revela que 1,8-cineol (Figura 13A) ocupa uma porção do bolso do CBS, com o sistema orientado paralelamente às paredes da cavidade hidrofóbica. A ocupação parcial do bolso, decorrente do menor volume molecular do 1,8-cineol em comparação com sesquiterpenos, pode explicar sua afinidade estimada.

Figura 14 - Modelo tridimensional do complexo α/β -tubulina- α -1,8-cineol evidenciando o posicionamento do ligante no sítio de ligação à colchicina (CBS) (azul) (A); Diagrama bidimensional das interações do 1,8-cineol no sítio de ligação à colchicina (CBS) da α/β -tubulina obtido por docking molecular (B).



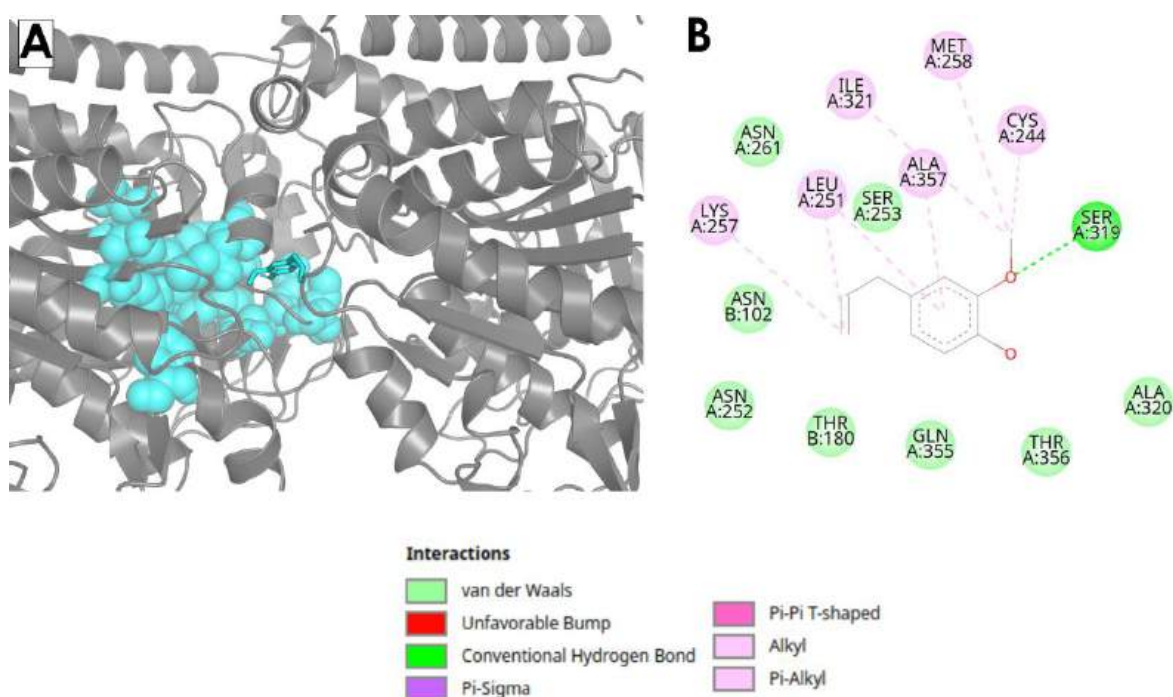
Fonte: Elaborado pelo autor, 2025

3.12.2 Eugenol

O eugenol apresentou, com ΔG de $-4,16$ kcal/mol, situando-se entre os ligantes menos favoráveis do conjunto, com afinidade estimada próxima à de benzimidazol. O mapa 2D (Figura) evidencia que o ligante interage com resíduos do CBS na β -tubulina, incluindo CYS244, LEU251, MET258, ILE321, THR356, ALA357 e sendo capaz de formar uma ligação de hidrogênio com o resíduo SER319, além de também formar contatos hidrofóbicos com os resíduos ASN102 e THR180 da α -tubulina.

A visualização 3D mostra eugenol posicionado no interior do CBS, com a porção aromática alinhada paralelamente às paredes da cavidade e o braço alílico orientado em direção à abertura do bolso e o grupo polar voltado para a vizinhança de SER319. Apesar dessa contribuição polar, a afinidade estimada de eugenol permanece inferior à de 1,8-cineol e dos sesquiterpenos, sugerindo que a complementaridade hidrofóbica mais extensa proporcionada por ligantes maiores é determinante para a estabilização no CBS.

Figura 15 - Visualização tridimensional do complexo α/β -tubulina–eugenol evidenciando o posicionamento do ligante no sítio de ligação à colchicina (CBS) (A); Diagrama bidimensional das interações do eugenol no sítio de ligação à colchicina (CBS) da α/β -tubulina obtido por docking molecular.



O caráter predominantemente hidrofóbico de 1,8-cineol, resulta em interações exclusivamente apolares com os resíduos do CBS, sem contribuições polares significativas. Em contraste, a maior polaridade de eugenol, conferida pelo grupo hidroxila fenólico, permite o estabelecimento de uma ligação de hidrogênio, diversificando o perfil de interações. Contudo, essa contribuição polar não compensa a menor extensão de contatos hidrofóbicos, resultando em uma diferença de aproximadamente 1,4 kcal/mol em favor de 1,8-cineol. Esse padrão indica que, no CBS da α/β -tubulina, o volume molecular e a capacidade de estabelecer contatos hidrofóbicos extensos constituem os principais determinantes da afinidade estimada.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste capítulo demonstram que o OE de manjerição tem potencial para atuar como um controle alternativo para *N. keratoplastica*. Nos ensaios *in vitro*, foi observada inibição do crescimento micelial, com variações relacionadas à composição química dos óleos e às concentrações testadas. Nos experimentos *in vivo*, determinadas concentrações mostraram-se eficazes na redução do desenvolvimento do patógeno sem causar efeitos fitotóxicos severos às plantas, indicando viabilidade para aplicação prática no manejo da doença. Esses resultados reforçam o potencial dos óleos essenciais como alternativas naturais no controle de fitopatógenos em sistemas ornamentais. As análises *in silico* complementaram os dados biológicos ao indicar possíveis interações entre compostos majoritários dos óleos essenciais e alvos moleculares relevantes do fungo, contribuindo para a compreensão dos mecanismos de ação envolvidos. De forma geral, a integração das abordagens *in vitro*, *in vivo* e *in silico* permitiu uma avaliação do potencial antifúngico dos OE, mostrando sua aplicabilidade como componentes de estratégias sustentáveis de manejo.

REFERENCIAS

- ABD RASHED A, RATHI DG, AHMAD NASIR NAH, ABD RAHMAN AZ. Antifungal Properties of Essential Oils and Their Compounds for Application in Skin Fungal Infections: Conventional and Nonconventional Approaches. **Molecules**. 2021 Feb 19;26(4):1093. doi: 10.3390/molecules26041093. PMID: 33669627; PMCID: PMC7922942.
- AHAMAD, Javed. Characterization of essential oil composition of *Syzygium aromaticum* Linn.(Clove) by GC-MS and evaluation of its antioxidant activity. **Journal of Angiotherapy**, v. 7, n. 1, p. 1-5, 2023.
- ALIPOUR, M., SAHARKHIZ, M. J., NIAKOUSARI, M., & DAMYEH, M. S. Phytotoxicity of encapsulated essential oil of rosemary on germination and morphophysiological features of amaranth and radish seedlings. **Scientia Horticulturae**, v. 243, p. 131-139, 2019.
- ARRIAGA, Â. M. C., MACHADO, M. I. L., GOMES, G. A., & CRAVEIRO, A. A. (1998). Volatile Constituents from Roots of *Bowdichia virgilioides* Kunt. **Journal of Essential Oil Research**, 10(2), 205–206. <https://doi.org/10.1080/10412905.1998.9700881>
- BARROS, ALESSANDRA MACEDO; FERREIRA, TALITA PEREIRA DE SOUZA. Controle preventivo de doenças pós-colheita em citros (laranja, mexerica e limão) utilizando óleo essencial de Noni e *Saccharomyces cerevisiae*. 2022. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) Universidade Federal do Tocantins. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11612/4328>
- BÉJAOUÏ A, CHAABANE H, JEMLI M, BOULILA A, BOUSSAÏD M. Essential oil composition and antibacterial activity of *Origanum vulgare* subsp. glandulosum Desf. at different phenological stages. **J Med Food**. 2013 Dec;16(12):1115-20. doi: 10.1089/jmf.2013.0079. Epub 2013 Dec 9. PMID: 24320986; PMCID: PMC3868303.
- CELIA-SANCHEZ, Brandi N.; MANGUM, Brandon; BREWER, Marin; MOMANY, Michelle. Analysis of Cyp51 protein sequences shows 4 major Cyp51 gene family groups across fungi. **G3 Genes|Genomes|Genetics**, [S. l.], v. 12, n. 11, p. jkac249, 2022. DOI: 10.1093/g3journal/jkac249.
- CHEN, Shangyan et al. Antimicrobial activity and mechanism of α -copaene against foodborne pathogenic bacteria and its application in beef soup. **LWT**, [S. l.], v. 195, p. 115848, 2024. DOI: 10.1016/j.lwt.2024.115848.
- CHOWHAN, N., SINGH, H. P., BATISH, D. R., KAUR, S., AHUJA, N., & KOHLI, R. K. β -Pinene inhibited germination and early growth involves membrane peroxidation. **Protoplasma**, v. 250, n. 3, p. 691-700, 2013.
- COLORADO, BEATRIZ EUGENIA JARAMILLO; SUAREZ-LÓPEZ, SAMYR; MARRUGO-SANTANDER, VANESSA. Volatile chemical composition of essential oil from *Bursera graveolens* (Kunth) Triana & Planch and their fumigant and repellent activities. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 41, p. 46822, 2019.
- COSTA, L. T., SMAGGHE, G., JUMBO, L. O. V., SANTOS, G. R., AGUIAR, R. W., & OLIVEIRA, E. E. . Selective actions of plant-based biorational insecticides: Molecular

mechanisms and reduced risks to non-target organisms. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, p. 100601, 2025.

DAS, S., SINGH, V. K., CHAUDHARI, A. K., DWIVEDY, A. K., & DUBEY, N. K. Co-encapsulation of *Pimpinella anisum* and *Coriandrum sativum* essential oils based synergistic formulation through binary mixture: Physico-chemical characterization, appraisal of antifungal mechanism of action, and application as natural food preservative. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 184, p. 105066, 2022.

DEQUECH, S.T. B.; DO PRADO RIBEIRO, L.; SAUSEN, C.D.; EGEWARTH, R.; KRUSE, N. D. Fitotoxicidade causada por inseticidas botânicos em feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado em estufa plástica. **Revista da FZVA**, v. 15, n. 1, 2008.

DON, O. R. A., AHI, P. A., KABARAN, F. A., & ZIAO, N. Determination of the Chemical Volatile Compounds of a Chili Pepper Cultivar (*Capsicum Annuum*) Grown in Eastern Côte d'Ivoire. **Asian Journal of Applied Sciences**, v. 7, n. 3, 2019.

EVANGELISTA, Patrícia Monteiro et al. EXTRAÇÃO E PERFIL CROMATOGRÁFICO DE ÓLEO ESSENCIAL DE ERVA-DOCE (*Pimpinella anisum* L.) OBTIDO PELO MÉTODO DE HIDRODESTILAÇÃO DE CLEVINGER. In: ANAIS DO SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO (SLACAN), 2023, Campinas. Anais eletrônicos..., Galoá, 2023.

FORLI, Stefano; HUEY, Ruth; PIQUE, Michael E.; SANNER, Michel; GOODSSELL, David S.; OLSON, Arthur J. Computational protein-ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite. **Nature protocols**, [S. l.], v. 11, n. 5, p. 905–919, 2016. DOI: 10.1038/nprot.2016.051.

GALOVIČOVÁ L, BOROTOVÁ P, VALKOVÁ V, VUKOVIC NL, VUKIC M, ŠTEFÁNIKOVÁ J, ĎURANOVÁ H, KOWALCZEWSKI PŁ, ČMIKOVÁ N, KAČÁNIOVÁ M. *Thymus vulgaris* Essential Oil and Its Biological Activity. **Plants (Basel)**. 2021 Sep 19;10(9):1959. doi: 10.3390/plants10091959. PMID: 34579491; PMCID: PMC8467294.

GIL, A., VAN BAREN, C. M., DI LEO LIRA, P. M., & BANDONI, A. L. Identification of the genotype from the content and composition of the essential oil of lemon verbena (*Aloysia citriodora* Palau). **Journal of Agricultural and Food chemistry**, v. 55, n. 21, p. 8664-8669, 2007.

GUARNACCIA, V., AIELLO, D., POLIZZI, G., CROUS, P. W., & SANDOVAL-DENIS, M. Soilborne diseases caused by *Fusarium* and *Neocosmospora* spp. on ornamental plants in Italy. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 58, n. 1, p. 127-138, 2019.

GUENGERICH, F. Peter; WATERMAN, Michael R.; EGLI, Martin. Recent Structural Insights into Cytochrome P450 Function. **Trends in Pharmacological Sciences**, [S. l.], v. 37, n. 8, p. 625–640, 2016. DOI: 10.1016/j.tips.2016.05.006.

GUILHERME, E. O., GIONGO, M. V., ARAUJO, S. H., FERREIRA, T. P., MORAES, C. B., MOURA, W. S., ... & SANTOS, G. R. Jenipapo, *Genipa americana* L., essential oil and *Curvularia lunata* control: Potential mode-of-action; plant immune responses and selectivity against beneficial non-target organisms. **Industrial Crops and Products**, v. 199, p. 116708, 2023.

GUIMARÃES, L.G.L.; CARDOSO, M.G.; ZACARONI, L.M.; LIMA, R.K. Influence of light and temperature on the oxidation of the essential oil of lemongrass (*Cymbopogon Citratus* (D.C.) Stapf). **Química Nova**, v. 31, n.6, p. 1476–1480, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000600037>.

GWINN, K. D., HANSEN, Z. R., KELLY, H. M., & OWNLEY, B. H. Diseases of Cannabis sativa Caused by Diverse *Fusarium* Species. **Frontiers in Agronomy**, 3., 2022 <https://doi.org/10.3389/fagro.2021.796062>

HAFFAR A, YAMEEN M, KIRAN S, KAMAL S, JALAL F, MUNIR B, SALEEM S, RAFIQ N, AHMAD A, SABA I, JABBAR A. Chemical Composition and in-Vitro Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activities of Essential Oils Extracted from Seven *Eucalyptus* Species. **Molecules**. 2015 Nov 18;20(11):20487-98. doi: 10.3390/molecules201119706. PMID: 26593893; PMCID: PMC6332271.

HARGROVE, Tatiana Y.; WAWRZAK, Zdzislaw; LAMB, David C.; GUENGERICH, F. Peter; LEPESHEVA, Galina I. Structure-Functional Characterization of Cytochrome P450 Sterol 14 α -Demethylase (CYP51B) from *Aspergillus fumigatus* and Molecular Basis for the Development of Antifungal Drugs *. **Journal of Biological Chemistry**, [S. l.], v. 290, n. 39, p. 23916–23934, 2015. DOI: 10.1074/jbc.M115.677310.

HAZRATI, H., SAHARKHIZ, M. J., NIAKOUSARI, M., & MOEIN, M. Natural herbicide activity of *Satureja hortensis* L. essential oil nanoemulsion on the seed germination and morphophysiological features of two important weed species. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 142, p. 423-430, 2017.

HEKKELMAN, Maarten L.; DE VRIES, Ida; JOOSTEN, Robbie P.; PERRAKIS, Anastassis. AlphaFill: enriching AlphaFold models with ligands and cofactors. **Nature Methods**, [S. l.], v. 20, n. 2, p. 205–213, 2023. DOI: 10.1038/s41592-022-01685-y.

HOH, Daphne Z. et al. Comparative genomic and transcriptomic analyses of trans-kingdom pathogen *Fusarium solani* species complex reveal degrees of compartmentalization. **BMC Biology**, [S. l.], v. 20, n. 1, p. 236, 2022. DOI: 10.1186/s12915-022-01436-7.

HORGAN, Mark James; ZELL, Lukas; SIEWERT, Bianka; STUPPNER, Hermann; SCHUSTER, Daniela; TEMML, Veronika. Identification of Novel β -Tubulin Inhibitors Using a Combined In Silico/In Vitro Approach. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [S. l.], v. 63, n. 20, p. 6396–6411, 2023. DOI: 10.1021/acs.jcim.3c00939.

JAMES, Jasper Elvin; LAMPING, Erwin; SANTHANAM, Jacinta; MILNE, Trudy Jane; ABD RAZAK, Mohd Fuat; ZAKARIA, Latiffah; CANNON, Richard David. A 23 bp cyp51A Promoter Deletion Associated With Voriconazole Resistance in Clinical and Environmental Isolates of *Neocosmospora keratoplastica*. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 11, 2020. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00272. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2020.00272/full>. Acesso em: 8 jan. 2026.

JESUS, A. D., COELHO, C. R., BARRETO, I. C., SENA-FILHO, J. G., NOGUEIRA, P. D. L., TEODORO, A. V., & SILVA, A. D. Composition and bioactivity of essential oil from the leaves of *Genipa americana* against the coconut mite *Aceria guerreronis*. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 18, p. 197, 2019.

JUMPER, John et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. **Nature**, [S. l.], v. 596, n. 7873, p. 583–589, 2021. DOI: 10.1038/s41586-021-03819-2.

KAMALI-SARVESTANI, Sahar; MOSTOWFIZADEH-GHALAMFARSA, Reza; SALMANINEZHAD, Fatemeh; *et al.* Fusarium and Neocosmospora Species Associated with Rot of Cactaceae and Other Succulent Plants. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 4, p. 364, 2022

KAUR S, RANA S, SINGH HP, BATISH DR, KOHLI RK. Citronellol disrupts membrane integrity by inducing free radical generation. **Z Naturforsch C J Biosci**. 2011 May-Jun;66(5-6):260-6. doi: 10.1515/znc-2011-5-609. PMID: 21812343.

KIM, Gyuri; LEE, Sewon; LEVY KARIN, Eli; KIM, Hyunbin; MORIWAKI, Yoshitaka; OVCHINNIKOV, Sergey; STEINEGGER, Martin; MIRDITA, Milot. Easy and accurate protein structure prediction using ColabFold. **Nature Protocols**, [S. l.], v. 20, n. 3, p. 620–642, 2025. DOI: 10.1038/s41596-024-01060-5.

KOCH, Aline; STEIN, Elke; KOGEL, Karl-Heinz. RNA-based disease control as a complementary measure to fight Fusarium fungi through silencing of the azole target Cytochrome P450 Lanosterol C-14 α -Demethylase. **European Journal of Plant Pathology**, [S. l.], v. 152, n. 4, p. 1003–1010, 2018. DOI: 10.1007/s10658-018-1518-4.

LASKOWSKI, R. A.; MACARTHUR, M. W.; MOSS, D. S.; THORNTON, J. M.; IUCR. PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures. **urn:issn:0021-8898**, [S. l.], v. 26, n. 2, p. 283–291, 1993. DOI: 10.1107/S0021889892009944.

LIMA, J. A. C., SILVA, J. F., CAIANA, R. R. A., JÚNIOR, J. P. S., OLIVEIRA, W. A., & FREITAS, J. C. R. Síntese, atividade antifúngica e docking molecular de derivados do eugenol. **Scientia Plena**, v. 16, n. 5, 2020.

LU, X., HU, K., OU, M., LI, M., ZHANG, X., ZHAN, X., ... & LI, R. Synergistic antifungal activity and mechanism of carvacrol/citral combination against fusarium oxysporum in *Dendrobium officinale*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, p. 106671, 2025.

LU, Yan; CHEN, Jianjun; XIAO, Min; LI, Wei; MILLER, Duane D. An Overview of Tubulin Inhibitors That Interact with the Colchicine Binding Site. **Pharmaceutical Research**, [S. l.], v. 29, n. 11, p. 2943–2971, 2012. DOI: 10.1007/s11095-012-0828-z.

MAXIMINO, Sarah C. et al. Synthesis of Eugenol Derivatives and Evaluation of their Antifungal Activity Against *Fusarium solani* f. sp. *piperis*. **Current Pharmaceutical Design**, [S. l.], v. 26, n. 14, p. 1532–1542, 2020. DOI: 10.2174/138161282666200403120448.

MENEZES, C. P., MEDEIROS, C. I. S., DE LIMA PEREZ, A. L. A., DE SOUSA, J. P., PINHEIRO, L. S., DE OLIVEIRA FILHO, A. A., & DE OLIVEIRA LIMA, E. Citral: antifungal activity and mode of action, against *Cladosporium oxysporum*. **Ciência e Natura**, v. 42, p. e54-e54, 2020.

MIRDITA, Milot; SCHÜTZE, Konstantin; MORIWAKI, Yoshitaka; HEO, Lim; OVCHINNIKOV, Sergey; STEINEGGER, Martin. ColabFold: making protein folding accessible to all. **Nature Methods**, [S. l.], v. 19, n. 6, p. 679–682, 2022. DOI: 10.1038/s41592-022-01488-1.

MOHAMED, Hebatalla; CHILD, Stella A.; DOHERTY, Daniel Z.; BRUNING, John B.; BELL, Stephen G. Structural determination and characterisation of the CYP105Q4 cytochrome P450 enzyme from *Mycobacterium marinum*. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [S. l.], v. 754, p. 109950, 2024. DOI: 10.1016/j.abb.2024.109950.

MONA, M. M. et al. Fungicidal and fungistatic activity of some plant essential oils against *Alternaria solani* the causal of tomato early blight. **Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences**, v. 7, n. 4, p. 998-1004, 2016.

MORRIS, Garrett M.; HUEY, Ruth; LINDSTROM, William; SANNER, Michel F.; BELEW, Richard K.; GOODSELL, David S.; OLSON, Arthur J. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, [S. l.], v. 30, n. 16, p. 2785–2791, 2009. DOI: 10.1002/jcc.21256.

MOURÃO, D.D.S.C.; DIAS, B.L.; DALCIN, M.S.; VITERI, L.O.; GONZALES, M.A.; FERNANDES, P.R.S.; SILVA, V.B.; COSTA, M.A.; GONZÁLEZ, M.J.; AMARAL, A.G.; et al. Effect of *Xylopiia frutescens* Essential Oil on the Activation of Defense Mechanisms Against Phytopathogenic Fungi. **Microorganisms** 2025, 13, 2571.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms13112571>

NAKASUGI, L. P., BOMFIM, N. S., ROMOLI, J. C. Z., NERILO, S. B., SILVA, M. V., OLIVEIRA, G. H. R., & MACHINSKI JR, M. Efeitos antifúngico e antiaflatoxigênico de timol e carvacrol em *Aspergillus flavus*. **Saúde Pesqui.(Online)**, p. 113-123, 2021.

NAZZARO, F., FRATIANNI, F., COPPOLA, R., & DE FEO, V. Essential oils and antifungal activity. **Pharmaceuticals**, 10(4), 86, 2017

NIKKHAH, M., HASHEMI, M., NAJAFI, M. B. H., & FARHOOSH, R. Synergistic effects of some essential oils against fungal spoilage on pear fruit. **International Journal of Food Microbiology**, v. 257, p. 285-294, 2017.

PEIXINHO, GEORGIA DE SOUZA; RIBEIRO, VALTEMIR GONÇALVES; AMORIM, Edna Peixoto da Rocha. Action of the essential oil of mint (*Mentha arvensis*) on the pathogen *Lasiodiplodia theobromae* in bunches of grapevine cv. Itália. **Summa Phytopathologica**, v. 43, p. 32-35, 2017.

PRADO, A.CH.G. GARCES, E. BAGAGLI, V.L.M. RALL, A. FURLANETTO, A. FERNANDES JUNIOR, F.B. FURTADO, Schinus molle essential oil as a potential source of bioactive compounds: antifungal and antibacterial properties, **Journal of Applied Microbiology**, Volume 126, Issue 2, 1 February 2019, Pages 516–522,
<https://doi.org/10.1111/jam.14157>

QUEIROZ, M. F., LIMA, M. A. G., PEREIRA, J. E., BARROSO, K. A., DA PAZ, C. D., LUCCHESI, A. M., & PEIXOTO, A. R. Essential oils in the management of soft rot of kale in the Brazilian semiarid region. **Bioscience Journal**, v. 36, p. 143-155, 2020.

RABELO, Vitor W.; SANTOS, Taísa F.; TERRA, Luciana; SANTANA, Marcos V.; CASTRO, Helena C.; RODRIGUES, Carlos R.; ABREU, Paula A. Targeting CYP51 for drug design by the contributions of molecular modeling. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, [S. l.], v. 31, n. 1, p. 37–53, 2017. DOI: 10.1111/fcp.12230.

RADAELLI, M., DA SILVA, B. P., WEIDLICH, L., HOEHNE, L., FLACH, A., DA COSTA, L. A. M. A., & ETHUR, E. M. . Antimicrobial activities of six essential oils commonly used as condiments in Brazil against *Clostridium perfringens*. **Brazilian journal of microbiology**, v. 47, n. 2, p. 424-430, 2016.

RUIZ, S., MALAGÓN, O., ZARAGOZA, T., & VALAREZO, E. (2010). Composition of the Essential Oils of *Artemisia sodiroi* Hieron., *Siparuna eggersii* Hieron., *Tagetes filifolia* Lag. and *Clinopodium nubigenum* (Kunth) Kuntze from Loja Ecuador. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, 13(6), 676–691. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2010.10643879>

SANDOVAL, J. S., QUIJANO, C. E., MORALES, G., & PINO, J. A. (2010). Composition of the Essential Oil From the Leaves and Fruits of *Morella pubescens* (Humb.et Bonpl. ex Willd.) Wilbur Grown in Colombia. *Journal of Essential Oil Research*, 22(2), 133–134, 2010. doi:10.1080/10412905.2010.9700283

SANTOS-MARTINS, Diogo et al. Meeko: Molecule Parametrization and Software Interoperability for Docking and Beyond. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [S. l.], v. 65, n. 24, p. 13045–13050, 2025. DOI: 10.1021/acs.jcim.5c02271.

SARROU E, CHATZOPOULOU P, DIMASSI-THERIOU K, THERIOS I. Volatile constituents and antioxidant activity of peel, flowers and leaf oils of *Citrus aurantium* L. growing in Greece. **Molecules**. 2013 Sep 2;18(9):10639-47. doi: 10.3390/molecules180910639. PMID: 24002139; PMCID: PMC6270488.

SCHNEIDER, R.W.; WILLIAMS, R.J.; SINCLAIR, J.B. Cercospora leaf sport of cowpea: models for estimating yield loss. **Phytopathology**, v.66: p.384-388, 1976. DOI: <https://doi.org/10.1094/Phyto-66-384>.

SEIXAS, P. T. L.; CASTRO, H. G.; CARDOSO, D. P.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; NASCIMENTO, I. R. Bioactivity of essential oils on the fungus *Didymella bryoniae* of the cucumber culture. **Applied Research & Agrotechnology**, v. 5, n. 3, p. 61-66, 2012. DOI: 10.5777/PAeT.V5.N3.07.

SILVA, A. C. D., SOUZA, P. E. D., AMARAL, D. C., ZEVIANI, W. M., & PINTO, J. E. B. P. Essential oils from *Hyptis marruboides*, *Aloysia gratissima* and *Cordia verbenacea* reduce the progress of Asian soybean rust. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 36, p. 159-166, 2014.

SOYLU, EMINE MINE; KURT, ŞENER; SOYLU, SONER. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. **International journal of food microbiology**, v. 143, n. 3, p. 183-189, 2010.

SRIVASTAVA, B., SAGAR, A., DUBEY, N. K., & SHARMA, L.. Essential oils for pest control in agroecology. In: **Sustainable Agriculture Reviews: Volume 15**. Cham: Springer International Publishing, 2014. p. 329-352.

STANKOVIĆ, I., KESIĆ, L., MILAŠIN, J., OBRADOVIĆ, R., PETROVIĆ, M. S., & BOJOVIĆ, M. Antimicrobial activity of essential oils against oral pathogens: Informative article. **Acta Medica Medianae**, v. 57, n. 3, p. 115-123, 2018.

SUMALAN, RENATA-MARIA; ALEXA, ERSILIA; POIANA, MARIANA-ATENA. Assessment of inhibitory potential of essential oils on natural mycoflora and *Fusarium* mycotoxins production in wheat. **Chemistry Central Journal**, v. 7, n. 1, p. 32, 2013.

TULLIO, V. C. Essential Oils and their Antimicrobial Activity. v. 1, n. 110, p. 1–2, 10 ago. 2016.

VALAREZO, E., LUDEÑA, J., ECHEVERRIA-CORONEL, E., CARTUCHE, L., MENESES, M. A., CALVA, J., & MOROCHO, V.. Enantiomeric composition, antioxidant capacity and anticholinesterase activity of essential oil from leaves of Chirimoya (*Annona cherimola* Mill.). **Plants**, v. 11, n. 3, p. 367, 2022.

VALAREZO, E., ROSILLO, M., CARTUCHE, L., MALAGÓN, O., MENESES, M., & MOROCHO, V. Chemical composition, antifungal and antibacterial activity of the essential oil from *Baccharis latifolia* (Ruiz & Pav.) Pers.(Asteraceae) from Loja, Ecuador. **Journal of essential oil research**, v. 25, n. 3, p. 233-238, 2013.

VELA-CORCÍA, David; ROMERO, Diego; DE VICENTE, Antonio; PÉREZ-GARCÍA, Alejandro. Analysis of β -tubulin-carbendazim interaction reveals that binding site for MBC fungicides does not include residues involved in fungicide resistance. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 7161, 2018. DOI: 10.1038/s41598-018-25336-5.

WANG, Yuxi et al. Structures of a diverse set of colchicine binding site inhibitors in complex with tubulin provide a rationale for drug discovery. **The FEBS Journal**, [S. l.], v. 283, n. 1, p. 102–111, 2016. DOI: 10.1111/febs.13555.

XAVIER JKAM, BAIA TGC, ALEGRIA OVC, FIGUEIREDO PLB, CARNEIRO AR, MOREIRA ECO, MAIA JGS, SETZER WN, DA SILVA JKR. Essential Oil Chemotypes and Genetic Variability of *Cinnamomum verum* Leaf Samples Commercialized and Cultivated in the Amazon. **Molecules**. 2022 Oct 28;27(21):7337. doi: 10.3390/molecules27217337. PMID: 36364159; PMCID: PMC9655072.

YU, Y., MA, Y., OUYANG, Z., & HUANG, L. Mentha Essential Oils: Unraveling Chemotype-Dependent Biosynthesis and Assessing Evidence for Health-Promoting Activities. **Nutrients**, v. 17, n. 20, p. 3258, 2025.

ZHANG, Jingxiang; LI, Liping; LV, Quanzhen; YAN, Lan; WANG, Yan; JIANG, Yuanying. The Fungal CYP51s: Their Functions, Structures, Related Drug Resistance, and Inhibitors. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 10, 2019. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00691. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2019.00691/full>. Acesso em: 8 jan. 2026.

ZHANG, Yu et al. Study on the anti-biofilm mechanism of 1,8-cineole against *Fusarium solani* species complex. **Frontiers in Pharmacology**, [S. l.], v. 13, p. 1010593, 2022. DOI: 10.3389/fphar.2022.1010593.

ZHANG, ZHIYUN; TAN, YUNBING; MCCLEMENTS, DAVID JULIAN. Investigate the adverse effects of foliarly applied antimicrobial nanoemulsion (carvacrol) on spinach. **Lwt**, v. 141, p. 110936, 2021.