

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

SIMONE DE PAIVA CAETANO BUCKER MORAES

**CONTROLE COM ÓLEOS ESSENCIAIS DOS FUNGOS *Aspergillus*
sp. e *Sclerotinia sclerotiorum* NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE
FEIJÃO DURANTE O ARMAZENAMENTO**

ALEGRE
2018

SIMONE DE PAIVA CAETANO BUCKER MORAES

**CONTROLE COM ÓLEOS ESSENCIAIS DOS FUNGOS *Aspergillus*
sp. e *Sclerotinia sclerotiorum* NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE
FEIJÃO DURANTE O ARMAZENAMENTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal, na área de concentração de Biotecnologia e Ecofisiologia do Desenvolvimento de Plantas.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Lopes.

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre.

Coorientador: Prof. Dr. Willian Bucker Moraes.

ALEGRE
2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial Sul, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)
Bibliotecária: Lizzie de Almeida Chaves – CRB-6 ES-000871/O

M828c Moraes, Simone de Paiva Caetano Bucker, 1984-
Controle com óleos essenciais dos fungos *Aspergillus* sp. e *Sclerotinia sclerotiorum* no tratamento de sementes de feijão durante o armazenamento / Simone de Paiva Caetano Bucker Moraes. – 2018.
81 f.

Orientador: José Carlos Lopes.

Coorientadores: Willian Bucker Moraes ; Rodrigo Sobreira Alexandre.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Feijão comum. 2. Germinação. 3. Sementes – Doenças. I. Lopes, José Carlos. II. Moraes, Willian Bucker. III. Alexandre, Rodrigo Sobreira. IV. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. V. Título.

CDU: 63

SIMONE DE PAIVA CAETANO BUCKER MORAES

**CONTROLE COM ÓLEOS ESSENCIAIS DOS FUNGOS *Aspergillus*
sp. e *Sclerotinia sclerotiorum* NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE
FEIJÃO DURANTE O ARMAZENAMENTO**

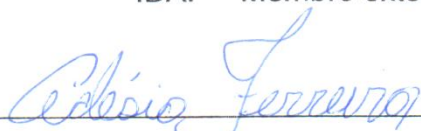
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal, linha de pesquisa em Biotecnologia e Ecofisiologia do Desenvolvimento de Plantas.

COMISSÃO EXAMINADORA

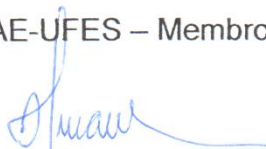
APRESENTADA: 23 de fevereiro de 2018.



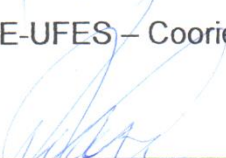
Dr. Allan Rocha de Freitas
IDAF – Membro externo



Prof. Dr. Adésio Ferreira
CCAUE-UFES – Membro interno



Prof. Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre
CCAUE-UFES – Coorientador



Prof. Dr. José Carlos Lopes
CCAUE-UFES - Orientador

"Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem-sucedidos."
(Provérbios 16:3)

Dedico esta Dissertação a Deus, ao meu marido Willian Bucker Moraes, à minha mãe Francisca Rodrigues de Paiva, a meu pai Adão Pires Caetano e à minha irmãzinha Anna Luiza de Paiva Caetano.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar sempre os meus caminhos e me colocar diante de pessoas abençoadas.

A Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES) e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, que possibilitaram a realização do mestrado e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de produtividade do Prof. Dr. José Carlos Lopes.

Ao grande amor da minha vida, que sempre me incentivou e apoiou para que cada sonho se tornasse realidade, meu amado marido Willian Bucker Moraes, por toda compreensão, paciência, carinho e amor. E por estar sempre presente em todos os momentos de minha vida.

Aos meus pais Francisca Rodrigues de Paiva e Adão Pires Caetano, e à minha irmã Anna Luiza de Paiva Caetano, por todo amor, carinho, apoio, dedicação e incentivo em todas as etapas da minha vida.

Aos meus sogros Antonio José Moraes e Nelina Bucker Moraes, e aos meus cunhados Wanderson Bucker Moraes e Wallisson Bucker Moraes, pelos anos de convivência e por todo incentivo que me deram.

Ao meu orientador Prof. Dr. José Carlos Lopes pelo auxílio, pelos conhecimentos adquiridos, ajuda, conselhos, amizade, confiança e troca de excelentes informações.

Aos coorientadores Prof. Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre e Prof. Dr. Willian Bucker Moraes, pelo apoio e troca de conhecimento. Aos membros da banca, Prof. Dr. Adésio Ferreira e Dr. Allan Rocha de Freitas, pelas sugestões e contribuições.

Ao Laboratório de Análise de Sementes (LAS) e ao Laboratório de Epidemiologia e Manejo de Doenças de Plantas Agrícolas e Florestais (LEMP) por permitir a realização das análises e aos seus integrantes pela ajuda e convívio.

A todos os professores da Pós-Graduação em Produção Vegetal que me proporcionaram conhecimentos no decorrer desse mestrado, e aos técnicos administrativos por todo apoio.

A todos os amigos por serem fontes inesgotáveis de apoio, incentivo e diversão. A todos aqueles que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho, o meu sincero agradecimento.

Obrigada a todos vocês!

RESUMO

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das espécies cultivadas mais difundidas no Brasil. Dentre os fungos que causam danos e/ou são disseminados pelas sementes destacam-se *Aspergillus* sp. e *Sclerotinia sclerotiorum*, que apresentam uma distribuição mundial e ampla gama de hospedeiros. Uma medida alternativa para o controle destes fungos é o uso de óleos essenciais que apresentam compostos com potencial antifúngico, como os óleos essenciais de citronela (*Cymbopogon* sp.) e canela (*Cinnamomum* sp.). Objetivou-se com o presente trabalho estudar os óleos essenciais de citronela e canela no controle dos fungos *Aspergillus* sp. e *S. sclerotiorum* inoculados em sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce, em sete épocas de armazenamento e armazenadas em dois ambientes. Para determinação da dose com maior taxa de inibição do crescimento micelial e número de esporos dos fungos foi realizado um experimento in vitro, as doses utilizadas dos óleos essenciais de canela e citronela foram 0,2; 0,4; 0,8 e 1,6 mL L⁻¹ acrescidos de 1% de Tween[®] 80 e os fungicidas Captana (480 g L⁻¹) (Captan[®]) na dose de 3 g L⁻¹, para o fungo *Aspergillus* sp e o fungicida Tiofanato Metílico + Clorotalonil (200 g kg⁻¹ + 500 g kg⁻¹) (Cerconil[®]), na dose de 2 g L⁻¹, para o fungo *S. sclerotiorum*. Houve interação significativa entre os tratamentos e a dose de 1,6 mL L⁻¹, e ambos os óleos determinaram maior inibição do crescimento micelial dos fungos. Para a análise da qualidade fisiológica das sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce, as sementes foram desinfetadas e tratadas com os óleos essenciais de canela e citronela na dose de 1,6 mL L⁻¹ acrescido de 1% de Tween[®] 80 e os fungicidas Captan[®] na dose de 3 g L⁻¹, para o fungo *Aspergillus* sp. e o fungicida Cerconil[®], na dose de 2 g L⁻¹, para o fungo *S. sclerotiorum*, como testemunha (controle) foram utilizadas sementes sem inocular e sem a aplicação de nenhum produto. As sementes foram armazenadas em dois ambientes, temperatura controlada (16 °C) e temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C) por 180 dias, sendo as avaliações de germinação (%), índice de velocidade de germinação e incidência do fungo, realizados aos 0; 30; 60; 90; 120; 150 e 180 dias da instalação do experimento. O óleo essencial de canela na dose de 1,6mL L⁻¹ apresentou ser uma alternativa para o tratamento das sementes de feijão, visando o controle dos fungos *Aspergillus* e *S. sclerotiorum*.

Palavras-chave: *Cinnamomum* sp.; *Cymbopogon* sp.; Germinação; Patologia de sementes, *Phaseolus vulgaris*.

ABSTRACT

Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is one of the most widespread cultivated species in Brazil. Among the fungi that cause damage and / or are disseminated by the seeds are *Aspergillus* sp. and *Sclerotinia sclerotiorum*, which present a worldwide distribution and wide range of hosts. An alternative measure for the control of these fungi is the use of essential oils that present compounds with antifungal potential, such as the essential oils of citronella (*Cymbopogon* sp.) and cinnamon (*Cinnamomum* sp.). The objective of this work was to study the essential oils of citronella and cinnamon in the control of fungi *Aspergillus* sp. and *S. sclerotiorum* inoculated in seeds of common bean cultivar Carioca Precoce, in seven storage periods and stored in two environments. To determine the dose with the highest rate of inhibition of mycelial growth and number of fungal spores, an in vitro experiment was carried out, the doses of essential oils of cinnamon and citronella were 0.2; 0.4; 0.8 and 1.6 mL L⁻¹ plus 1% Tween[®] 80 and Captana (480 g L⁻¹) (Captan[®]) fungicides at the dose of 3 g L⁻¹, for the fungus *Aspergillus* sp and fungicide Methyl thiophanate + Chlorothalonil (200 g kg⁻¹ + 500 g kg⁻¹) (Cerconil[®]) at the dose of 2 g L⁻¹, for fungus *S. sclerotiorum*. There was a significant interaction between the treatments and the dose of 1.6 mL L⁻¹, and both oils determined greater inhibition of the fungal mycelial growth. In order to analyze the physiological quality of Carioca Precoce common bean seeds, the seeds were disinfected and treated with the essential oils of cinnamon and citronella at the dose of 1.6 mL L⁻¹ plus 1% Tween[®] 80 and the fungicides Captan[®] at the dose of 3 g L⁻¹, for the fungus *Aspergillus* sp. and the fungicide Cerconil[®], at a dose of 2 g L⁻¹, for *S. sclerotiorum* fungus, as control (control) were used seeds without inoculation and without application of any product. The seeds were stored in two environments, temperature controlled (16 ° C) and natural ambient temperature (25 ± 2 ° C) for 180 days, with the germination (%), germination speed index and fungus at 0; 30; 60; 90; 120; 150 and 180 days after the experiment was installed. The essential oil of cinnamon in the dose of 1.6mL L⁻¹ presented an alternative for the treatment of the bean seeds, aiming at the control of the fungi *Aspegillus* and *S. sclerotiorum*.

Keywords: *Cinnamomum* sp.; *Cymbopogon* sp.; Germination; Seed pathology, *Phaseolus vulgaris*.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1** – A- Disco de micélio do fungo; B-Posição ortogonal para medição; C- medição diária do diâmetro da cultura.....29
- Figura 2** – A - Raspagem da cultura com auxílio da alça de Drigalski do tratamento testemunha. B - Concentração de esporos em câmara de Neubauer.....29

CAPÍTULO 2

- Figura 1** – Porcentagem da germinação (dados não transformados) das sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C), para o fungo *Aspergillus* sp.....47
- Figura 2** – Porcentagem da germinação (dados não transformados) das sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.....47
- Figura 3** – Valores da IVG das sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C), para o fungo *Aspergillus* sp.....48
- Figura 4** – Valores do IVG das sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.....48
- Figura 5** – Porcentagem de plântulas normais de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C), para o fungo *Aspergillus* sp...51
- Figura 6** – Porcentagem de plântulas normais de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.....51
- Figura 7** – Altura de plântulas normais (cm) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C), para o fungo *Aspergillus* sp...53
- Figura 8** – Altura de plântulas normais (cm) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de

armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo <i>Aspergillus</i> sp.....	53
Figura 9 – Comprimento radicular (cm) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C), para o fungo <i>Aspergillus</i> sp.....	54
Figura 10 – Comprimento radicular (cm) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo <i>Aspergillus</i> sp.....	54
Figura 11 – Massa fresca da parte aérea (g) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C), para o fungo <i>Aspergillus</i> sp...	55
Figura 12 – Massa fresca da parte aérea (g) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo <i>Aspergillus</i> sp.....	55
Figura 13 – Massa fresca da raiz (g) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C), para o fungo <i>Aspergillus</i> sp.....	56
Figura 14 – Massa fresca da raiz (g) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo <i>Aspergillus</i> sp.....	56
Figura 15 – Massa seca da parte aérea (g) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C), para o fungo <i>Aspergillus</i> sp...	57
Figura 16 – Massa seca da parte aérea (g) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo <i>Aspergillus</i> sp.....	57
Figura 17 – Massa seca da raiz (g) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C), para o fungo <i>Aspergillus</i> sp.....	58
Figura 18 – Massa seca da raiz (g) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo <i>Aspergillus</i> sp.....	58

- Figura 19** – Incidência do fungo *Aspergillus* sp. em sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C).....59
- Figura 20** – Incidência do fungo *Aspergillus* sp. em sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C).....60
- Figura 21** – Porcentagem da germinação (dados não transformados) das sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C), para o fungo *S.sclerotiorum*.....63
- Figura 22** – Porcentagem da germinação (dados não transformados) das sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *S.sclerotiorum*.....63
- Figura 23** – Valores da IVG das sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C), para o fungo *S.sclerotiorum*...64
- Figura 24** – Valores do IVG das sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *S.sclerotiorum*.....64
- Figura 25** – Porcentagem de plântulas normais de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C), para o fungo *S.sclerotiorum*.....66
- Figura 26** – Porcentagem de plântulas normais de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *S.sclerotiorum*.....66
- Figura 27** – Altura de plântulas normais (cm) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C), para o fungo *S.sclerotiorum*...67
- Figura 28** – Altura de plântulas normais (cm) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de

armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo <i>S.sclerotiorum</i>	68
Figura 29 – Comprimento radicular (cm) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C), para o fungo <i>S.sclerotiorum</i>	68
Figura 30 – Comprimento radicular (cm) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo <i>S.sclerotiorum</i>	69
Figura 31 – Massa fresca da parte aérea (g) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C), para o fungo <i>S.sclerotiorum</i> ...	69
Figura32 – Massa fresca da parte aérea (g) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo <i>S.sclerotiorum</i>	70
Figura 33 – Massa fresca da raiz (g) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C), para o fungo <i>S.sclerotiorum</i>	70
Figura 34 – Massa fresca da raiz (g) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo <i>S.sclerotiorum</i>	71
Figura 35 – Massa seca da parte aérea (g) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C), para o fungo <i>S.sclerotiorum</i> ...	71
Figura 36 – Massa seca da parte aérea (g) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo <i>S.sclerotiorum</i>	72
Figura 37 – Massa seca da raiz (g) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C), para o fungo <i>S.sclerotiorum</i>	72
Figura 38 – Massa seca da raiz (g) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo <i>S.sclerotiorum</i>	73

- Figura 39** – Incidência do fungo *S.sclerotiorum* em sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16°C).....74
- Figura 40** – Incidência do fungo *S.sclerotiorum* em sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2°C).....74

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

- Tabela 1-** Crescimento micelial (cm) e número de esporos ($\times 10^4$ esporos mL⁻¹) do fungo *Aspergillus* sp. em função da aplicação do óleo essencial de canela e citronela. Alegre, ES, 2018.....31
- Tabela 2-** Crescimento micelial (cm) do fungo *Sclerotinias clerotiorum* em função da aplicação do óleo essencial de canela e citronela. Alegre, ES, 2018.....32
- Tabela 3** - Dose efetiva para inibir 50% (DE₅₀) e 100% (DE₁₀₀) do crescimento micelial e esporulação de *Aspergillus* sp. em função da aplicação do óleo essencial de canela e citronela. Alegre, ES, 2018.....32
- Tabela 4** – Dose efetiva para inibir 50% (DE₅₀) e 100% (DE₁₀₀) do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* em função da aplicação do óleo essencial de canela e citronela. Alegre, ES, 2018.....33

CAPÍTULO 2

- Tabela 1** -Teor de água (%) nas sementes de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, em temperatura controlada (16°C) (Ambiente 1) e em ambiente natural (25 ± 2 °C) (Ambiente 2), durante 180 dias de armazenamento. Alegre, ES, 2018.....43
- Tabela 02.** Resumo estatístico da análise de modelos lineares mistos dos dados obtido sob duas condições ambientais (natural e controlada) e diferente inoculação (*Aspergillus* sp. ou *S. sclerotiorum*).....44
- Tabela 03.** Resumo estatístico da análise de modelos lineares mistos dos dados obtido sob duas condições ambientais (natural e controlada) e diferente inoculação (*Aspergillus* sp. ou *S. sclerotiorum*).....45
- Tabela 4.** Estimados interceptos e coeficientes angulares e seus correspondentes erro padrão e valores de probabilidade ($H_0: \beta=0$) para relações entre porcentagem

de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG) versus tempo de armazenamento das sementes (0; 30; 60; 90; 120; 150 e 180 dias) sob diferentes combinações de tratamento de sementes x inoculação (não inoculada e *Aspergillus* sp.) em duas condições ambientais (natural e controlada).....46

Tabela 5. Estimados interceptos e coeficientes angulares e seus correspondentes erro padrão e valores de probabilidade ($H_0: \beta=0$) para relações entre porcentagem de plântulas normais versus tempo de armazenamento das sementes (0; 30; 60; 90; 120; 150 e 180 dias) sob diferentes combinações de tratamento de sementes x inoculação (não inoculada e *Aspergillus* sp.) em duas condições ambientais (natural e controlada).....50

Tabela 06. Estimados interceptos e coeficientes angulares e seus correspondentes erro padrão e valores de probabilidade ($H_0: \beta=0$) para relações entre porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG) versus tempo de armazenamento das sementes (0; 30; 60; 90; 120; 150 e 180 dias) sob diferentes combinações de tratamento de sementes x inoculação (não inoculada e *S. sclerotiorum*) em duas condições ambientais (natural e controlada).....62

Tabela 7. Estimados interceptos e coeficientes angulares e seus correspondentes erro padrão e valores de probabilidade ($H_0: \beta=0$) para relações entre porcentagem de número de plântulas normais, índice de velocidade de germinação (IVG) versus tempo de armazenamento das sementes (0; 30; 60; 90; 120; 150 e 180 dias) sob diferentes combinações de tratamento de sementes x inoculação (não inoculada e *S. sclerotiorum*) em duas condições ambientais (natural e controlada).....65

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 IMPORTÂNCIA SOCIOECONÔMICA DA CULTURA DO FEIJOEIRO	16
2.2 PATÓGENOS DE SEMENTES	17
2.2.1 <i>Aspergillus</i> sp.	17
2.2.2 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	18
2.3 ÓLEOS ESSENCIAIS.....	18
2.3.1 ÓLEO ESSENCIAL DE CANELA	19
2.3.2. ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA	20
2.4. ARMAZENAMENTO DE SEMENTES	20
3 REFERÊNCIAS.....	21
4 CAPÍTULO 1: ÓLEOS ESSENCIAIS DE CANELA (<i>Cinnamomum</i> sp.) E CITRONELA (<i>Cymbopogon</i> sp.) NO CONTROLE <i>IN VITRO</i> DOS FUNGOS <i>Aspergillus</i> sp. e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>.....	26
4.1 INTRODUÇÃO	27
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	28
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.4 CONCLUSÃO.....	33
4.5 REFERÊNCIAS.....	34
5. CAPÍTULO 2 - VIABILIDADE DURANTE O ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO COMUM INOCULADAS COM OS FUNGOS <i>Aspergillus</i> sp. e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> E TRATADAS COM ÓLEOS ESSENCIAIS	37
5.1 INTRODUÇÃO	38
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	39
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.4 CONCLUSÕES	75
5.5 REFERÊNCIAS.....	76
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	81

1 INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é um dos principais produtos agrícolas de valor econômico e de grande acessibilidade à população brasileira, extremamente importante fonte de proteínas e minerais na alimentação humana, sendo que a preferência de consumo pela população é o feijão carioca ou cores, que se destaca dentre os mais cultivados no país (MELO FILHO et al., 2011; PEDROSA et al., 2015).

O Brasil destaca-se como o terceiro maior produtor, cuja produção ainda não atende à demanda necessitando importar de outros países, embora a produção prevista para 2016/2017 tenha sido de 22% maior, com uma área plantada de 2.571.665 ha e produção de 3.387.228 toneladas, com uma produtividade média de 1.249 kg ha⁻¹. No entanto, a estimativa para a safra de 2017/2018 é de 3.345,5 mil toneladas (CONAB, 2017; IBGE, 2017).

Entretanto, no Brasil a produtividade do feijão é considerada baixa devido à utilização de sementes próprias, produzidas sem os padrões de qualidade daquelas fiscalizadas, que além de inibir o incremento de produtividade funciona como um vetor na disseminação de doenças. Fato de grande impacto na agricultura, sendo que o controle da maioria das doenças é feito com o tratamento convencional, utilizando-se de agrotóxicos, causando comprometimento da qualidade de vida do agricultor e o descompromisso na manutenção da fertilidade do solo (HERBES et al., 2008; FERNANDES NETO; SARCINELLI, 2009; ALENCAR et al., 2013).

Os fungos do gênero *Aspergillus* estão presentes nas sementes como contaminantes, na forma de micélios dormentes entre os tecidos do pericarpo ou do tegumento. A temperatura e umidade relativa do ar são os principais fatores do ambiente que influenciam o seu desenvolvimento, sendo que em condições ideais para o patógeno durante o armazenamento da semente, o mesmo pode ocasionar apodrecimento, redução da germinação, desenvolvimento de plântulas anormais e outros (MACHADO, 2000).

A doença conhecida como mofo branco, podridão da haste de *Sclerotinia* ou podridão branca de *Sclerotinia*, é causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*. Este patógeno é inespecífico, podendo infectar mais de 408 espécies de plantas entre elas, monocotiledôneas e dicotiledôneas. A espécie *S. sclerotiorum* é conhecida e estudada desde 1837 e está distribuída

mundialmente (GÖRGEN, 2010). Essa doença ocorre em um grande número de países, principalmente de clima temperado e subtropical (BIANCHINI et al., 2005). Na cultura do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), existem diversos patógenos de importância epidemiológica que causam prejuízos à qualidade das sementes, dentre os quais se destaca o *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, que pode sobreviver em sementes por mais de três anos e, disseminando a doença em novas áreas. Bianchini et al. (2005) comentam que em áreas com histórico dessa doença, podem ocorrer sérios problemas, pois este patógeno é um dos mais destrutivos do feijoeiro, capaz de causar 100% de danos e perdas, sobretudo pela dificuldade de controle.

Tem-se procurado por muito tempo métodos alternativos para armazenar grãos com controle eficiente de insetos pragas e doenças, garantindo a oferta de produtos agrícolas com elevado padrão de qualidade sensorial e higiênico sanitário. Plantas superiores muitas vezes são vistas como fontes úteis de substâncias fungitóxicas, as quais, quando comparadas com fungicidas sintéticos, mostram-se praticamente inofensivas para o ambiente e o homem, podendo até superá-los em sua ação fungitóxica (FAWCETT; SPENCER, 1970). Os óleos essenciais além de apresentarem propriedades antibacterianas, possuem compostos com potencial antifúngico, antitoxigênico e inseticida, e têm sido utilizados em alimentos, fármacos, perfumes e repelente de insetos (BURT, 2004).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 IMPORTÂNCIA SOCIOECONÔMICA DA CULTURA DO FEIJOEIRO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é oriundo da família das leguminosas, sendo utilizado como alimento por ser fonte de proteínas, ferro e carboidratos para mais de 500 milhões de pessoas na América Latina e África (FAO, 2014). É um alimento de grande importância, o qual se caracteriza como um alimento tradicional nas refeições diárias dos brasileiros, cujo consumo per capita está entre 12,7 kg/hab/ano e varia conforme a região, situação financeira, tipo e cor dos grãos, entre outros fatores (WANDER; FERREIRA, 2016).

O Brasil destaca-se como o terceiro maior produtor, cuja produção ainda não atende à demanda necessitando importar de outros países, embora a produção prevista para 2016/2017 tenha sido de 22% maior, com uma área

plantada de 2.571.665 ha e produção de 3.387.228 toneladas, com uma produtividade média de 1.249 kg ha⁻¹. No entanto, a estimativa para a safra de 2017/2018 é de 3.345,5 mil toneladas (CONAB, 2017; IBGE, 2017).

2.2 PATÓGENOS DE SEMENTES

A presença de patógenos nas sementes resulta em baixa germinação, vigor e deterioração das mesmas podendo gerar plantas doentes, uma vez que alguns patógenos podem ser transmitidos à descendência, sendo percebidos os sintomas nos primeiros estádios de desenvolvimento da planta (TEXEIRA; MACHADO, 2003), além disso, o uso dessas sementes infectadas devido à falta de cuidados fitossanitários causa prejuízos aos produtores (SANTOS et al., 1996).

2.2.1 *Aspergillus* sp.

O gênero *Aspergillus* consta de fungos toxigênicos, causadores de deterioração em grãos e sementes. São saprófitos cosmopolitas de disseminação fácil por seus esporos leves e secos, podem crescer em baixo potencial de água, sendo os primeiros a se desenvolver nas condições de baixa umidade dos grãos e sementes, facilitando assim o desenvolvimento de outros gêneros que necessitam de mais umidade (NEERGAARD, 1979).

Em sementes colhidas com teores elevados de umidade ocorre um retardamento do início da secagem por alguns dias, sendo suficiente para reduzir sua qualidade, devido à ação desse fungo. Quando encontrado em alta incidência, pode reduzir o poder germinativo das sementes e a emergência de plântulas no campo. O gênero *Aspergillus* é distinguido pela formação de colônias de coloração verde amarelada, o conidióforo apresenta cabeça esférica, conidial radiada, com fiálides. Os conídios são globosos e subglobosos, medindo 3-6 micra de diâmetro (GOULART, 2004). Os fungos desse gênero podem estar presentes como contaminantes, ou na forma de micélios dormentes entre os tecidos do pericarpo ou do tegumento das sementes, desenvolvem-se com a possibilidade de provocar danos às sementes durante o armazenamento (MACHADO, 2000).

2.2.2 *Sclerotinia sclerotiorum*

Doença conhecida como mofo branco ou podridão branca causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, que é facilmente identificado devido aos sintomas e sinais externos causados na planta, nas superfícies aéreas dos tecidos infectados, que se dá pela presença pelo micélio cotonoso branco cobrindo porções dos tecidos, pelas lesões encharcadas em órgãos afetados, pela coloração parda e consistência mole (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

O escleródio germina na presença de um hospedeiro suscetível em condições favoráveis e produz micélios, que penetram nos tecidos da base da planta, ou formam apotécios, que saem da superfície do solo e liberam os ascósporos. Em umidade relativa alta, acima de 70% e em temperatura aproximada de 20°C, os apotécios liberam ascósporos por semanas, que infectam a parte aérea das plantas. O fungo invade os tecidos e provoca o seu apodrecimento. O micélio desenvolve-se sobre um substrato formado por tecidos mortos ou senescentes (KIMATI et al., 2005)

O controle da podridão branca é dificultado devido à permanência de escleródios viáveis por um longo tempo no solo, unificado ao fato de que os ascósporos que produzem a infecção aérea podem ser provenientes de escleródios existentes a longas distâncias, devido à alta suscetibilidade dos hospedeiros cultivados. Uma das recomendações de controle mais importantes é evitar a utilização de sementes com escleródios, que, uma vez presentes no sulco de semeadura, poderão favorecer a infecção (KAWASAKI; MACHADO, 2013). A principal forma de disseminação do fungo a longas distâncias tem sido o uso de sementes infectadas, podendo causar grandes reduções, comprometendo de 30 a 100% no rendimento das culturas (BOTELHO et al., 2013).

2.3 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são produtos voláteis orgânicos, de origem vegetal, obtidos basicamente pelo processo de destilação por arraste a vapor de água, por destilação a pressão reduzida, ou por hidrodestilação das folhas ou outro método adequado (BOTREL et al., 2010). Aproximadamente 35% dos óleos essenciais de plantas possuem atividade antimicrobiana, e 65% possuem atividades antifúngicas e antibacterianas (STIEVEN et al., 2009).

Há relatos sobre a ação de óleos essenciais na degradação da parede celular, alteração na membrana plasmática e nas proteínas de membrana; no fluxo de elétrons e na coagulação do citoplasma de fungos e bactérias. Essas ações são justificadas, pois se acredita que os óleos essenciais constituídos de monoterpenos possuam atividade microbiana, por desencadear efeitos tóxicos na estrutura e na função das membranas das células dos microrganismos, como alterações na fluidez e permeabilidade e interação com componentes internos da célula, ações estas, explicadas principalmente pelo caráter lipofílico destas substâncias (TROMBETA et al., 2005).

A busca por produtos naturais que sejam eficientes no controle de doenças de plantas tem aumentado nos últimos anos, visando à obtenção de alternativas aos fungicidas sintéticos e que não apresentem efeitos negativos à saúde humana e ao meio ambiente (CARNEIRO et al., 2007). Óleos essenciais são mais baratos que fungicidas, são facilmente disponíveis ao agricultor e apresentam baixo risco de intoxicação humana e poluição ambiental, podendo, em muitos casos, ser obtidos na própria propriedade agrícola (MARTINEZ, 2002).

2.3.1 ÓLEO ESSENCIAL DE CANELA

A canela (*Cinnamomum* sp.) tem sido utilizada ao longo da história no tratamento de diversos problemas: diabetes, inflamações, úlceras estomacais, tosse, resfriados, distúrbios gastrintestinais, apresentando também atividade antifúngica, antiparasitária, larvicida e antibacteriana. A atividade antimicrobiana do óleo essencial de canela, obtido das cascas tem sido relatada contra bactérias, fungos e bolores, especialmente na atividade contra patógenos deteriorantes de alimentos (NANASOMBAT; WIMMUTIGOSOL, 2011).

O óleo essencial de *Cinnamomum* sp. tem efeito inibidor da deterioração de alimentos por organismos. O óleo da casca tem propriedades fungitóxicas contra micoses do aparelho respiratório, *Aspergillus niger*, contra *A. fumigatus*, *A. nidulans* e *A. flavus*. Há relatos que adicionando óleo de canela a sementes de milho contra *A. flavus* observaram a inibição no crescimento do fungo (OUATTARA et al., 1997).

2.3.2. ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA

A citronela (*Cymbopogon* sp.) é uma planta perene da família Poaceae, possui entre 0,6 a 1,0% de óleo essencial em suas folhas, que extraído de suas folhas frescas ou parcialmente dessecadas é utilizado, tradicionalmente, como repelente de mosquitos. O gênero *Cymbopogon*, que compõe esta família, tem sua importância econômica na produção de óleo essencial, e esta importância tem crescido no Brasil devido à grande procura pelo seu óleo essencial, tanto no mercado interno, quanto para a exportação (ROCHA et al., 2000).

O óleo extraído de suas folhas é rico em aldeído citronelal e apresenta pequenas quantidades de geraniol, citronelol e ésteres. O citronelol é excelente aromatizante de ambiente e repelente de insetos, além de apresentar ação antimicrobiana, antifúngica e acaricida (MATTOS, 2000).

As plantas de citronela têm sido estudadas em relação à atividade repelente de insetos e ação antifúngica, entretanto, não há relatos sobre a atividade antioxidante (DUARTE et al., 2005), mas há relatos de que o óleo essencial de citronela apresentou elevada atividade contra larvas do mosquito *Aedes aegypti*.

2.4. ARMAZENAMENTO DE SEMENTES

As sementes de alta qualidade do gênero *Phaseolus* demoram de oito a doze horas em média para hidratar e de três a nove dias para germinar, esses são padrões com elevada capacidade germinativa e vigor, além disso, sementes tratadas, com grau de umidade adequado e de boa aparência são fatores que proporcionam maior homogeneidade de população, como consequência maior qualidade e produtividade (BOTELHO et al., 2010). Para se obter os padrões de qualidade das sementes supracitados, é necessário o armazenamento correto e qualidade fitossanitária das sementes. No armazenamento há certa dificuldade do monitoramento da qualidade de sementes e dos grãos armazenados. Isso ocorre na precisão e exatidão quando a população é pequena, mas que pode vir a contaminar todo o lote de sementes. Os fungos de armazenamento podem ser identificados pelo método do papel filtro, que expressa a população fúngica da semente em presença apenas de umidade, combinando princípios *in vivo* e *in vitro*, permitindo a

observação de fungos se desenvolvendo em condições naturais e podendo ser empregado para todas as sementes (NEERGAARD, 1979).

O período de armazenamento de sementes tem variação entre 6 e 8 meses, intervalo de tempo em que o gênero *Aspergillus* pode se desenvolver em condições de umidade mais baixas nas sementes. Portanto, torna-se necessário monitorar a sua presença no início, durante e ao final do armazenamento para determinar sua presença e tomar providências necessárias para sua manutenção (GOULART, 2004).

A temperatura ótima para o crescimento e desenvolvimento da maioria dos fungos de armazenamento encontra-se entre 28 e 35 °C, estando a máxima entre 50 e 55 °C e a mínima entre 0 e 5 °C. A atividade de fungos reduz com a queda da temperatura e algumas espécies de *Aspergillus* sp. podem chegar a ampliar sua população entre 10 a 20 vezes mais rápidas quando a temperatura de 15 °C se eleva para 32 °C (CARVALHO; VON PINHO, 1997). Temperatura e umidade relativa do ar são os principais fatores do ambiente que influenciam o desenvolvimento de fungos, podendo ocorrer, apodrecimento, redução da germinação e desenvolvimento de plântulas anormais (MACHADO, 2000).

O bom desenvolvimento de uma cultura depende da qualidade das suas sementes, pois elas contêm todo o potencial genético que a planta pode expressar. O uso de sementes de qualidade, dentro dos padrões sanitários e o tratamento de sementes estão entre as melhores estratégias para diminuir a ocorrência e disseminação de patógenos (MENEZES et al., 2011).

3 REFERÊNCIAS

ALENCAR, G. V.; MENDONÇA, E. S.; OLIVEIRA, T. S.; JUCKSCH, I.; CECON, P. R. Percepção ambiental e uso do solo por agricultores de sistemas orgânicos e convencionais na Chapada da Ibiapaba. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Piracicaba-SP, v. 51, n. 2, p. 217-236, Abr/Jun 2013.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. Agronômica Ceres, 2005. v. 2, cap. 37, p. 333-349.

BOLLER W; CALDATO D.E. Desenvolvimento da cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em diferentes condições de cobertura e de preparo do solo. **Engenharia Agrícola**, v.21, n.2, p.167-173,2001.

BOTELHO, F.J.E.; GUIMARÃES, R. M.; OLIVEIRA, J.A.; EVANGELISTA, J. R. M.; ELOI, T. A.; BALIZA, D. P. Desempenho fisiológico de sementes de feijão colhidas em diferentes períodos do desenvolvimento. **Ciência e agrotecnologia**, v.34, n.4, p.900-907, 2010.

BOTELHO, L.S.; ZANCAN, W. L. A.; MACHADO, J. C.; BARROCAS, E. N. Performance of common bean seeds infected by the fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. **Journal of Seed Science**, v.35, n.2, p.153-160, 2013.

BOTREL, P.P.; PINTO, J. E. B. P.; ARAÚJO, A. C. C.; BERTOLUCCI, S. K. V. Variações no teor e na composição volátil de *Hyptis marruboides* epl. cultivada no campo e em casa de vegetação. **Química Nova**, v. 33, n.1, p.33-37, 2010.

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

CARNEIRO, S. M.T.P.G.; PIGNONI, E.; VASCONCELOS, M.E.C.; GOMES, J. C. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro. **Summa phytopathologica**, v.33, n.1, 2007.

CARVALHO, M. L. M.; VON PINHO, E. V. R. **Armazenamento de sementes**. Curso de Pós-Graduação “Lato Sensu” (Especialização) a Distância: Produção e Tecnologia de Sementes. UFLA/FAEPE, 67p.1997.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5. ed., FUNEP, 590 p. 2012.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. v. 4 - SAFRA 2016/17- N. 10 – Décimo levantamento2017<www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_07_12_11_17_01_boletim_graos_julho_2017.pdf>. Acesso em: 17-02-2018.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estatística da Produção Agrícola**, 2017. <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Fasciculo_Indicadores_IBGE/estProdAgr_201701.pdf> Acesso em: 17-02-2018.

DUARTE, M.C.T; FIGUEIRA, G.M., SARTORATTO, A.; REHDER, V.L.; DELARMELENA, C. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethno pharmacology**, v.97, p.305-11, 2005.

FAO. **Faostat**. Roma: FAO. 2014. Disponível em:<<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 10 de nov.de 2016.

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

FERNANDES NETO, M. L.; SARCINELLI, P. N. Agrotóxicos em água para consumo humano: uma abordagem de avaliação de risco e contribuição ao processo de atualização da legislação brasileira. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 14, n. 1, p. 69-78, 2009.

GÖRGEN, C. A.; CIVARDI, E. A.; RAGAGNIN, V. A.; SILVEIRA NETO, A. N.; CARNEIRO, L. C.; LOBO JÚNIOR, M. Redução do inóculo inicial de *Sclerotinia sclerotiorum* em soja cultivada após uso do sistema Santa Fé. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 1102-1108, 2010.

GOULART, A. C. P. **Fungos em sementes de soja**: detecção, importância e controle. Embrapa Agropecuária Oeste. 72 p. 2004.

HERBES, D. H.; THEODORO, F. H.; MARINGONI, A. C.; DAL PIVA, C. A.; ABREU, L. Detecção de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em sementes de feijoeiro produzidas em Santa Catarina. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 1, p. 53-156, 2008.

KAWASAKI, V.H.; MACHADO, J.C. Establishment of a semi-selective method for the detection of *Sclerotinia sclerotiorum* in dry bean and soybean seeds. **Journal of Seed Science**, v.35, n.4, p.435-442, 2013.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 4ª Ed. v 2, – Agronômica Ceres, 580p. 2005.

MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 13p. 2000.

MAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em novembro de 2016.

MARTINEZ, S. S. O nim *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção. **Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná**, 142 p. 2002.

MATTOS SH. **Estudos fitotécnicos da *Mentha arvensis* L. var. Holmes como produtora de mentol no Ceará**. Fortaleza: UFC/ CCA. 98 p. 2000.

MENEZES, V.O.; PEDROSO, D. C.; PIVETA, G.; MUNIZ, M. F. B.; MENEZES, N. L.; GARCIA, D. C.; ETHUR, L. Z.; SANTOS, R. F.; TUNES, L. M.. Detecção e influência de *Fusarium* spp. na qualidade fisiológica de sementes de pepino. **Ciência Rural**, v.41, n.2, p.193-199, 2011.

NANASOMBAT, S.; WIMUTTIGOSOL P. Antimicrobial and antioxidant activity of spice essential oils. **Food Science and Biotechnology**, v.20, n.1,p.45–53, 2011.

NEERGAARD P. **Seed Pathology**: London: McMillan. v.1. 839p. 1979.

OUATTARA, B.; SIMARD, R.E.; HOLLEY, R.A.; PIETTE, G.J.; BÉGIN, A. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. **International Journal of Food Microbiology**. Washington, v. 37, p. 155–162, 1997.

PEDROSA ,M. M.; CUADRADO, C.; BURBANO, C.; MUZQUIZ, M.; CABELLOS, B.; OLMEDILLA-ALONSO, B.; ASENSIO-VEGAS, C. Effects of industrial canning on the proximate composition, bioactive compounds contents and nutritional profile of two Spanish common dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Chemistry**, v. 166, p. 68–75, 2015.

ROCHA SFR; MING LC; MARQUES MOM. Influência de cinco temperaturas de secagem no rendimento e composição do óleo essencial de citronela *Cymbopogon winterianus* Jowitt. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.3, p73-78,2000.

SANTOS, G.R. Transporte, transmissibilidade e patogenicidade da microflora associada às sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**, v.43, n.249, p.621-627, 1996.

STIEVEN, A.C.; MOREIRA, J.J.; SILVA, C.F. Óleos essenciais de uvaia (*Eugenia piryformiscambess*): avaliação das atividades antimicrobiana e antioxidante. **Eclética Química**, v.34, n.3, p.7-13, 2009.

TEIXEIRA, H.; MACHADO, J.C. Transmissibilidade e efeito de *Acremonium strictum* em sementes de milho. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, n.5, p.1045-1052, 2003.

TROMBETA, D.; CASTELLI, F.; SARPIETRO, M.G.; VENUTI, V.; CRISTANI, M.; DANIELE, C.; SAIJA, A.; MAZZANTI, G.; BISIGNANANO, G. Mechanisms of Antibacterial Action of Three Monoterpenes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n.6, p. 2474-2478, 2005.

WANDER, A.E.; FERREIRA, C.M. **Consumo de Feijão**. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/feijao/Abertura.html>>. Acesso em: 09 de nov. de 2016.

4 CAPÍTULO 1: ÓLEOS ESSENCIAIS DE CANELA (*Cinnamomum* sp.) E CITRONELA (*Cymbopogon* sp.) NO CONTROLE *IN VITRO* DOS FUNGOS *Aspergillus* sp. E *Sclerotinia sclerotiorum*

RESUMO: Dentre os fungos que causam danos e/ou são disseminados pelas sementes destacam-se *Aspergillus* sp. e *Sclerotinia sclerotiorum*, que apresentam uma distribuição mundial e ampla gama de hospedeiros. Para o manejo de doenças de plantas, uma opção viável e mais segura que os produtos químicos seria a utilização de compostos naturais para o manejo de doenças de plantas. Assim, objetivou-se estudar óleos essenciais de canela e citronela no controle *in vitro* dos fungos *Aspergillus* sp. e *S. sclerotiorum*. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x4+2 [óleos essenciais x doses + (fungicida + controle padrão)]. Foram utilizados os óleos essenciais de canela e citronela nas doses 0,2; 0,4; 0,8 e 1,6 mL L⁻¹ (Tween[®] 80 a 1%) e os fungicidas Captan[®] (480 g L⁻¹) e Tiofanato Metílico + Clorotalonil (Cerconil[®]) (200,0 g kg⁻¹ + 500,0 g kg⁻¹), nas doses 3 g L⁻¹ e 2 g L⁻¹, para os fungos *Aspergillus* sp e *S. sclerotiorum*, respectivamente. A diluição dos produtos foi feita em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), em placas de Petri, onde foram colocados discos de micélio com 5 mm de diâmetro e incubadas em estufa tipo BOD à temperatura de 25 ± 1 °C e fotoperíodo de 12 horas. Houve interação significativa entre os tratamentos. A dose de 1,6 mL L⁻¹, de ambos os óleos determinou maior inibição do crescimento micelial dos fungos *Aspergillus* sp. e *S. sclerotiorum*, e a maior inibição da esporulação do fungo *Aspergillus* sp. Conclui-se que os óleos essenciais de canela e citronela controlam *in vitro* os fungos *Aspergillus* sp. e *S. sclerotiorum*.

Palavras-chave: controle alternativo; patógenos; *Cymbopogon* sp.; *Cinnamomum* sp.; patologia de sementes.

4.1 INTRODUÇÃO

Com o aumento mundial da população, há uma crescente preocupação quanto à segurança alimentar, tanto ao que se refere à produção quanto ao armazenamento de alimentos. Dentre os maiores desafios da agricultura moderna destaca-se a redução do uso de agrotóxicos no manejo de doenças, insetos pragas e plantas daninhas, visando à sustentabilidade agrícola (FAROOQ et al., 2013; JAVAID; SHOAIB, 2013; OOTANI et al., 2013).

Os patógenos de plantas, causadores de doenças, são responsáveis por grandes danos de rendimento em muitas culturas economicamente importantes. O uso de agrotóxicos na fumigação do solo, na aplicação foliar ou no tratamento de sementes é a estratégia mais comum para o manejo de doenças de plantas (JAVAID; SHOAIB, 2013). No entanto, devido aos efeitos adversos dos agrotóxicos à saúde humana e ao meio ambiente, os consumidores estão exigindo cada vez mais, produtos livres de resíduos químicos (FAROOQ et al., 2013; JAVAID; SHOAIB, 2013; OOTANI et al., 2013).

Os compostos naturais derivados de plantas são mais seguros do que os produtos químicos sintéticos, o que os torna uma opção para o manejo de doenças de plantas (JAVAID; SHOAIB, 2013; IKEGBUNAM et al., 2016; CAMARGO et al., 2017). Dentre esses compostos naturais, os óleos essenciais de canela (*Cinnamomum* sp.) e citronela (*Cymbopogon* sp.) são utilizados como uma opção viável para o manejo de doenças fúngicas de plantas, principalmente por suas propriedades antifúngicas (PAWAR; THAKER, 2006; NEGRELLE; GOMES, 2007; TIAN et al., 2012; WAFAR et al., 2014).

Dentre os fungos que causam danos e/ou são disseminados pelas sementes, destacam-se os fungos *Aspergillus* sp. e *Sclerotinia sclerotiorum*, que apresentam distribuição mundial e uma ampla gama de hospedeiros (BOLAND; HALL, 1994; PERRONE et al., 2007). Os principais sintomas observados em sementes infectadas pelo gênero *Aspergillus* são apodrecimentos, redução da germinação, desenvolvimento de plântulas anormais e tombamento. Algumas espécies desse gênero podem produzir durante o armazenamento, metabólitos secundários chamados aflatoxinas, que são altamente tóxicas, mutagênicas e cancerígenas para o homem e animais (PERRONE et al., 2007).

O fungo *Sclerotinia sclerotiorum* causa reduções consideráveis na produtividade de diversas culturas agrícolas em todo o mundo, destacando-se na soja, feijão, batata e no girassol, causando a podridão de caule, vagens e folhas (BOLAND; HALL,1994). Sua capacidade de sobrevivência nas sementes, restos culturais e no solo, associada à resistência gradual aos fungicidas utilizados para seu controle, o torna de difícil manejo (MUELLER et al., 2002; JIANG et al., 2013).

A fim de buscar alternativas eficientes para o manejo das doenças causadas por esses patógenos, neste estudo objetivou-se analisar óleos essenciais de canela e citronela no controle *in vitro* dos fungos *Aspergillus* sp. e *S. sclerotiorum*.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nos Laboratórios de Análise de Sementes (LAS) e de Epidemiologia e Manejo de Doenças de Plantas (LEMP) do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES), em Alegre-ES, 20° 45' 49" S e 41° 31' 58" W.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x4+2 [óleos essenciais x concentrações + (fungicida + controle padrão)], tanto para o fungo *Aspergillus* sp. quanto para o fungo *S. sclerotiorum*. Para cada tratamento foram utilizadas cinco repetições, sendo considerada cada placa de Petri (90 x 15 mm) uma repetição.

Os óleos essenciais de canela e citronela foram utilizados nas doses de 0,2; 0,4; 0,8 e 1,6 mL L⁻¹ de água destilada, adicionado 1% do Tween[®] 80 e os fungicidas utilizados foram o Captan[®] (480 g L⁻¹) na dose de 3 g L⁻¹ para controlar o fungo *Aspergillus* sp. e o fungicida Tiofanato Metílico + Clorotalonil (Cerconil[®]) (200,0 g kg⁻¹ + 500,0 g kg⁻¹), na dose de 2 g L⁻¹ para o controlar o fungo *S. sclerotiorum*. Os produtos foram diluídos em meio de cultura batata-dextrose-água (BDA), acondicionado em placas de Petri, onde foi adicionado um disco de micélio com 5 mm de diâmetro, à exceção do tratamento testemunha (controle padrão), que foi mantido somente o meio de cultura BDA. Posteriormente, as placas foram incubadas em estufa tipo BOD à temperatura de 25 ± 1 °C e fotoperíodo de 12 horas.

As análises foram feitas diariamente e constaram de: **medições do diâmetro das colônias fúngicas** – foram realizadas em posição ortogonal (média das duas medições opostas), sendo encerradas somente após o preenchimento da placa testemunha pelo fungo *Aspergillus* sp. e/ou *S. sclerotiorum*, respectivamente (Figura 1); **esporulação do fungo *Aspergillus* sp.** - foi preparada uma suspensão de esporos, para cada tratamento, pela adição de 20 mL de água destilada esterilizada às placas de Petri, seguida de leve fricção da colônia fúngica, de modo que fossem liberadas as estruturas reprodutivas do fungo do meio de cultura, com o auxílio da alça de Drigalski (Figura 2). A solução formada foi filtrada em béquer, com auxílio de um funil de vidro com camada de gaze, possibilitando a passagem de suspensão de água contendo esporos e retenção dos demais materiais, tais como hifas. A suspensão foi homogeneizada e em câmara de Neubauer (hemacitômetro) foi quantificado o número de conídios (Figura 2). Para o fungo *S. sclerotiorum* não foi feita a análise de esporulação, porque este fungo não produz esporos.

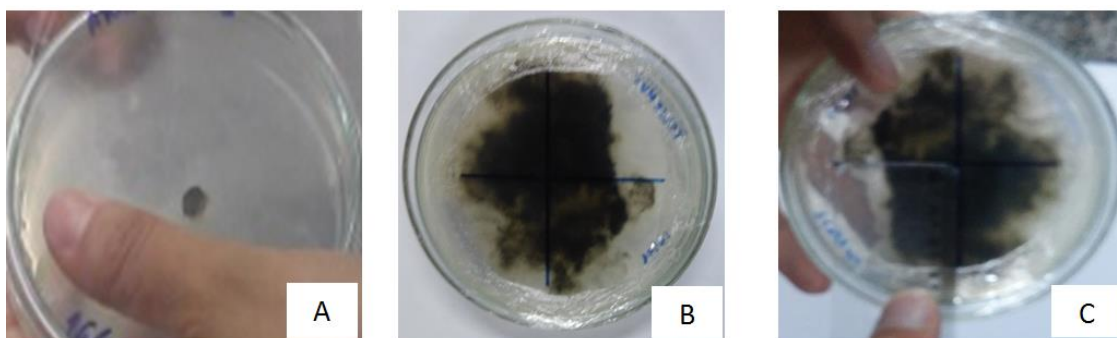


Figura 1. A- Disco de micélio do fungo; B-Posição ortogonal para medição; C- medição diária do diâmetro da cultura.

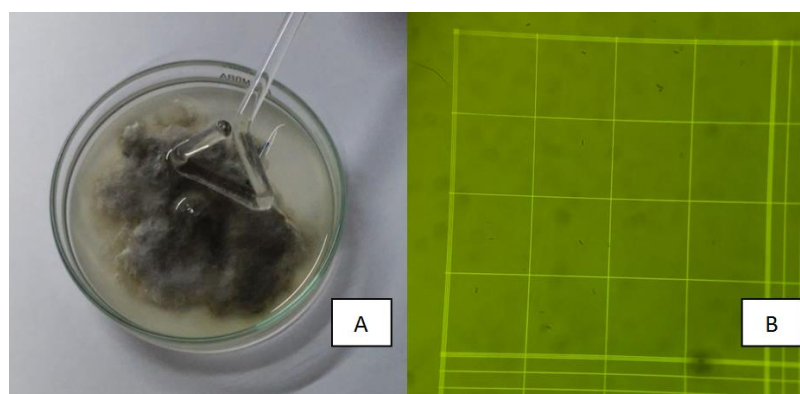


Figura 2. A - Raspagem da cultura com auxílio da alça de Drigalski do tratamento testemunha. B - Concentração de esporos em câmara de Neubauer.

Para o cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) e da esporulação (PIE) (EDGINGTON et al., 1971) utilizou-se a equação:

$$\text{PIC OU PIE} = \left(1 - \frac{\text{TRATAMENTO}}{\text{TESTEMUNHA}}\right) * 100$$

Em que,

PIC: porcentagem de inibição do crescimento micelial;

PIE: porcentagem de inibição da esporulação;

TESTEMUNHA: valor do crescimento micelial ou esporulação da testemunha (controle); e

TRATAMENTO: valor do crescimento micelial ou esporulação de cada tratamento.

Os valores do cálculo de PIC ou PIE foram utilizados para determinar a dose efetiva para inibir em 50% (DE₅₀) e 100% (DE₁₀₀) o crescimento micelial e/ou esporulação do patógeno, por meio do ajuste das equações de regressão.

Os dados obtidos de crescimento micelial e esporulação foram compilados em um banco de dados com auxílio de uma planilha eletrônica, no programa Microsoft Excel 2013 e submetidos à análise de variância, e as médias, agrupadas pelo teste Scott-Knott, em nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa R[®] versão 64.1 (2017).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação significativa entre os tratamentos, os quais diferiram da testemunha de acordo com as doses e óleos testados (Tabelas 1, 2, 3 e 4).

Para o fungo *Aspergillus* sp. (Tabela 1), o uso do óleo essencial de canela na dose de 1,6 mL L⁻¹ determinou inibição do crescimento micelial similar ao tratamento feito com o fungicida comercial Captan[®], enquanto o óleo essencial de citronela na dose de 1,6 mL L⁻¹ determinou maior inibição em relação à inibição obtida com a aplicação do fungicida comercial. Considerando a esporulação, houve inibição com a utilização das doses de 0,8 e 1,6 mL L⁻¹ do óleo essencial de canela, e da dose de 1,6 mL L⁻¹ do óleo essencial de citronela.

Tabela 1- Crescimento micelial (cm) e número de esporos ($\times 10^4$ esporos mL^{-1}) do fungo *Aspergillus* sp. em função da aplicação do óleo essencial de canela e citronela. Alegre, ES, 2018.

<i>Aspergillus</i> sp.						
Trat.	Descrição	Dose (mL L^{-1})	Canela (cm)	Citronela (cm)	Canela $\times 10^4$ esporos mL^{-1}	Citronela ($\times 10^4$ esporos mL^{-1})
T1	Controle Padrão	-	8,34 a	8,34 a	188,80 a	188,80 a
T2	Óleo essencial	0,2	8,22 a	7,56 a	232,15 a	184,35 a
T3	Óleo essencial	0,4	3,46 b	2,66 b	107,00 b	160,65 a
T4	Óleo essencial	0,8	2,96 b	2,26 b	68,50 c	141,15 a
T5	Óleo essencial	1,6	1,24 c	0,80 c	26,40 c	46,10 b
T6	Captana (480 gL^{-1})	3 g kg^{-1} sem.	1,86 c	1,86 b	135,60 b	135,60 a

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, em nível de 5% de probabilidade, pelo teste Scott-Knott. Legenda: Trat. =Tratamento; sem.=semente.

As doses de 0,8 e $1,6 \text{ mL L}^{-1}$ (Tabela 2) do óleo essencial de canela determinaram menor crescimento micelial do fungo *S. sclerotiorum*, diferindo das demais doses utilizadas, sem, contudo, diferir significativamente do fungicida comercial Cerconil®. No entanto, o óleo essencial de citronela, na dose de $1,6 \text{ mL L}^{-1}$ foi proporcional ao crescimento micelial estatisticamente igual ao fungicida comercial, diferindo-se das demais doses utilizadas.

As perdas relacionadas com cereais, grãos de leguminosas, como feijão, soja e outros grãos secos, que constituem os alimentos deterioráveis, situam-se entre 20 a 60%. Aproximadamente 25-40% dos cereais em todo o mundo são contaminados com micotoxinas produzidas por diferentes fungos durante o armazenamento (KUMAR et al., 2007; PRAKASH et al., 2013). O desenvolvimento de produtos a base de compostos naturais, como os óleos essenciais para proteção de cultivos e, conseqüentemente, a redução da contaminação dos alimentos por micotoxinas destaca-se na atualidade, pela sua importância na produção e na saúde humana (KUMAR et al., 2007; OOTANI et al., 2013; PRAKASH et al., 2013).

Tabela 2- Crescimento micelial (cm) do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* em função da aplicação do óleo essencial de canela e citronela. Alegre, ES, 2018.

<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>				
Trat.	Descrição	Dose (mL L ⁻¹)	Canela (cm)	Citronela (cm)
T1	Controle Padrão	-	8,02 ^a	8,34 a
T2	Óleo essencial	0,2	7,38 ^a	7,68 a
T3	Óleo essencial	0,4	4,14 ^a	6,04 b
T4	Óleo essencial	0,8	2,74 ^{bc}	3,80 c
T5	Óleo essencial	1,6	1,2 ^{cd}	1,12 d
T6	Tiofanato Metílico + Clorotalonil (200 g kg ⁻¹ +500g kg ⁻¹)	2 g kg ⁻¹ semente	1,78 ^{bc}	1,86 d

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, em nível de 5% de probabilidade, pelo teste Scott-Knott. Legenda: Trat. =Tratamento.

Em geral, a maioria dos componentes químicos dos óleos essenciais são terpenoides, incluindo monoterpenos, sesquiterpenos e seus derivados oxigenados. Os terpenos são compostos antimicrobianos ativos de óleos essenciais. O mecanismo de ação desta classe de compostos não é totalmente entendido, mas é especulado envolvendo a interrupção da membrana por estes compostos lipofílicos (FAROOQ et al., 2013; JAVAID; SHOAI, 2013; OOTANI et al., 2013). O óleo essencial de citronela apresentou os menores valores de DE₅₀ e DE₁₀₀ (Tabela 3) para inibição do crescimento micelial do fungo *Aspergillus* sp. Em contrapartida, o óleo essencial de canela apresentou os menores valores de DE₅₀ e DE₁₀₀ para esporulação.

Tabela 3 - Dose efetiva para inibir 50% (DE₅₀) e 100% (DE₁₀₀) do crescimento micelial (CM) e esporulação (E) de *Aspergillus* sp. em função da aplicação do óleo essencial de canela e citronela. Alegre, ES, 2018.

Óleo Essencial	Equações de Regressão				DE ₅₀ (mL L ⁻¹)		DE ₁₀₀ (mL L ⁻¹)	
	PIC	R ²	PIE	R ²	CM	E	CM	E
Canela	$\hat{Y} = 47.23x + 16.97^*$	0.67	$\hat{Y} = 64.14x - 5.58^*$	0.71	0.70	0.87	1.76	1.65
Citronela	$\hat{Y} = 44.79x - 26.60^*$	0.62	$\hat{Y} = 51.30x - 8.95^*$	0.98	0.52	1.15	1.64	2.12

* Significativo em nível de 5% pelo teste de "t".

Vários trabalhos têm sido desenvolvidos utilizando-se os óleos essenciais de canela e citronela visando ao controle do fungo *Aspergillus* sp. (VIEGAS et al., 2005; PAWAR; THAKER, 2006; KHAN; AHMAD, 2011; TIAN et al., 2012;

PRAKASH et al., 2013, OOTANI et al., 2016). Estes trabalhos apresentam resultados positivos quanto ao uso desses óleos na inibição do crescimento e esporulação do fungo. Khan e Ahmad (2011) estudando o efeito *in vitro* dos óleos de canela, citronela, cravo-da-índia e seus componentes majoritários, observaram que devido ao acúmulo de cinamaldeído em múltiplos locais de ação, principalmente em membranas celulares e estruturas endomembranas da célula fúngica, o óleo de canela proporcionou maior inibição da esporulação quando comparado aos demais. Para o crescimento micelial de *S. sclerotiorum* (Tabela 4), o óleo essencial de canela apresentou os menores valores de DE₅₀ e DE₁₀₀.

Tabela 4 – Dose efetiva para inibir 50% (DE₅₀) e 100% (DE₁₀₀) do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* em função da aplicação do óleo essencial de canela e citronela. Alegre, ES, 2018.

Óleo Essencial	Equações de Regressão		DE ₅₀ (mL L ⁻¹)		DE ₁₀₀ (mL L ⁻¹)	
	PIC	R ²	Crescimento Micelial		Crescimento Micelial	
Canela	$\hat{Y} = 47.18x + 16.43^*$	0.79	0.71		1.77	
Citronela	$\hat{Y} = 54.18x + 3.49^*$	0.97	0.86		1.78	

* Significativo em nível de 5% pelo teste de “t”.

A inibição do crescimento micelial do fungo *S. Sclerotiorum* nas placas em que foram adicionados os óleos essenciais de canela e citronela comprova a ação antifúngica desses óleos (PANSERA et al., 2012; JIANG et al., 2013; WAFAL`A et al., 2014).

Os óleos essenciais de canela e citronela apresentaram ação antifúngica para os fungos *Aspergillus* sp. e *S. Sclerotiorum*, inibindo o crescimento micelial de ambos e a esporulação do fungo *Aspergillus* sp. Assim, estudos referentes ao tratamento de sementes com esses óleos essenciais para armazenamento e plantio, visando ao manejo desses fungos, se tornam uma alternativa viável.

4.4 CONCLUSÃO

Óleos essenciais de canela e citronela controlam *in vitro* os fungos *Aspergillus* sp. e *S. sclerotiorum*, sendo recomendados na dose de 1,6 mL L⁻¹, de ambos os óleos.

4.5 REFERÊNCIAS

- BOLAND, G.J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v.16, n.2, p.247–252, 1994.
- CAMARGO, K.; BATISTA, L.; SOUZA, P.; TEIXEIRA, M.; SALES, T.; FERREIRA, V. F.; NOGUEIRA, J.; MAGALHÃES, M.; CAETANO, A.; NELSON, D.; CARDOSO, M. G. Antimicrobial Activity of the Essential Oil from *Hyptiscarpinifolia* Benth. **American Journal of Plant Sciences**, v.8, n.11, p.2871-2877, 2017.
- EDGINGTON, L.V.; KHEW, K.L.; BARRON, G.L. Fungitoxic spectrum of benzimidazoles compounds. **Phytopathology**, v. 61, n.1, p.42-44, 1971.
- FAROOQ, M.; BAJWA, A.A.; CHEEMA, S.A.; CHEEMA, Z.A. Application of allelopathy in crop production. **International Journal of Agriculture & Biology**, v.15, n.6, p.1367–1378, 2013.
- IKEGBUNAM, M.; UKAMAKA, M.; EMMANUEL, O. Evaluation of the Antifungal Activity of Aqueous and Alcoholic Extracts of Six Spices. **American Journal of Plant Sciences**, v.7, n.1, p.118-125, 2016.
- JAVAID, A.; SHOAI, A. Allelopathy for the Management of Phytopathogens. In: CHEEMA, Z.; FAROOQ, M.; WAHID A. (eds) **Allelopathy**. Springer, Berlin, Heidelberg. 299-320p. 2013.
- JIANG, Z.; JIANG, H.; XIE, P. Antifungal activities against *Sclerotinia sclerotiorum* by *Cinnamomum cassia* oil and its main components, **Journal of Essential Oil Research**, v. 25, n.6, p.444-451, 2013.
- KHAN M.S.; AHMAD I. In vitro antifungal, anti-elastase and anti-keratinase activity of essential oils of *cinamomum* -, *Syzygium*- and *Cymbopogon*-species against *Aspergillus fumigatus* and *Trichophyton rubrum*. **Phytomedicine**, v.19, n.1, p.48-55, 2011.
- KUMAR R.; DUBEY, N.K.; TIWARI O.P.; TRIPATHI, Y.B.; SINHA, K.K. Evaluations of some essential oils as botanical fungitoxicants for the protection of stores food commodities from infestation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.87, n.9, p.1737-1742, 2007.

MUELLER, D.S.; DORRANCE, A.E.; DERKSEN, R.C.; OZKAN, E.; KURLE, J.E.; GRAU, C.R.; GASKA, J.M.; HARTMAN, G.L.; BRADLEY, C.A.; PEDERSEN, W.L. Efficacy of fungicides on *Sclerotinia sclerotiorum* and their potential for control of Sclerotinia stem rot on soybean. **Plant Disease**, v.86, n.1, p.26-31, 2002.

NEGRELLE, R.R.B; GOMES, E.C. *Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf: chemical composition and biological activities. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, n.1, p. 80-92, 2007.

OOTANI, M. A.; RAIMUNDO, A.W.S.; RAMOS, A.C.C.; BRITO, D.R.; SILVA, J.B.; CAJAZEIRA, J.P. Use of Essential Oils in Agriculture. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.4, n.2: p.162-175, 2013.

OOTANI, M. A.; BRITO, D.R.; MACIEL, G.P.S; LOPES, L.A.; AGUIAR, R.W.S. Effect of essential oils and citronellal compound on bean seeds stored microflora. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. v.11, n.1, p.49-56, 2016.

PANSERA, M.R.; VICENÇO, C.B.; PRANCUTTI, A.; SARTORI, V.C.; RIBEIRO, R.T. Alternative control of the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary causes agente sclerotinia, with essential oil sand plant extracts. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.7, n.3 p.126-133, 2012.

PAWAR, V.C.; THAKER, V.S. In vitro efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. **Mycoses**, v.49, n.4, p.316-323, 2006.

PERRONE, G., SUSCA A., COZZI, G., EHRLICH, K.; VARGA, J.; FRISVAD, J. C.; MEIJER, M.; NOONIM, P.; MAHAKARRNCHANAKUL, W. AND SAMSON, R. A. Biodiversity of *Aspergillus species* in some important agricultural products. **Studies in Mycology**, v.59, n.1, p.53-66, 2007.

PRAKASH, B.; SINGH, P.; YADAV, S.; SINGH, S.C.; DUBEY, N.K. Safety profile assessment and efficacy of chemically characterized *Cinnamomum glaucescens* essential oil against storage fungi, insect, aflatoxin secretion and as antioxidant. **Food and Chemical Toxicology**, v. 53, n.3, p.160–167, 2013.

R CORE TEAM. **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2017. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 30 agosto de 2017.

TIAN, J; HUANG, B; LUO, X; ZENG, H; BAN, X; HE, J; WANG, Y. The control of *Aspergillus flavus* with *Cinnamomum jensenianum* Hand.-Mazz essential oil and its potential use as a food preservative. **Food Chemistry**, v.130, n.3, p.520-527, 2012.

VIEGAS, E.C.; SOARES, A.; CARMO, M.G.F.; ROSSETTO, C.A.V. Evaluation of essential oils from *Allium sativum* and *Cinnamomum zeilanicum* and their toxicity against fungi of the *Aspergillus flavus* group. **Horticulturan Brasileira**, Brasília, v.23, n.4, p.915-919, 2005.

WAFÀ A. AL-TAISAN; ALI H. BAHKALI; ABDALLAH M. ELGORBAN; MOHAMED A. EI-METWALLY. Effective Influence of Essential Oils and Microelements against *Sclerotinia sclerotiorum*. **International Journal of Pharmacology**, v.10, n.5, p.275-281, 2014.

5. CAPÍTULO 2 – VIABILIDADE DURANTE O ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO COMUM (*Phaseolus vulgaris* L.) INOCULADAS COM OS FUNGOS *Aspergillus* sp. e *Sclerotinia sclerotiorum* E TRATADAS COM ÓLEOS ESSENCIAIS

RESUMO: O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das espécies cultivadas mais difundidas no Brasil. Dentre os fungos que causam danos e/ou são disseminados pelas sementes destacam-se *Aspergillus* sp. e *Sclerotinia sclerotiorum*, que apresentam uma distribuição mundial e ampla gama de hospedeiros. Objetivou-se com o presente trabalho analisar a viabilidade de sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce inoculadas com *Aspergillus* sp. e *S. sclerotiorum* e tratadas com óleos essenciais de canela e citronela, em dois ambientes de armazenamento. Foram utilizadas sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce desinfestadas com álcool 70% por 30 segundos e hipoclorito de sódio 1% por dois minutos e tratadas com os óleos essenciais de canela e citronela na dose de 1,6 mL L⁻¹ (com Tween 80 a 1%) e com os fungicidas Captan® na dose 3 g L⁻¹ para o *Aspergillus* sp e o Cerconil® na dose de 2 g L⁻¹ para o *S. sclerotiorum*, como testemunha (controle) foram utilizadas sementes sem inocular e sem tratar. As sementes foram armazenadas em dois ambientes [temperatura controlada (16 °C) e temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C)], por 180 dias. Foram analisados: germinação (%), índice de velocidade de germinação e incidência do fungo após 0; 30; 60; 90; 120; 150 e 180 dias de armazenamento. O óleo essencial de canela na dose de 1,6 mL L⁻¹ é uma alternativa para o tratamento das sementes de feijão, visando ao controle dos fungos *Aspergillus* e *S. sclerotiorum*, em sistemas de cultivos sustentáveis ou em locais onde há impossibilidade do armazenamento de feijão em ambiente desfavorável aos patógenos.

Palavras-chave: controle alternativo; *Cymbopogon* sp.; *Cinnamomum* sp.; patologia de sementes, *Phaseolus vulgaris*, germinação.

5.1 INTRODUÇÃO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é a base alimentar de um grande número de pessoas em todo o mundo, principalmente na América Latina e África, por ser uma fonte rica em proteínas (ROSSI et al., 2017; WINHAM et al., 2018). Uma das dificuldades para o fornecimento dessa rica fonte de proteínas à população é a qualidade das sementes de feijão armazenadas, principalmente no que se refere à sua sanidade e viabilidade (MILLS; WOODS, 1994; FRANCISCO; USBERTI, 2008).

O armazenamento de sementes é uma prática obrigatória, tanto para o setor produtivo quanto para o setor alimentício, devido ao período entre a colheita e a semeadura. Os fungos são os principais agentes no processo de deterioração das sementes durante o armazenamento (KRISHNAMURTHY et al., 2008). As perdas relacionadas com cereais, grãos de leguminosas, como feijão, soja e outros grãos secos, que constituem os alimentos deterioráveis, situam-se entre 20 a 60%. Aproximadamente, 25 a 40% dos cereais em todo o mundo são contaminados com micotoxinas produzidas por diferentes fungos durante o armazenamento (KUMAR et al., 2007; AMADI; ADENIYI, 2009; PRAKASH et al., 2013).

A disseminação por sementes de vários fungos causadores de doenças em plantas é responsável pela introdução de novos patógenos em áreas até então isentas. Essa disseminação muitas vezes ocorre em longas distâncias e é favorecida principalmente pelo fato do patógeno estar assintomático, podendo estar infectando a semente ou aderido à mesma, o que leva à necessidade do tratamento das sementes (BAKER; SMITH, 1966; TU, 1988; MUELLER et al., 1999; BOTELHO et al., 2013).

Dentre os fungos que causam danos e/ou são disseminados pelas sementes de feijão comum, destacam-se os fungos *Aspergillus* sp. e *Sclerotinia sclerotiorum*, que apresentam distribuição mundial e uma ampla gama de hospedeiros (TU, 1988; BOLAND; HALL, 1994; KUMAR et al., 2007; PERRONE et al., 2007; FRANCISCO; USBERTI, 2008; BOTELHO et al., 2013; PRAKASH et al., 2013).

Os principais sintomas observados em sementes infectadas com o gênero *Aspergillus* são apodrecimentos, redução da germinação, desenvolvimento de plântulas anormais e tombamento (NEERGAARD, 1979; MACHADO et al.,

2004; AMADI; ADENIYI, 2009). Algumas espécies desse gênero podem produzir durante o armazenamento, metabólitos secundários chamados aflatoxinas, que são altamente tóxicas, mutagênicas e cancerígenas para o homem e os animais (KUMAR et al., 2007; PERRONE et al., 2007; AMADI; ADENIYI, 2009).

O fungo *S. sclerotiorum* causa reduções consideráveis na produtividade de diversas culturas agrícolas em todo o mundo, destacando-se a soja, o feijão, a batata, e o girassol, causando a podridão de caule, vagens e folhas (BOLAND; HALL, 1994; MUELLER et al., 2002; BOTELHO et al., 2013). Sua capacidade de sobrevivência nas sementes, restos culturais e no solo, associada à resistência gradual aos fungicidas sintéticos utilizados para seu controle, o torna de difícil manejo (TU, 1988; MUELLER et al., 2002; JIANG et al., 2013).

O desenvolvimento de produtos à base de compostos naturais, como os óleos essenciais para proteção de cultivos e, conseqüentemente, a redução da contaminação dos alimentos por micotoxinas está em destaque (KUMAR et al., 2007; OOTANI et al., 2013; PRAKASH et al., 2013). Os compostos naturais derivados de plantas são mais seguros do que os produtos químicos sintéticos, o que os torna uma opção para o manejo de doenças de plantas (JAVAID; SHOAI, 2013). Dentre esses compostos naturais, os óleos essenciais de canela (*Cinnamomum* sp.) e citronela (*Cymbopogon* sp.) são utilizados como uma opção viável para o manejo destes fungos, principalmente por suas propriedades antifúngicas (PAWAR; THAKER, 2006; NEGRELLE; GOMES, 2007; TIAN et al., 2012; JIANG et al., 2013; WAFAR et al., 2014).

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho estudar a viabilidade de sementes de feijão comum inoculadas com *Aspergillus* sp. e *S. sclerotiorum* e tratadas com óleos essenciais de canela e citronela em dois ambientes de armazenamento.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes (LAS) do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES), em Alegre-ES, 20° 45' 49" S e 41° 31' 58" W.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com um arranjo fatorial 2x4x7 de inóculo (sem inoculação e com inoculação), tratamento de sementes (sementes não tratadas, tratadas com óleo de Citronela, tratadas com óleo de Canela, tratadas com fungicidas Captan® para *Aspergillus* sp. e Cerconil® para *S. sclerotiorum*), e tempo de armazenamento das sementes (0; 30; 60; 90; 120; 150 e 180 dias). Foram conduzidos dois experimentos, os quais diferiram por usar *Aspergillus* sp. ou *S. sclerotiorum* como agentes inoculantes. Além disso, os experimentos foram conduzidos sobre duas condições de temperaturas [natural e controlada (16 °C)] para verificação da estabilidade dos efeitos dos tratamentos em diferentes ambientes. Cada unidade experimental consistiu-se de um rolo contendo 25 sementes. Utilizaram-se quatro repetições para cada combinação dos tratamentos.

Foram utilizadas sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce, desinfestadas com álcool 70% por 30 segundos e hipoclorito de sódio 1%, por dois minutos, mantidas sob temperatura ambiente, para secagem. Após a desinfestação, as sementes foram inoculadas com os fungos *Aspergillus* sp. e *S. sclerotiorum*, utilizando-se de uma metodologia adaptada de Pereira et al. (2010) e Reis et al. (2014), respectivamente. As sementes foram tratadas com os óleos essenciais de canela e citronela na dose de 1,6 mL L⁻¹ de água destilada com 1% de Tween® 80, e foram utilizados os fungicidas Captana (480 g L⁻¹) (Captan®) na dose de 3 g L⁻¹ para controlar o fungo *Aspergillus* e foi utilizado o fungicida Tiofanato Metílico + Clorotalonil (Cerconil®) (200,0 g kg⁻¹ + 500,0 g kg⁻¹), na dose de 2 g L⁻¹ para o controle do fungo *S. sclerotiorum*. Como testemunha (controle), foram utilizadas sementes sem tratamento. As sementes foram acondicionadas após a aplicação dos produtos em placas de petri devidamente vedadas com plástico filme e embrulhadas em papel Kraft e colocadas em caixa de papelão, e armazenadas por 180 dias em dois ambientes, câmara fria (16 °C) e em ambiente natural (25 ± 2 °C). Foram determinados e/ou analisados em intervalos de 30 dias, totalizando sete períodos de armazenamento (0; 30; 60; 90; 120; 150 e 180 dias): **teor de umidade** - foi determinado em estufa a 105 ± 3 °C, durante 24 horas (BRASIL, 2009), utilizando-se quatro repetições de 18 sementes, e os resultados foram expressos em porcentagem (b.u.); **teste de germinação** (%) – conduzido com

25 sementes distribuídas sobre papel germitest umedecido com água destilada, com volume equivalente a 3,0 vezes a massa do papel seco, formando um rolo e mantidas em BOD a 25 ± 1 °C, sob fotoperíodo de 12 h. As contagens de germinação foram realizadas diariamente considerando como germinadas, as que apresentavam protrusão da raiz primária com comprimento ≥ 02 mm; **índice de velocidade de germinação (IVG)** – foi calculado concomitante com o teste de germinação, utilizando-se o número de sementes germinadas diariamente, de acordo com Maguire (1962): $IVG = \Sigma(G1/N1 + G2/N2 + Gn/Nn)$

Em que: IVG = índice velocidade de germinação;

G1, G2 e Gn= número de plântulas germinadas a cada dia;

N1, N2 e Nn= número de dias após a instalação, na primeira, segunda e última contagem; **incidência dos fungos** – foi analisada diariamente e estimada por observações de suas estruturas (BARNETT; HUNTER, 1972). Ao término de cada análise foi realizada a mensuração do crescimento das plântulas, determinando-se o número de plântulas normais, altura das plântulas, comprimento radicular, massa fresca da parte aérea (MFPA) e das raízes (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA) e das raízes (MSR) (BENINCASA, 2003).

A análise de variância foi realizada utilizando-se modelos lineares mistos por meio do PROC GLIMMIX SAS 9.4 para determinar os efeitos principais e as interações entre efeitos dos tratamentos em cada variável resposta mensurada. Cada experimento (ambiente natural e temperatura controlada 16 °C) foi primeiramente analisado separadamente e posteriormente analisado conjuntamente. Os dados foram analisados separadamente, pois algumas variáveis revelaram ter efeito interativo entre ambientes e as diferentes combinações dos fatores. Assim, cada ambiente foi considerado como um experimento independente e as análises para cada variável resposta em cada experimento foram realizados separadamente.

A combinação dos fatores (sem inoculação e sementes não tratadas) resultou em valores iguais a zero para todas as repetições a partir do tempo de armazenamento após 30 dias, com isso, um modelo assumindo heterogeneidade da variância residual foi utilizado para modelar a estrutura da covariância dos dados. Modelou-se o G-side da matriz da covariância dos parâmetros, considerando que a variância de cada combinação dos fatores

inóculo x tratamento de sementes apresentou diferentes padrões. E, estimou-se uma variância residual para cada inóculo x tratamento de sementes combinação (total de oito variâncias).

O modelo ajustado aos dados pode ser escrito como segue:

$$y_{ijkl} = \theta + \alpha_i + \beta_j + \tau_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\tau)_{ik} + (\beta\tau)_{jk} + (\alpha\beta\tau)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

onde: y_{ijkl} é a variável resposta, α_i , β_j , τ_k são os efeitos fixos do inóculo, tratamento de sementes, e tempo de armazenamento das sementes; $(\alpha\beta)_{ij}$, $(\alpha\tau)_{ik}$, $(\beta\tau)_{jk}$, $(\alpha\beta\tau)_{ijk}$ são as interações duplas e triplas entre inóculo, tratamento de sementes, e tempo de armazenamento das sementes; e θ e ε_{ijkl} são a constante (intercepto) e a variância residual, respectivamente.

Para todos os efeitos fixos e interações entre os fatores dos efeitos fixos significativas, contrastes e as estimativas das médias dos mínimos quadrados foram utilizados para comparar os efeitos principais e efeitos simples das médias de cada interação entre os fatores. Devido à performace de múltiplas comparações, realizou-se o controle da taxa de erro “family-wise” por meio do teste SIMULATE da função LSMEANS do PROC GLIMMIX. Os p-valores deste teste são computados por simulação dos valores da distribuição t multivariada (LITTELL et al., 2006). Este teste, conhecido por proteger a taxa de erro “family-wise” é usado quando se realiza múltiplas comparações, com isso controlando melhor a taxa de erro Tipo I.

Além dessas análises, as combinações dos fatores inóculo x tratamento de sementes, referidas como tratamentos (T1 - sem inoculação + não tratadas; T2 - sem inoculação + tratadas com Citronela; T3 - sem inoculação + tratadas com Canela; T4 - sem inoculação + tratadas com fungicida Captan; T5 – inoculado com *Aspergillus* sp. + não tratadas; T6 - inoculado com *Aspergillus* sp. + tratadas com Citronela; T7 - inoculado com *Aspergillus* sp. + tratadas com Canela; T8 - inoculado com *Aspergillus* sp. + tratadas com fungicida Captan), foram usadas como variáveis independentes e efeito fixo, e tempo de armazenamento das sementes como covariável contínua para estimar os parâmetros da regressão (intercepto e coeficiente angular) para avaliar a mudança temporal do efeito de armazenamento sobre as variáveis respostas de cada tratamento. A significância e as diferenças entre os coeficientes

angulares foram estimadas usando ESTIMATE do PROC GLIMMIX. O modelo ajustado e dados como segue:

$$y_{ij} = \theta + \varphi_i + \delta X_j + \Delta_i X_j + \varepsilon_{ij}$$

No qual: y_{ij} é a variável resposta, φ_i são os efeitos fixos das combinações entre os fatores inóculo x tratamento de sementes; $(\alpha\beta)_{ij}$, X_j e a j-th observação da covariável tempo de armazenamento, Δ_i é o efeito principal da covariável tempo de armazenamento, Δ_i é a interação dos efeitos da covariável (efeito dos tratamentos na relação entre y e x); e θ e ε_{ijkl} são a constante (intercepto) e a variância residual, respectivamente.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de água (%) das sementes durante a condução dos estudos manteve-se na faixa ótima para armazenamento, compreendida entre 11 e 13% (ANDRADE et al., 2006), em todas as épocas de armazenamento, tanto em temperatura controlada (16 °C), quanto em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C) (Tabela 1). Temperaturas de armazenamento abaixo de 30 °C e teor de água abaixo de 13,0% são condições recomendadas para a preservação da viabilidade e da sanidade de sementes de feijão por até oito meses (FRANCISCO; USBERTI, 2008).

Tabela 1 -Teor de água (%) nas sementes de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, em temperatura controlada (A1) (16 °C) e em ambiente natural (A2) (25 ± 2 °C), durante 180 dias de armazenamento. Alegre, ES, 2018.

Dias	Teor de água (%)						
	0	30	60	90	120	150	180
A1	10,78	11,20	11,02	11,30	11,53	11,54	11,75
A2	10,78	11,26	11,99	12,76	12,05	11,32	12,25

Para o fungo *Aspergillus* sp. e *S. sclerotiorum*, houve interação significativa entre o inóculo (inoculado e sem inocular), óleos essenciais (control) e as épocas de armazenamento (tempo), nos dois ambientes (Tabelas 2 e 3).

Tabela 02. Resumo estatístico da análise de modelos lineares mistos dos dados obtido sob duas condições ambientais (natural e controlada-16 °C) e diferente inoculação (*Aspergillus* sp. ou *S. sclerotiorum*).

Variáveis	Fatores Fixos	<i>Aspergillus</i> sp.				<i>S. sclerotiorum</i>			
		Ambiente				Ambiente			
		Controlado		Natural		Controlado		Natural	
		Valores de F	p-value	Valores de F	p-value	Valores de F	p-value	Valores de F	p-value
Germinação (%)	Inoc	498.47	<.0001	484.91	<.0001	451.43	<.0001	432.43	<.0001
	Control	1136.56	<.0001	757.04	<.0001	1339.31	<.0001	1113.06	<.0001
	Inoc*Control	1907.49	<.0001	1657.57	<.0001	2207	<.0001	2131.02	<.0001
	Tempo	16.55	<.0001	28.77	<.0001	19.11	<.0001	26.35	<.0001
	Inoc*Tempo	5.36	0.0001	5.76	<.0001	5.86	<.0001	4.58	0.0004
	Control*Tempo	13.85	<.0001	11.26	<.0001	11.86	<.0001	11.3	<.0001
	Inoc*Control*Tempo	13.71	<.0001	10.38	<.0001	12.17	<.0001	11.67	<.0001
IVG	Inoc	393.14	<.0001	426.16	<.0001	373.65	<.0001	406.11	<.0001
	Control	580.46	<.0001	341.46	<.0001	496.41	<.0001	340.17	<.0001
	Inoc*Control	1489.7	<.0001	899	<.0001	1433.77	<.0001	946.73	<.0001
	Tempo	32.13	<.0001	33.86	<.0001	28.98	<.0001	25.79	<.0001
	Inoc*Tempo	4.86	0.0003	7.67	<.0001	2.51	0.0272	4.76	0.0002
	Control*Tempo	21.35	<.0001	11.44	<.0001	10.48	<.0001	6.35	<.0001
	Inoc*Control*Tempo	15.73	<.0001	8.4	<.0001	10.08	<.0001	3.66	<.0001
Plântulas Normais (%)	Inoc	514.8	<.0001	528.49	<.0001	383.61	<.0001	484.66	<.0001
	Control	923.28	<.0001	719.95	<.0001	1032.33	<.0001	733.59	<.0001
	Inoc*Control	1855.02	<.0001	1525.05	<.0001	2027.6	<.0001	1654.96	<.0001
	Tempo	9.14	<.0001	19.3	<.0001	10.87	<.0001	18.47	<.0001
	Inoc*Tempo	3.69	0.0023	3.85	0.0017	3.17	0.007	2.06	0.0633
	Control*Tempo	4.98	<.0001	3.78	<.0001	3.48	<.0001	2.1	0.0107
	Inoc*Control*Tempo	4.58	<.0001	3.14	0.0001	5.14	<.0001	3.49	<.0001
Altura Plântulas	Inoc	1303.29	<.0001	6541.5	<.0001	1623.73	<.0001	6637.14	<.0001
	Control	1507.76	<.0001	6087.02	<.0001	715.43	<.0001	6651.92	<.0001
	Inoc*Control	2133.31	<.0001	7445.62	<.0001	799.07	<.0001	9969.4	<.0001
	Tempo	192.74	<.0001	903.37	<.0001	176.58	<.0001	793.55	<.0001
	Inoc*Tempo	14.47	<.0001	78.71	<.0001	20.5	<.0001	85.02	<.0001
	Control*Tempo	25.44	<.0001	77.86	<.0001	29.58	<.0001	83.38	<.0001
	Inoc*Control*Tempo	17.39	<.0001	53.5	<.0001	9.19	<.0001	72.46	<.0001
Comprimento Raiz	Inoc	681.64	<.0001	1468.01	<.0001	984.08	<.0001	2432.34	<.0001
	Control	822.71	<.0001	1255.73	<.0001	571.08	<.0001	3761.17	<.0001
	Inoc*Control	1343.7	<.0001	1946.03	<.0001	743.07	<.0001	6074.88	<.0001
	Tempo	78.34	<.0001	163.78	<.0001	91.12	<.0001	237.86	<.0001
	Inoc*Tempo	4.88	0.0001	11.73	<.0001	9.04	<.0001	24.85	<.0001
	Control*Tempo	17.06	<.0001	21.89	<.0001	17.23	<.0001	30.32	<.0001
	Inoc*Control*Tempo	6.59	<.0001	6.79	<.0001	4.27	<.0001	24.56	<.0001

IVG- Índice de velocidade de germinação MFPA- massa fresca da parte aérea.

Tabela 03. Resumo estatístico da análise de modelos lineares mistos dos dados obtido sob duas condições ambientais (natural e controlada) e diferente inoculação (*Aspergillus* sp. ou *S. sclerotiorum*).

Variáveis	Fatores Fixos	<i>Aspergillus</i> sp.				<i>S. sclerotiorum</i>			
		Ambiente		Ambiente		Ambiente		Ambiente	
		Controlado	Natural	Controlado	Natural	Controlado	Natural	Controlado	Natural
		Valores de F	p-value	Valores de F	p-value	Valores de F	p-value	Valores de F	p-value
MF PA	Inoc	2142.65	<.0001	4801.84	<.0001	3082.24	<.0001	7229.15	<.0001
	Control	2451.15	<.0001	4228.11	<.0001	2272.65	<.0001	4828.58	<.0001
	Inoc*Control	3654.87	<.0001	5994.48	<.0001	3380.02	<.0001	6373.58	<.0001
	Tempo	163.73	<.0001	308.43	<.0001	186.04	<.0001	400.47	<.0001
	Inoc*Tempo	26.18	<.0001	69.33	<.0001	38.49	<.0001	91.06	<.0001
	Control*Tempo	33.64	<.0001	40.36	<.0001	35.34	<.0001	44.91	<.0001
	Inoc*Control*Tempo	20.86	<.0001	21.05	<.0001	21.73	<.0001	32.94	<.0001
MF RAIZ	Inoc	336.83	<.0001	776.75	<.0001	412.92	<.0001	986.67	<.0001
	Control	146.52	<.0001	387.98	<.0001	62.47	<.0001	118.27	<.0001
	Inoc*Control	564.16	<.0001	1329.06	<.0001	508.11	<.0001	518.68	<.0001
	Tempo	20.61	<.0001	49.94	<.0001	21.8	<.0001	58.14	<.0001
	Inoc*Tempo	3.21	0.0066	9.45	<.0001	3.99	0.0009	11.16	<.0001
	Control*Tempo	1.68	0.0577	5.1	<.0001	2.56	0.0009	7.06	<.0001
	Inoc*Control*Tempo	3.05	0.0003	2.8	0.0006	2.54	0.001	2.27	0.0036
MS PA	Inoc	309.67	<.0001	715.59	<.0001	393.27	<.0001	949.54	<.0001
	Control	320.98	<.0001	796.52	<.0001	300.31	<.0001	789.15	<.0001
	Inoc*Control	543.63	<.0001	1275.93	<.0001	520.28	<.0001	1298.24	<.0001
	Tempo	27.29	<.0001	57.26	<.0001	28.76	<.0001	67.74	<.0001
	Inoc*Tempo	3.01	0.0094	8.21	<.0001	4.86	0.0002	10.42	<.0001
	Control*Tempo	2.18	0.0082	3.65	<.0001	2.37	0.004	4.74	<.0001
	Inoc*Control*Tempo	2.53	0.0019	4.37	<.0001	2.34	0.0044	4.67	<.0001
MS RAIZ	Inoc	177.42	<.0001	634.55	<.0001	223.97	<.0001	868.55	<.0001
	Control	1.93	0.1354	1.52	0.2188	1.22	0.3106	0.9	0.4467
	Inoc*Control	166.76	<.0001	353.05	<.0001	162.32	<.0001	353.98	<.0001
	Tempo	6.5	<.0001	23.4	<.0001	6.77	<.0001	27.31	<.0001
	Inoc*Tempo	2.11	0.062	8.7	<.0001	2.19	0.0534	9.48	<.0001
	Control*Tempo	0.98	0.4869	3.55	<.0001	0.68	0.8198	2.93	0.0004
	Inoc*Control*Tempo	1.31	0.2105	2.33	0.0051	1.06	0.4056	1.97	0.0201

MFPA- massa fresca da parte aérea; MFR- massa fresca da raiz; MSPA- massa seca da parte aérea MSR - massa seca da raiz.

Os óleos essenciais aplicados nas sementes sem a inoculação do fungo *Aspergillus* sp. (Tabela 4, Figuras 1 e 2) promoveram a redução da germinação, em todas as épocas estudadas, independente do ambiente de armazenamento (A1- controlado (16 °C) e A2- natural (25 ± 2 °C)). Nas sementes em que foi inoculado o fungo *Aspergillus* sp., o uso do óleo essencial de canela determinou germinação similar àquela observada nas sementes em que foi aplicado o fungicida comercial Captan®, nos dois ambientes de conservação [A1(16 °C) e A2 (25 ± 2 °C)]. No entanto, as sementes tratadas

com citronela (Tabela 4, Figuras 3 e 4) apresentaram redução na porcentagem de germinação, enquanto as sementes inoculadas e sem tratamento (controle) não germinaram e o IVG foi zero.

Tabela 4. Estimados interceptos e coeficientes angulares e seus correspondentes erro padrão e valores de probabilidade ($H_0: \beta=0$) para relações entre porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG) versus tempo de armazenamento das sementes (0; 30; 60; 90; 120; 150 e 180 dias) sob diferentes combinações de tratamento de sementes x inoculação (não inoculada e *Aspergillus* sp.), em duas condições ambientais (natural e controlada).

Variáveis	Ambiente	TRT *	Intercepto		Coeficiente Angular			
			Estimativas	SE	p-value	Estimativas	SE	p-value
Germinação (%)	Controlado	1	103.790	1.584	<.0001	-0.093	0.015	<.0001
		2	53.321	2.341	<.0001	0.025	0.022	0.259
		3	75.679	3.714	<.0001	-0.049	0.034	0.167
		4	102.640	1.699	<.0001	-0.102	0.016	<.0001
		5	21.821	4.634	<.0001	-0.168	0.043	0.001
		6	68.964	3.677	<.0001	-0.077	0.034	0.031
		7	85.571	2.525	<.0001	-0.043	0.023	0.078
		8	91.714	2.161	<.0001	-0.043	0.020	0.042
	Natural	1	103.430	1.600	<.0001	-0.105	0.015	<.0001
		2	53.036	2.259	<.0001	-0.018	0.021	0.400
		3	72.429	3.191	<.0001	-0.052	0.030	0.088
		4	103.790	1.740	<.0001	-0.141	0.016	<.0001
		5	21.821	4.634	<.0001	-0.168	0.043	0.001
		6	74.143	3.541	<.0001	-0.143	0.033	0.000
		7	80.964	3.843	<.0001	-0.068	0.036	0.067
		8	89.036	2.143	<.0001	-0.123	0.020	<.0001
IVG	Controlado	1	26.031	0.628	<.0001	-0.040	0.006	<.0001
		2	12.160	0.435	<.0001	-0.002	0.004	0.543
		3	16.422	0.954	<.0001	-0.008	0.009	0.372
		4	25.027	0.812	<.0001	-0.049	0.008	<.0001
		5	5.455	1.158	<.0001	-0.042	0.011	0.001
		6	14.309	1.110	<.0001	-0.016	0.010	0.131
		7	19.958	0.959	<.0001	-0.017	0.009	0.070
		8	21.897	0.818	<.0001	-0.022	0.008	0.006
	Natural	1	24.894	0.545	<.0001	-0.034	0.005	<.0001
		2	11.621	0.492	<.0001	-0.006	0.005	0.224
		3	16.013	0.707	<.0001	-0.011	0.007	0.111
		4	25.123	0.821	<.0001	-0.049	0.008	<.0001
		5	5.455	1.158	<.0001	-0.042	0.011	0.001
		6	15.894	1.041	<.0001	-0.038	0.010	0.001
		7	18.167	1.045	<.0001	-0.015	0.010	0.121
		8	20.268	0.611	<.0001	-0.030	0.006	<.0001

* T1 - sem inoculação + não tratadas; T2 - sem inoculação + tratadas com Citronela; T3 - sem inoculação + tratadas com Canela; T4 - sem inoculação + tratadas com fungicida Captan; T5 - inoculado com *Aspergillus* sp. + não tratadas; T6 - inoculado com *Aspergillus* sp. + tratadas com Citronela; T7 - inoculado com *Aspergillus* sp. + tratadas com Canela; T8 - inoculado com *Aspergillus* sp. + tratadas com fungicida Captan; SE-Desvio padrão.

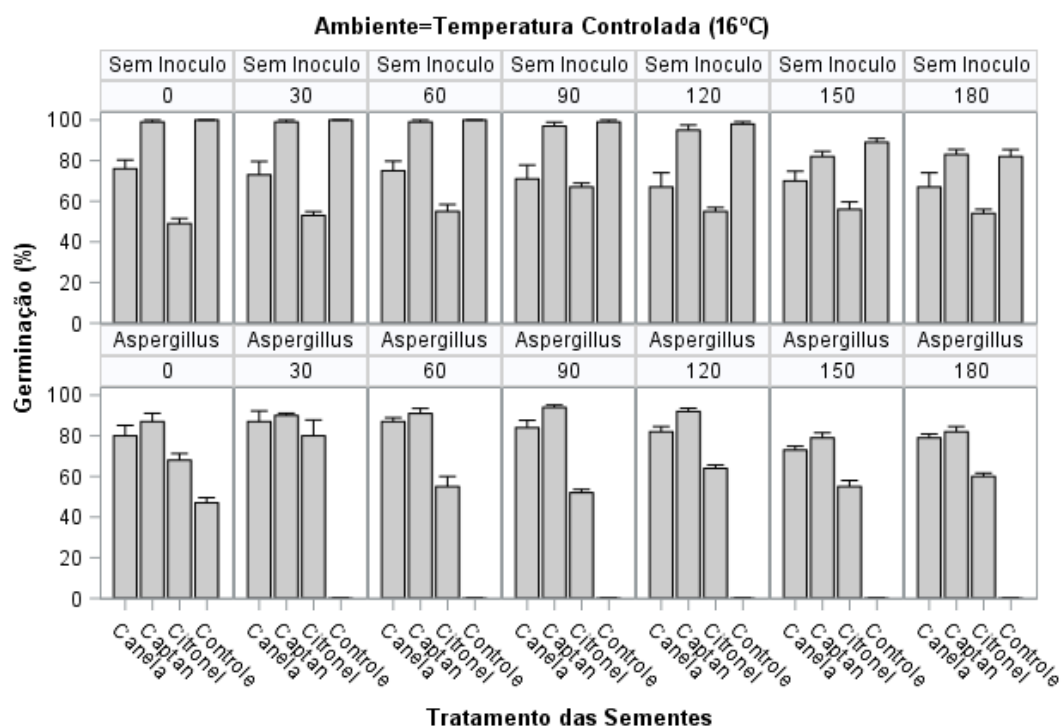


Figura 1 – Porcentagem da germinação (dados não transformados) das sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.

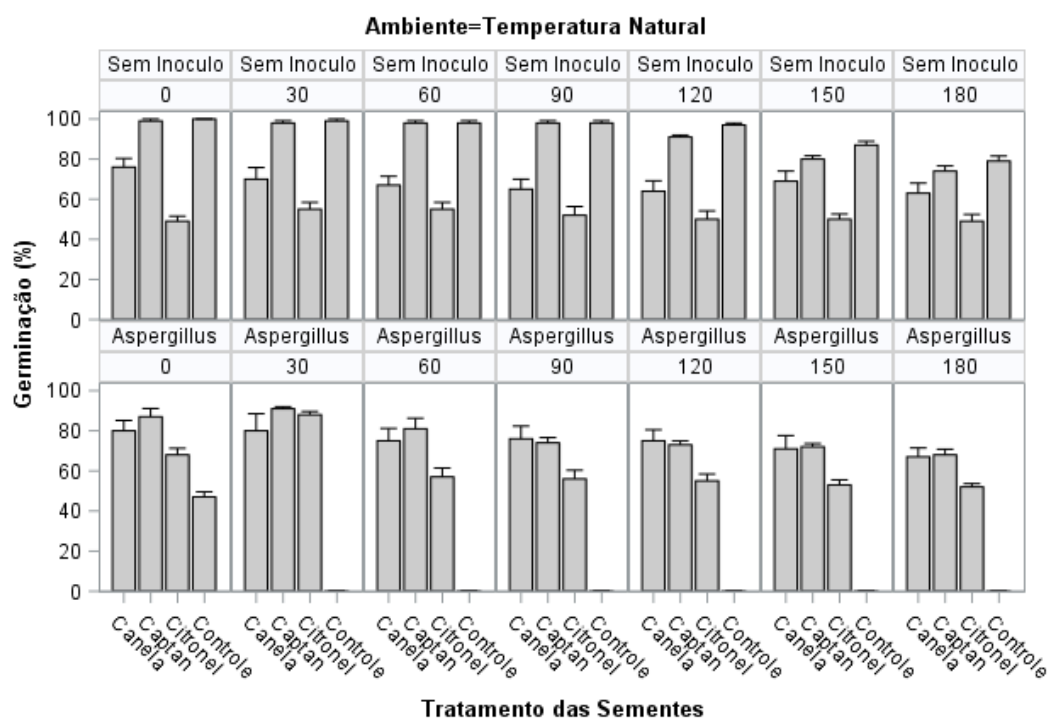


Figura 2 – Porcentagem da germinação (dados não transformados) das sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.

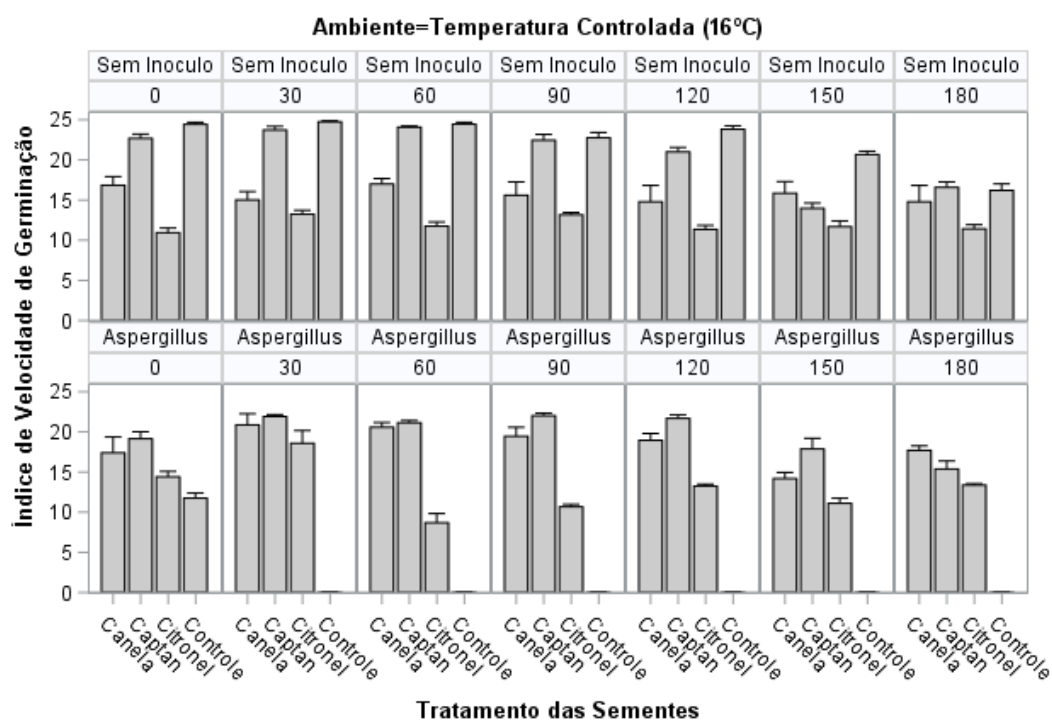


Figura 3 – Valores da IVG das sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.

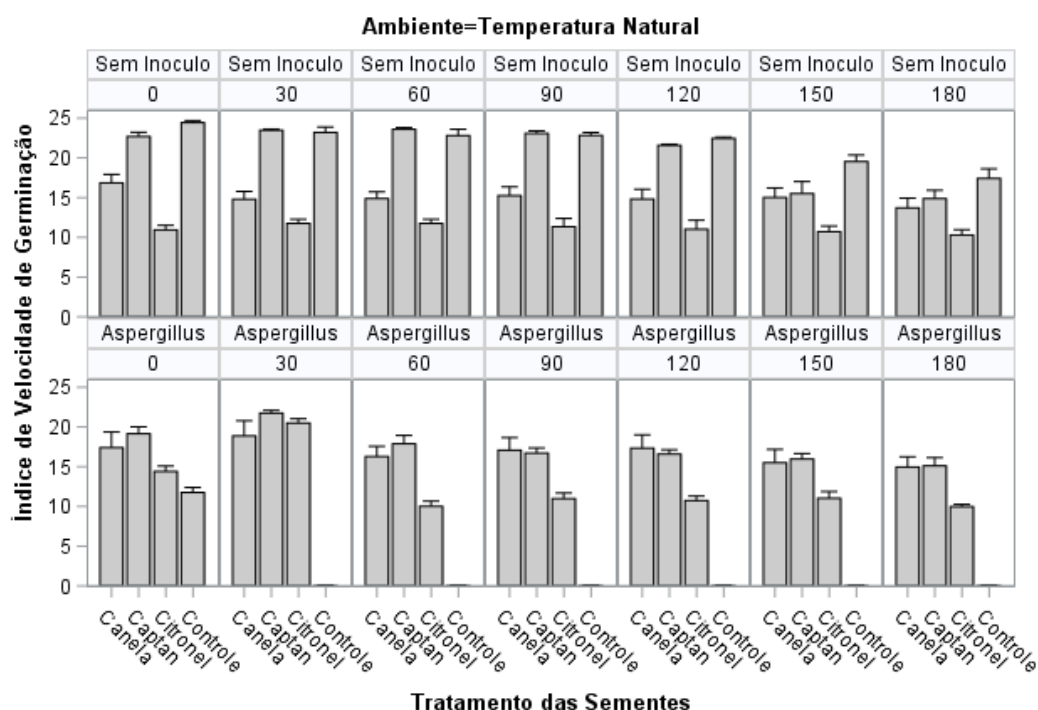


Figura 4 – Valores do IVG das sementes de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.

Houve redução da germinação das sementes sem incidência de *Aspergillus* sp., sugerindo que neste caso houve efeito fitotóxico dos óleos nas sementes, corroborando com Liu et al. (2006) e Krishnamurthy et al. (2008). O tratamento de sementes com óleos essenciais pode reduzir diretamente a germinação, dependendo da sanidade das sementes (HILLEN et al., 2012). O fungo *Aspergillus* sp., pode até inibir totalmente a germinação das sementes, caso elas não sejam tratadas (SILVA; SILVA, 2000). Entretanto, nas sementes que foram inoculadas, tanto as que foram tratadas com fungicida comercial Captan®, quanto aquelas tratadas com o óleo essencial de canela apresentaram valores de germinação acima de 70%. Resultados similares foram encontrados por Krishnamurthy et al. (2008), para sementes de soja armazenadas, porém com outros óleos comparados ao fungicida comercial Captan®. A ocorrência do patógeno influencia na fitotoxicidade dos óleos, devido à interação fungo x óleo x semente promover redução de alguns compostos dos óleos (LIU et al., 2006;) e neste estudo, o óleo de citronela apresentou efeito fitotóxico superior ao de canela.

Efeitos fitotóxicos de óleo de canela e citronela foram reportados na germinação de sementes e no crescimento de algumas espécies de plantas (YUN; CHOI, 2002; CHOU et al., 2003; VOKOU et al., 2003; LIU et al., 2006). Alguns compostos do óleo de canela, como o linalol em alta concentração apresenta efeito fitotóxico na germinação de sementes de trigo e feijão, causando redução da germinação (LIU et al., 2006). O óleo essencial de citronela, quando comparado a outros óleos, apresentou alto efeito fitotóxico, fato que pode estar associado ao citronelol e citronelal, que estão presentes em sua composição (VOKOU et al., 2003).

A porcentagem de plântulas normais (%) foi maior nas sementes em que foram aplicados os óleos essenciais e não foi inoculado o fungo *Aspergillus* sp., quando comparadas com aquelas em que foram aplicados os óleos essenciais e inoculado o fungo *Aspergillus* sp., em todas as épocas de armazenamento, tanto para temperatura controlada (16 °C) quanto para a temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C) (Tabela 5, Figuras 5 e 6). Nas sementes em que foi inoculado o fungo *Aspergillus* sp., o uso do óleo essencial de canela proporcionou porcentagem de plântulas normais similar ao do fungicida comercial Captana (480 g L⁻¹), tanto para temperatura controlada (16 °C)

quanto para a temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), enquanto as sementes tratadas com cintronela apresentaram valores menores.

Tabela 5. Estimados interceptos e coeficientes angulares e seus correspondentes erro padrão e valores de probabilidade ($H_0: \beta=0$) para relações entre porcentagem de plântulas normais versus tempo de armazenamento das sementes (0; 30; 60; 90; 120; 150 e 180 dias) sob diferentes combinações de tratamento de sementes x inoculação (não inoculada e *Aspergillus* sp.) em duas condições ambientais (natural e controlada).

Variáveis	Ambiente	TRT*	Intercepto			Coeficiente Angular		
			Estimativas	SE	p-valor	Estimativas	SE	p-valor
Plântulas (%)	Controlado	1	103.390	1.520	<.0001	-0.101	0.014	<.0001
		2	45.071	2.996	<.0001	0.064	0.028	0.028
		3	70.786	3.207	<.0001	-0.031	0.030	0.306
		4	98.571	1.954	<.0001	-0.086	0.018	<.0001
		5	8.821	1.873	<.0001	-0.068	0.017	0.001
		6	64.607	3.307	<.0001	-0.065	0.031	0.042
		7	84.500	2.949	<.0001	-0.055	0.027	0.055
		8	90.500	1.758	<.0001	-0.050	0.016	0.005
	Natural	1	101.890	1.626	<.0001	-0.108	0.015	<.0001
		2	46.071	2.687	<.0001	0.021	0.025	0.396
		3	68.429	3.022	<.0001	-0.043	0.028	0.137
		4	98.786	1.514	<.0001	-0.121	0.014	<.0001
		5	8.821	1.873	<.0001	-0.068	0.017	0.001
		6	71.107	3.200	<.0001	-0.130	0.030	0.000
		7	77.429	3.434	<.0001	-0.071	0.032	0.033
		8	86.714	1.784	<.0001	-0.129	0.017	<.0001

* T1 - sem inoculação + não tratadas; T2 - sem inoculação + tratadas com Citronela; T3 - sem inoculação + tratadas com Canela; T4 - sem inoculação + tratadas com fungicida Captan; T5 - inoculado com *Aspergillus* sp. + não tratadas; T6 - inoculado com *Aspergillus* sp. + tratadas com Citronela; T7 - inoculado com *Aspergillus* sp. + tratadas com Canela; T8 - inoculado com *Aspergillus* sp. + tratadas com fungicida Captan; SE-Desvio padrão.

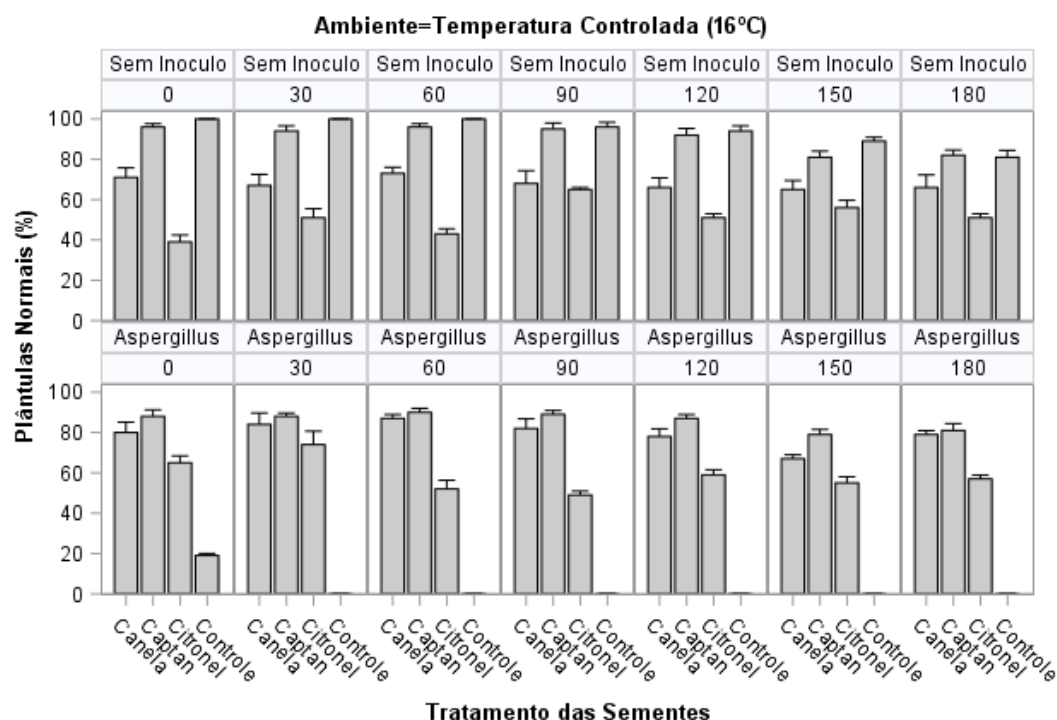


Figura 5 – Porcentagem de plântulas normais de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.

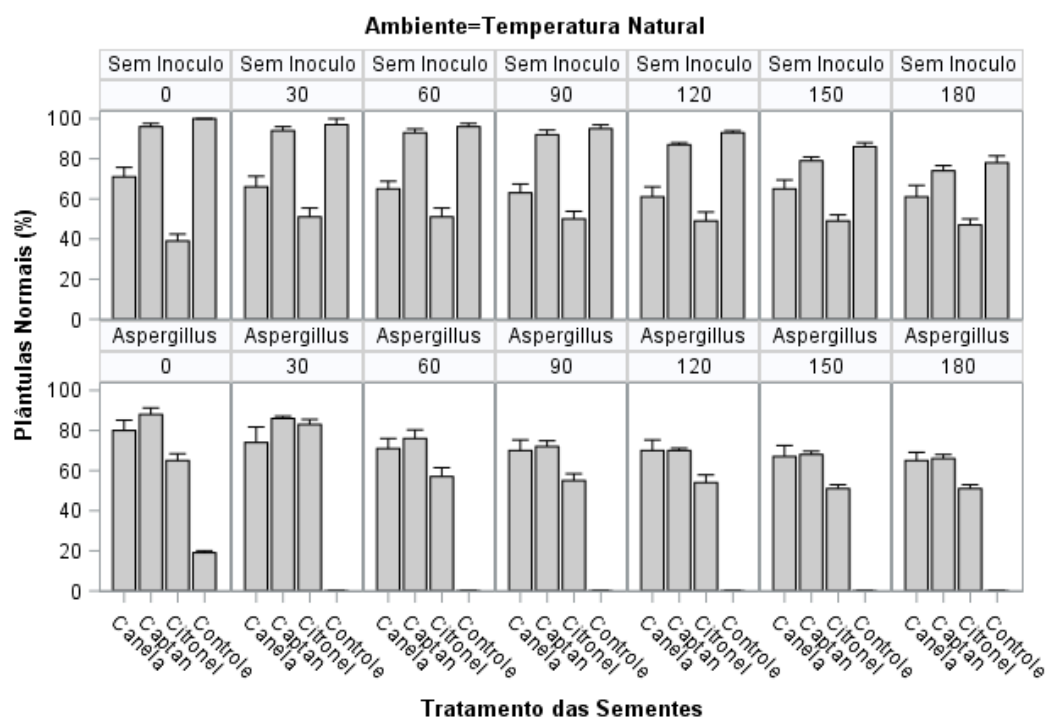


Figura 6 – Porcentagem de plântulas normais de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.

Quanto maior a incidência de *Aspergillus* spp. nas sementes menor foi a porcentagem de germinação, isto se deve ao fato, principalmente, deste fungo ser necrotrófico, ou seja, necessitar matar a célula do hospedeiro antes de infectá-la, o que leva conseqüentemente ao menor desenvolvimento das plântulas (NOVEMBRE; MARCOS FILHO, 1991; COSTA et al. 2013, ROCHA et al., 2014). O menor desenvolvimento das plântulas, também pode ocorrer devido aos efeitos fitotóxicos dos óleos. Em soja, sementes inoculadas com *A. ochraceu* apresentaram redução de até 50% no índice de velocidade de emergência e no número de plântulas quando comparadas ao tratamento com fungicida (ROCHA et al., 2014).

Para altura das plântulas (cm) (Figuras 7 e 8), quando comparadas as sementes em que não foram inoculadas e as que foram inoculadas com o fungo *Aspergillus* sp., não houve diferença entre os óleos de canela e citronela e o fungicida comercial Captan[®], em todas as épocas de armazenamento, tanto para temperatura controlada (16 °C), quanto para a temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C). O mesmo foi observado para comprimento radicular (cm), massa fresca da parte aérea (g), massa fresca da raiz (g), massa seca da parte aérea (g) e massa seca da raiz (g) (Figuras 9 a 18). Isto ocorreu pelo fato de que as sementes que germinaram e formaram as plântulas normais apresentaram baixa incidência do fungo (Figura 19 e 20), possibilitando o desenvolvimento normal das mesmas, evidenciando que o tratamento das sementes foi eficaz.

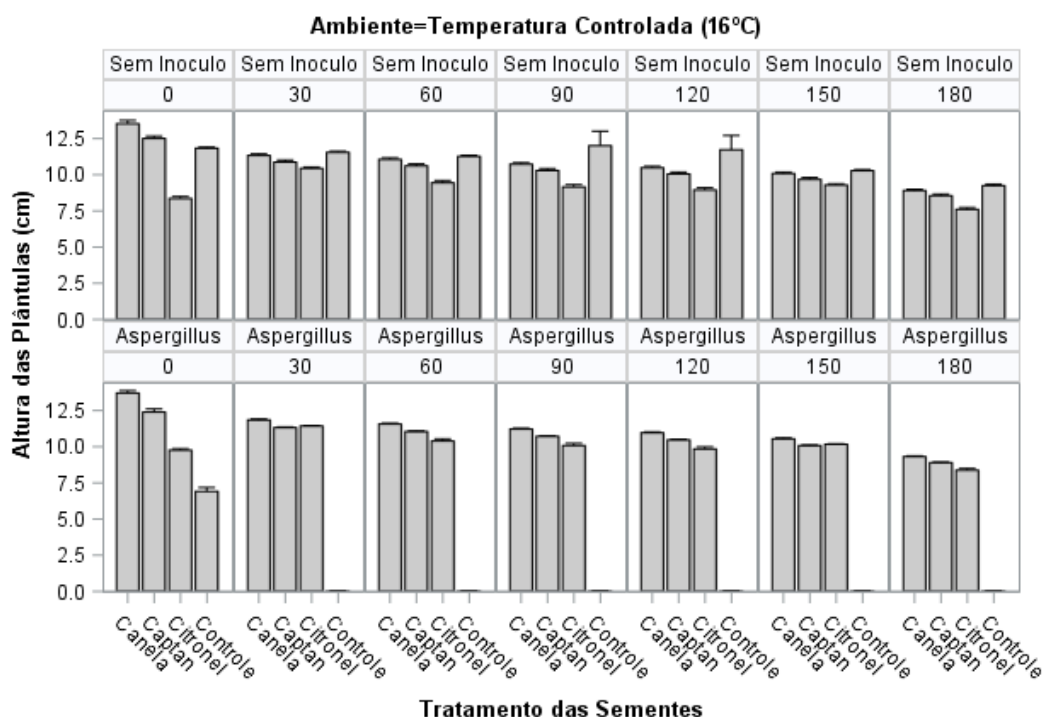


Figura 7 – Altura de plântulas normais (cm) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.

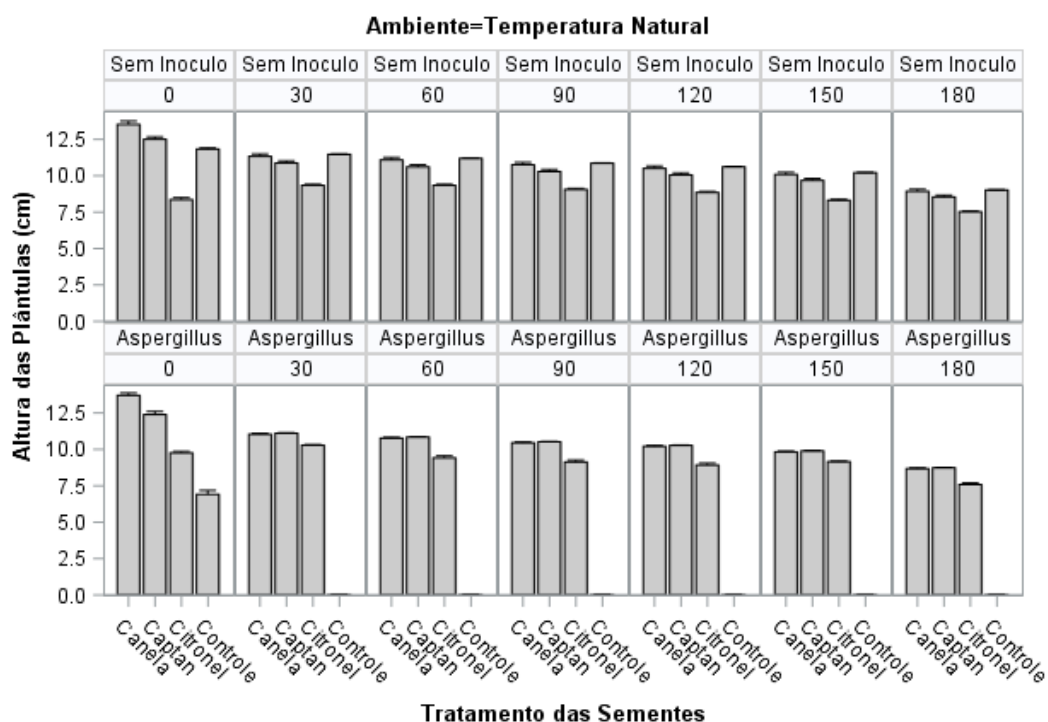


Figura 8 – Altura de plântulas normais (cm) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.

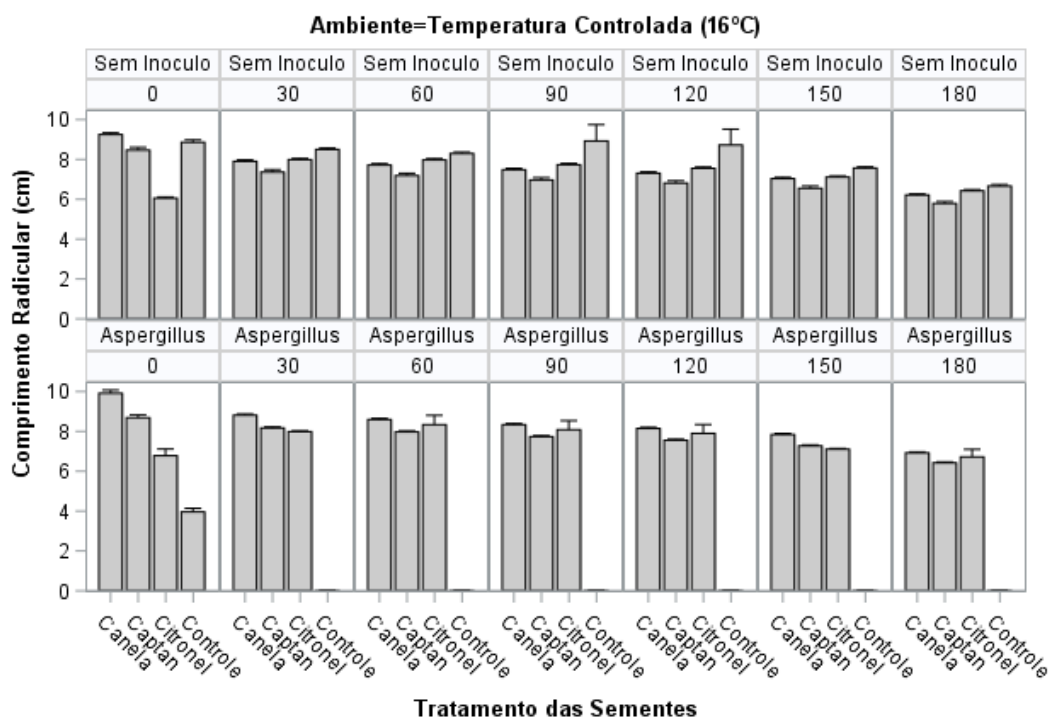


Figura 9 – Comprimento radicular (cm) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.

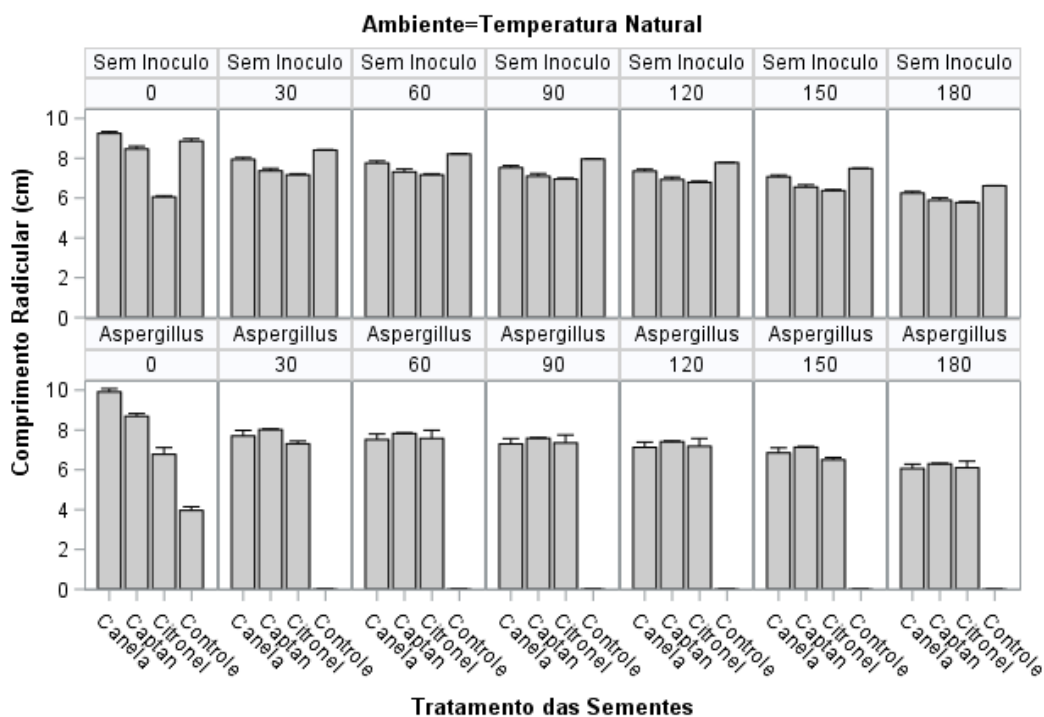


Figura 10 – Comprimento radicular (cm) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.

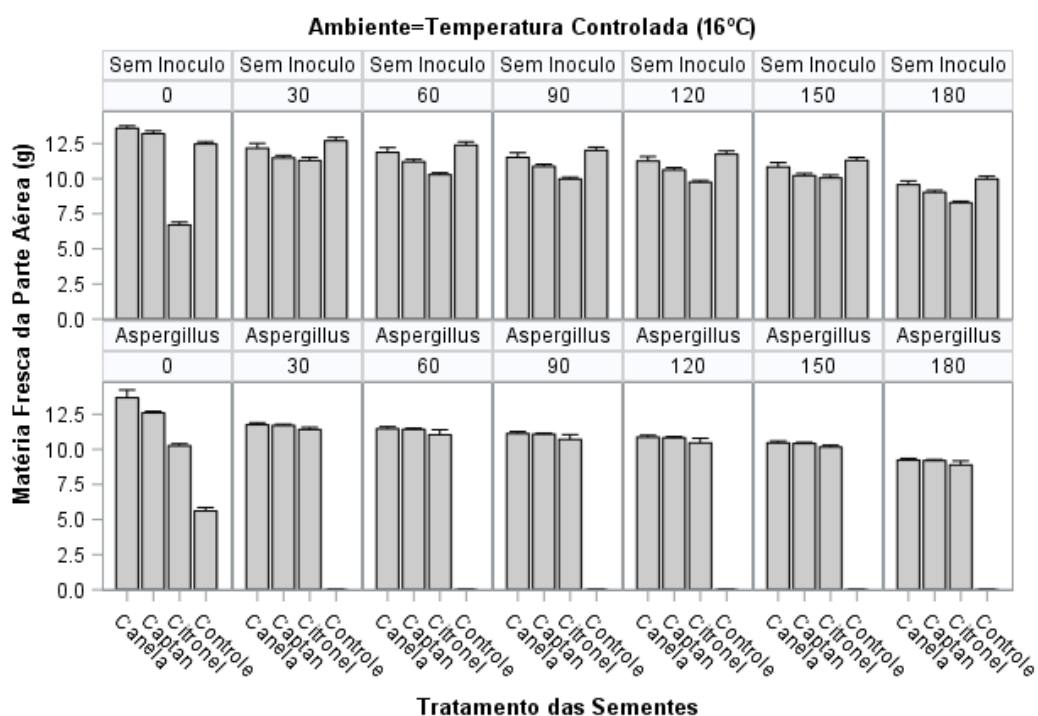


Figura 11 – Massa fresca da parte aérea (g) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.

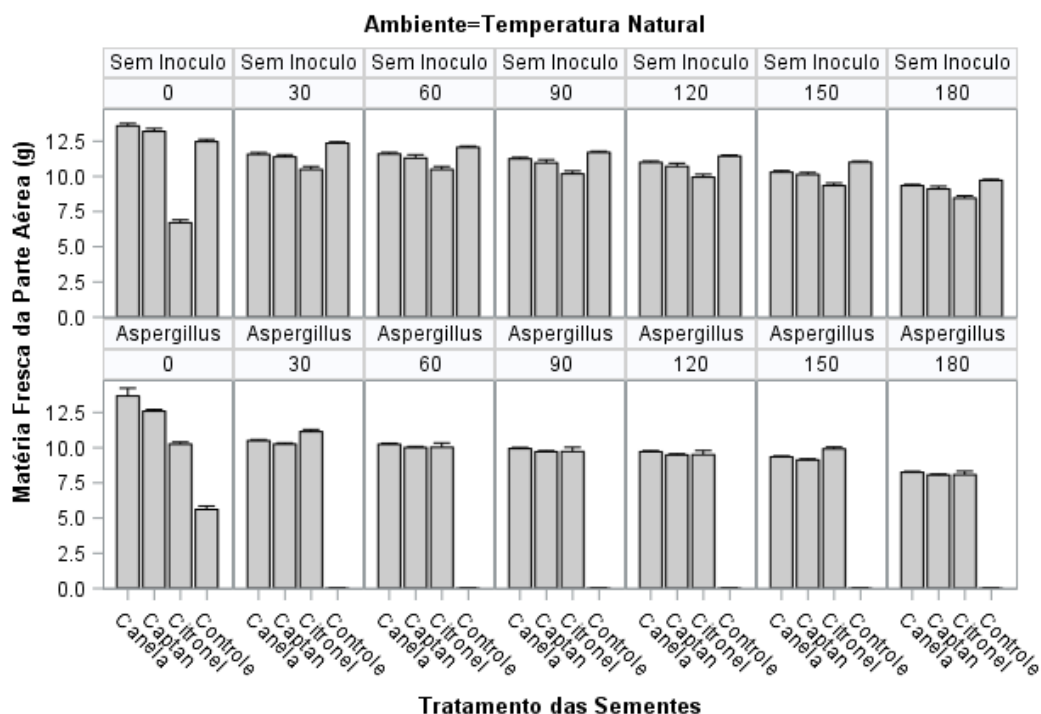


Figura 12 – Massa fresca da parte aérea (g) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.

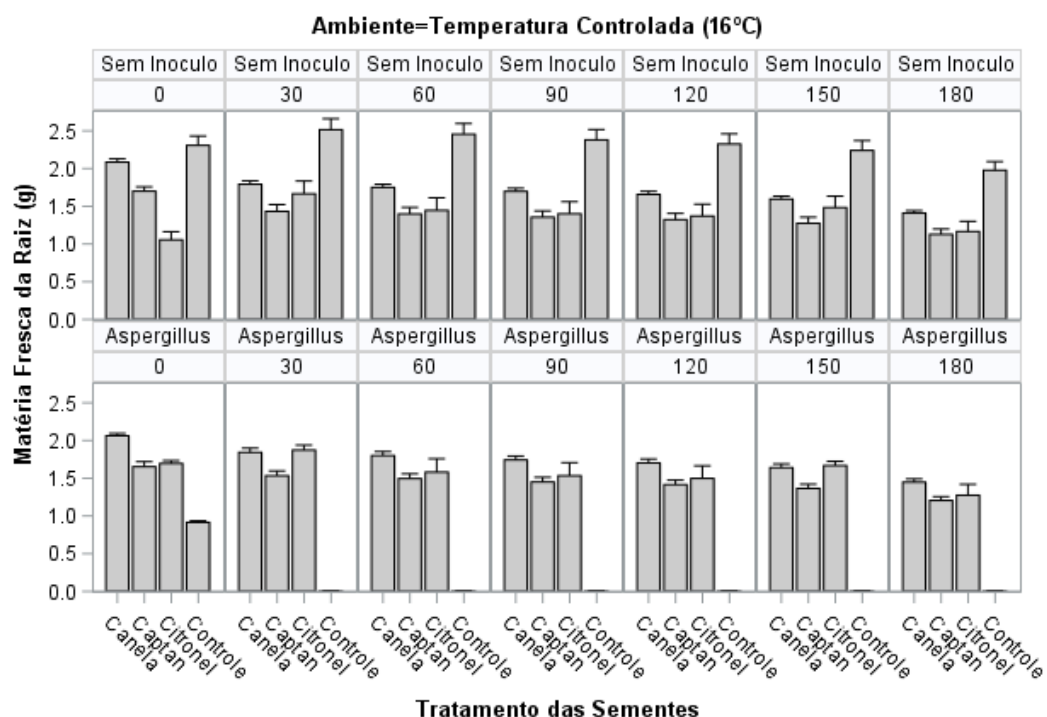


Figura 13 – Massa fresca da raiz (g) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.

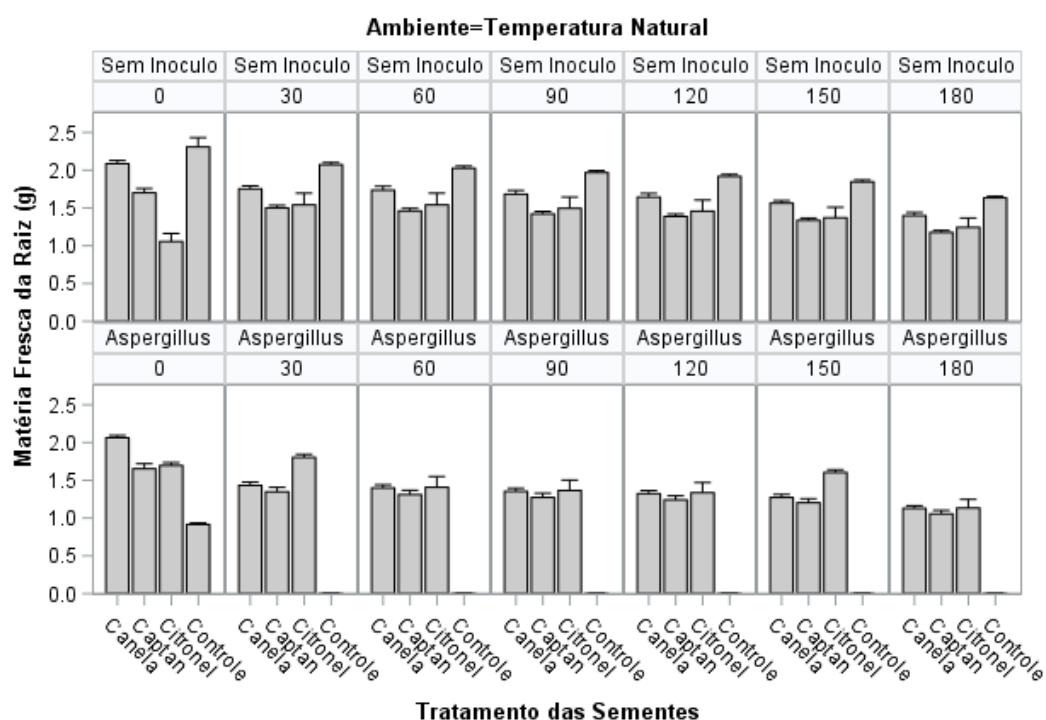


Figura 14 – Massa fresca da raiz (g) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.

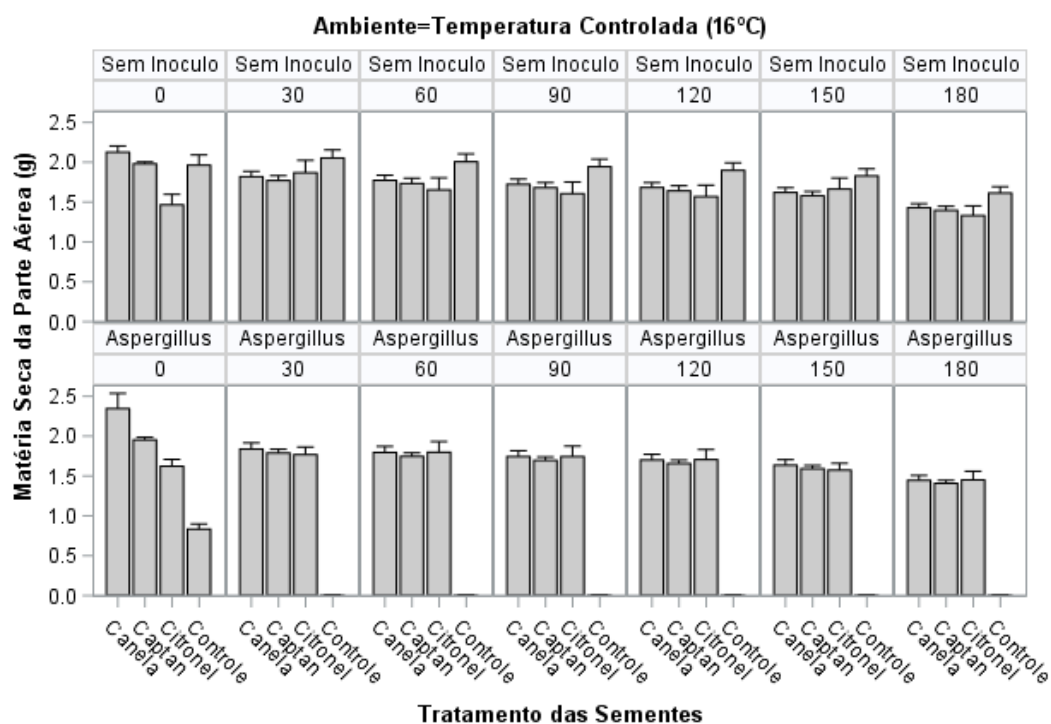


Figura 15 – Massa seca da parte aérea (g) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.

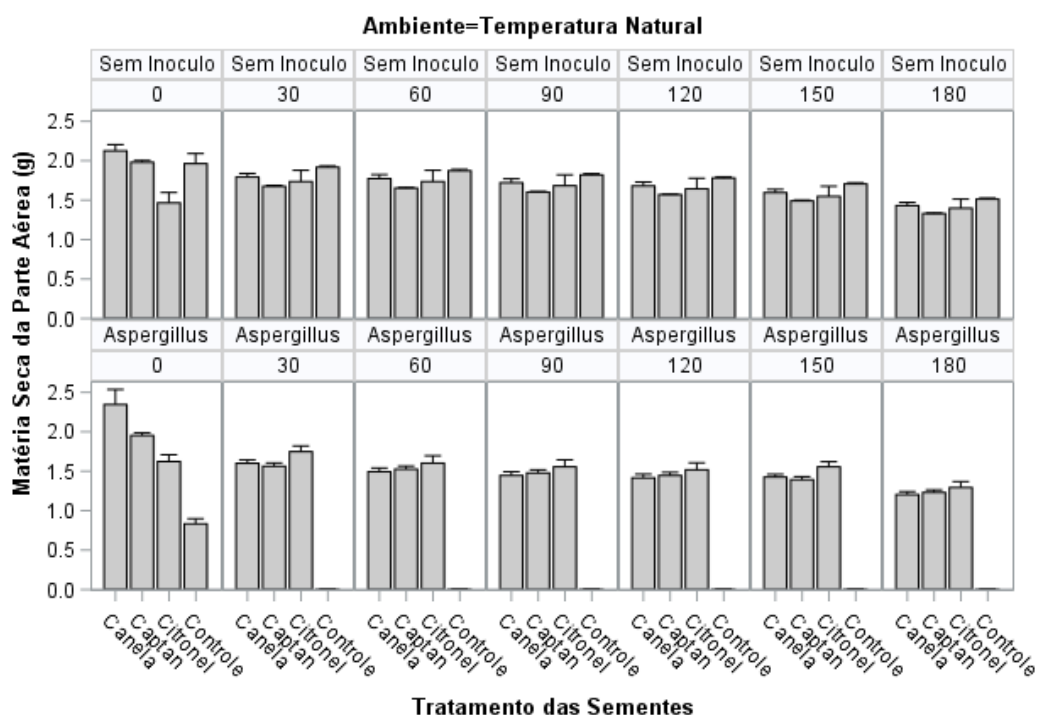


Figura 16 – Massa seca da parte aérea (g) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.

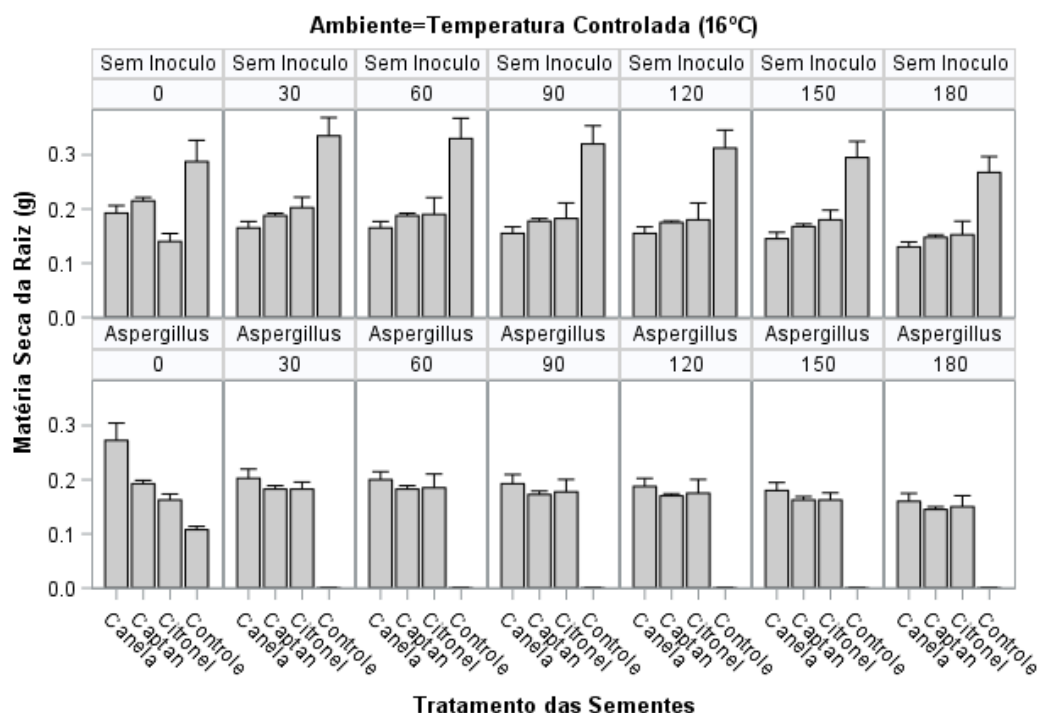


Figura 17 – Massa seca da raiz (g) de feijão comum cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.

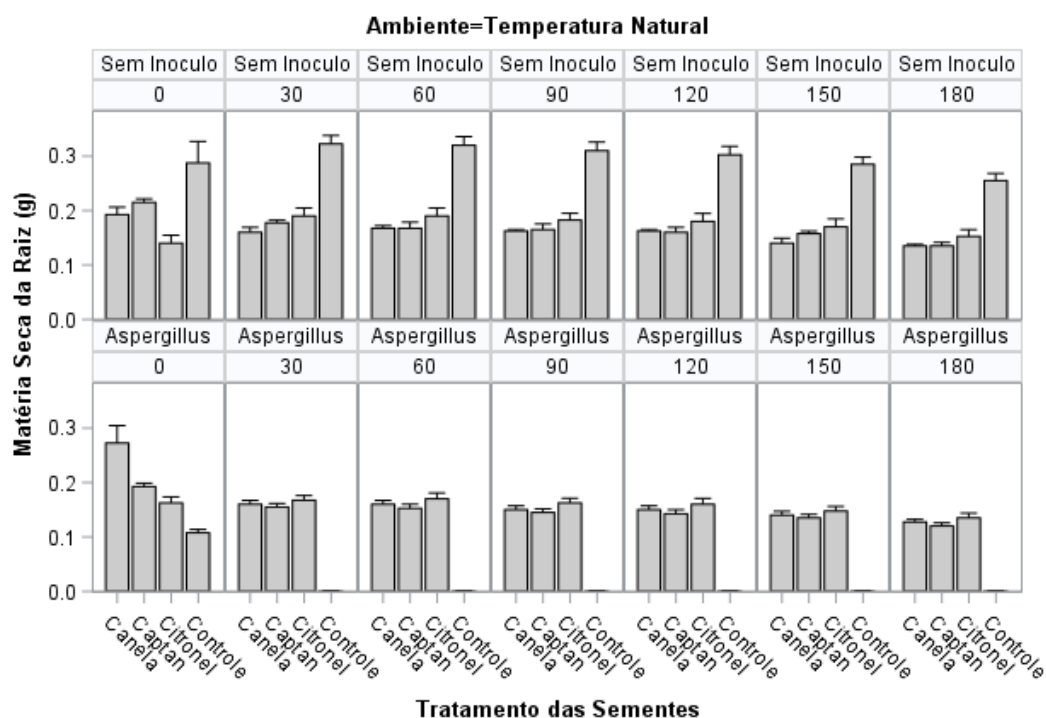


Figura 18 – Massa seca da raiz (g) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *Aspergillus* sp.

Houve maior incidência de *Aspergillus* sp. (Figura 19 e 20) nas sementes armazenadas na condição de ambiente natural, tanto nas que foram inoculadas, quanto naquelas não inoculadas. A partir dos 120 dias houve uma baixa incidência da ocorrência do fungo nas sementes não inoculadas. Nas sementes inoculadas, não houve diferença entre os óleos de canela e citronela e o fungicida comercial Captan® em todas as épocas de armazenamento, tanto nas armazenadas sob temperatura controlada (16 °C), quanto naquelas armazenadas em ambiente natural.

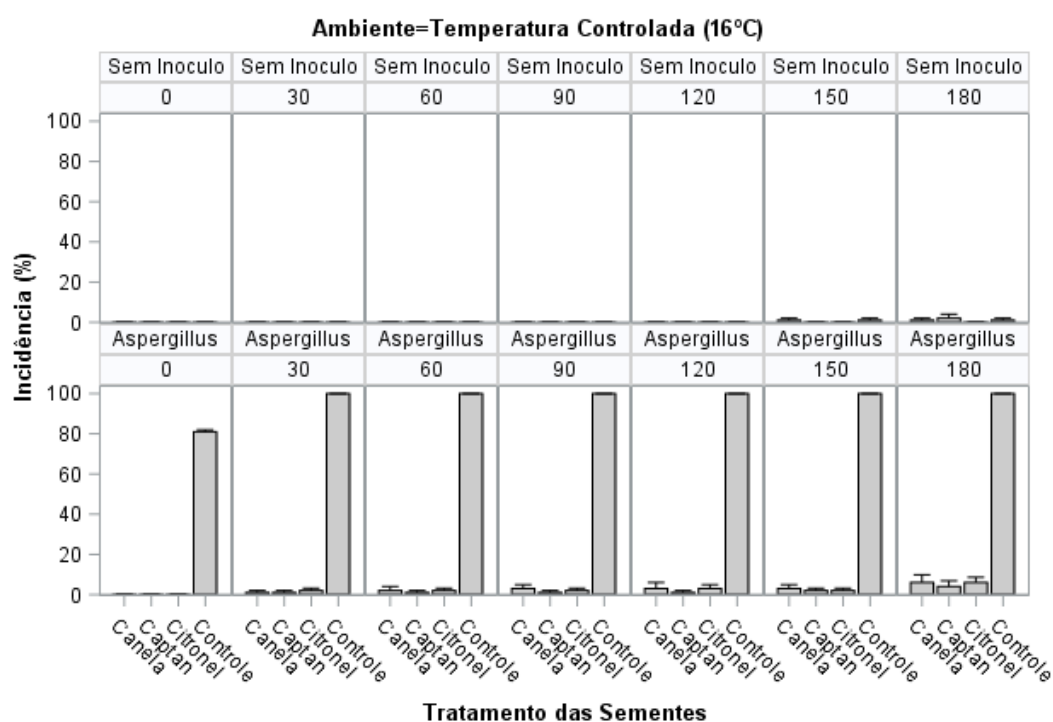


Figura 19 – Incidência do fungo *Aspergillus* sp. em sementes de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16 °C).

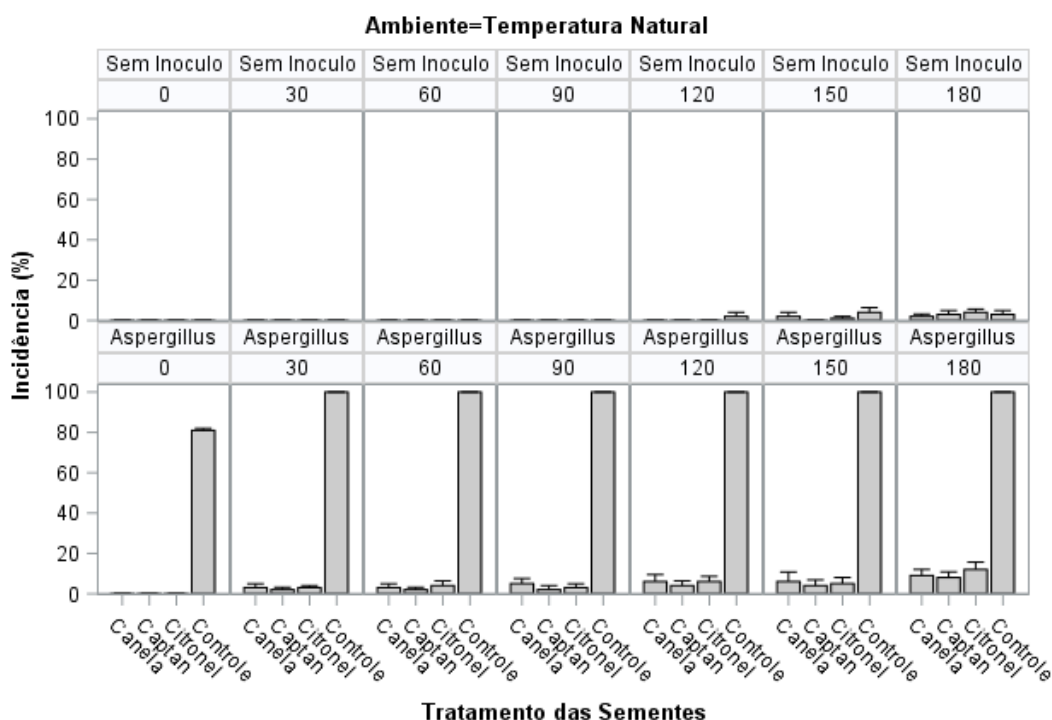


Figura 20 – Incidência do fungo *Aspergillus* sp. em sementes de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C).

Durante o período de armazenamento das sementes, mesmo em locais sem inoculação de fungos e com equipamento redutor de inóculo, ocorre a incidência de fungos e, esta incidência aumenta proporcionalmente com o aumento dos dias de armazenamento, principalmente pelo fato destes serem disseminados constantemente pelo ar (BORÉM et al., 2006). As temperaturas de 25 °C favorecem o desenvolvimento do fungo e temperaturas mais baixas desfavorecem (MILLS; WOODS, 1994; PERRONE et al., 2007)

Uma das explicações quanto à ação antifúngica do óleo essencial de canela, está relacionado com um de seus componentes majoritários, o cinamaldeído. O acúmulo de cinamaldeído em múltiplos locais de ação, principalmente em membranas celulares e estruturas endomembranas da célula fúngica, causa a lise da célula, o que leva o patógeno à morte (KHAN; AHMAD, 2011; JIANG et al., 2013).

A atividade do óleo essencial de citronela contra fungos está ligada aos componentes majoritários, como o citronelol e o citronelal, que pertencem a um dos grupos de constituintes comumente presentes em óleos essenciais (terpenos), que agem principalmente contra a membrana citoplasmática dos micro-organismos. Isto é justificado pelo caráter lipofílico destes compostos,

sugerindo sua interação com membranas dos microrganismos. E, de fato, a hidrofobicidade dessas moléculas as possibilita se particionarem nas membranas celulares dos fungos, alterando suas funções e as deixando mais permeáveis, do que a lise da célula (DI PASQUA et al., 2007; SILVA; BASTOS, 2007; OOTANI et al., 2016).

Os óleos essenciais aplicados nas amostras em que não foi inoculado o fungo *S. sclerotiorum*, promoveram a redução da germinação das sementes em todas as épocas de armazenamento, tanto para temperatura controlada (16 °C) quanto para a temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C) (Tabela 6, Figuras 21 e 22). Nas sementes em que foi inoculado o fungo *S. sclerotiorum*, o uso do óleo de canela proporcionou germinação similar às aquelas tratadas com o fungicida comercial Cerconil®, tanto para temperatura controlada (16 °C), quanto para a temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C) (Tabela 6, Figuras 21 e 22). No entanto, as sementes tratadas com o óleo de citronela apresentaram valores menores de germinação. As sementes sem aplicação de nenhum produto (controle) e inoculadas, não germinaram. O mesmo resultado foi observado para o IVG (Tabela 6, Figuras 23 e 24).

A redução da germinação evidencia a importância do tratamento de sementes de feijão, principalmente porque o fungo *S. sclerotiorum* é altamente prejudicial à germinação das sementes (TU, 1988; VIEIRA et al. 2001, BOTELLHO et al., 2013, WAFARA et al., 2014). A viabilidade das sementes tratadas é mantida durante o armazenamento, mesmo aquelas inoculadas (MULLER et al., 1999; REIS et al., 2014).

Tabela 06. Estimados interceptos e coeficientes angulares e seus correspondentes erro padrão e valores de probabilidade ($H_0: \beta=0$) para relações entre porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG) versus tempo de armazenamento das sementes (0; 30; 60; 90; 120; 150 e 180 dias) sob diferentes combinações de tratamento de sementes x inoculação (não inoculada e *S. sclerotiorum*) em duas condições ambientais (natural e controlada).

Variáveis	Ambiente	TRT*	Intercepto			Coeficientes Angulares		
			Estimativas	SE	p-valor	Estimativas	SE	p-valor
Germinação (%)	Controlado	1	103.790	1.584	<.0001	-0.093	0.015	<.0001
		2	53.321	2.341	<.0001	0.025	0.022	0.259
		3	75.679	3.714	<.0001	-0.049	0.034	0.167
		4	102.640	1.699	<.0001	-0.102	0.016	<.0001
		5	21.357	4.539	<.0001	-0.164	0.042	0.001
		6	72.286	2.401	<.0001	-0.095	0.022	0.000
		7	89.645	1.885	<.0001	-0.045	0.018	0.016
		8	94.071	1.514	<.0001	-0.045	0.014	0.003
	Natural	1	103.430	1.600	<.0001	-0.105	0.015	<.0001
		2	53.036	2.259	<.0001	-0.018	0.021	0.400
		3	72.429	3.191	<.0001	-0.052	0.030	0.088
		4	103.790	1.740	<.0001	-0.141	0.016	<.0001
		5	21.357	4.539	<.0001	-0.164	0.042	0.001
		6	69.714	2.247	<.0001	-0.105	0.021	<.0001
		7	86.500	2.331	<.0001	-0.036	0.022	0.110
		8	90.429	1.898	<.0001	-0.033	0.018	0.069
IVG	Controlado	1	26.031	0.628	<.0001	-0.040	0.006	<.0001
		2	12.160	0.435	<.0001	-0.002	0.004	0.543
		3	16.422	0.954	<.0001	-0.008	0.009	0.372
		4	25.027	0.812	<.0001	-0.049	0.008	<.0001
		5	4.130	0.876	<.0001	-0.032	0.008	0.001
		6	15.180	0.780	<.0001	-0.021	0.007	0.007
		7	21.215	0.699	<.0001	-0.029	0.006	0.000
		8	21.130	0.768	<.0001	-0.017	0.007	0.022
	Natural	1	24.894	0.545	<.0001	-0.034	0.005	<.0001
		2	11.621	0.492	<.0001	-0.006	0.005	0.224
		3	16.013	0.707	<.0001	-0.011	0.007	0.111
		4	25.123	0.821	<.0001	-0.049	0.008	<.0001
		5	4.130	0.876	<.0001	-0.032	0.008	0.001
		6	13.937	0.632	<.0001	-0.024	0.006	0.000
		7	19.164	0.781	<.0001	-0.010	0.007	0.159
		8	20.512	0.726	<.0001	-0.021	0.007	0.004

* T1 - sem inoculação + não tratadas; T2 - sem inoculação + tratadas com Citronela; T3 - sem inoculação + tratadas com Canela; T4 - sem inoculação + tratadas com fungicida Captan; T5 - inoculado com *Aspergillus* sp. + não tratadas; T6 - inoculado com *Aspergillus* sp. + tratadas com Citronela; T7 - inoculado com *Aspergillus* sp. + tratadas com Canela; T8 - inoculado com *Aspergillus* sp. + tratadas com fungicida Captan; SE-Desvio padrão.

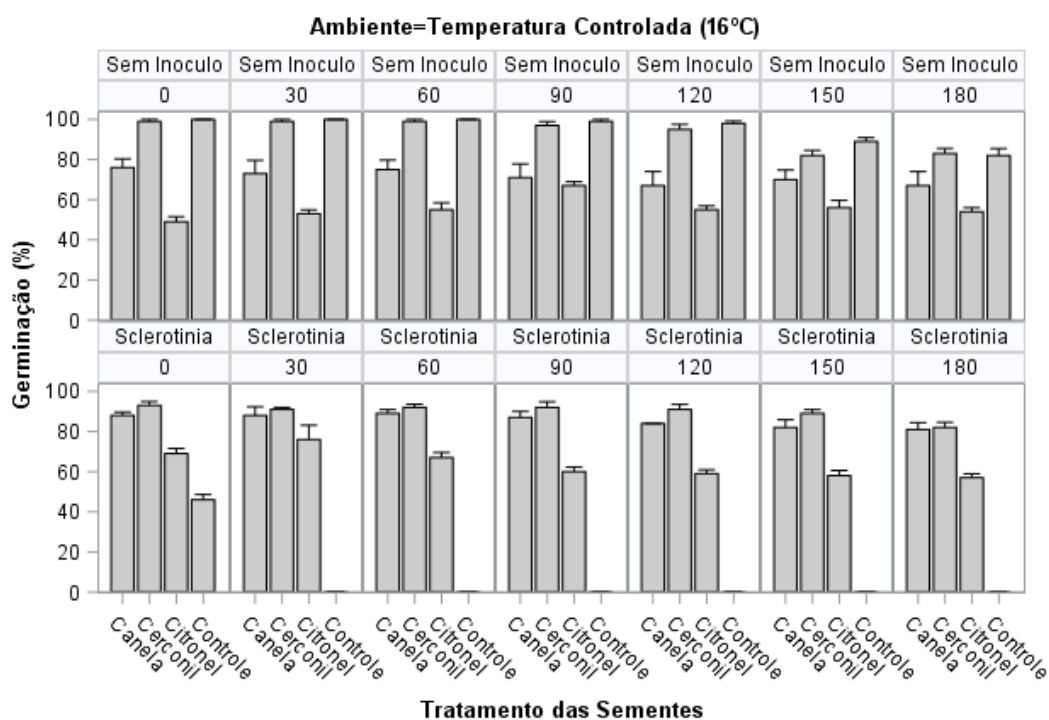


Figura 21 – Porcentagem de germinação (dados não transformados) das sementes de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16 °C), para o fungo *S. sclerotiorum*.

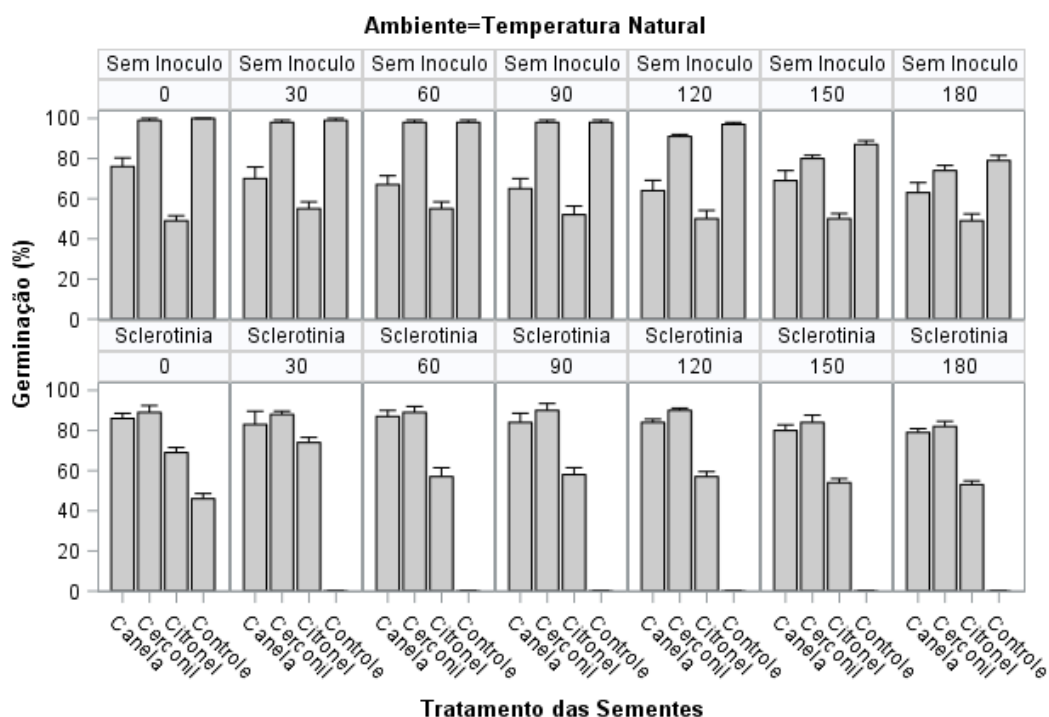


Figura 22 – Porcentagem de germinação (dados não transformados) das sementes de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *S. sclerotiorum*.

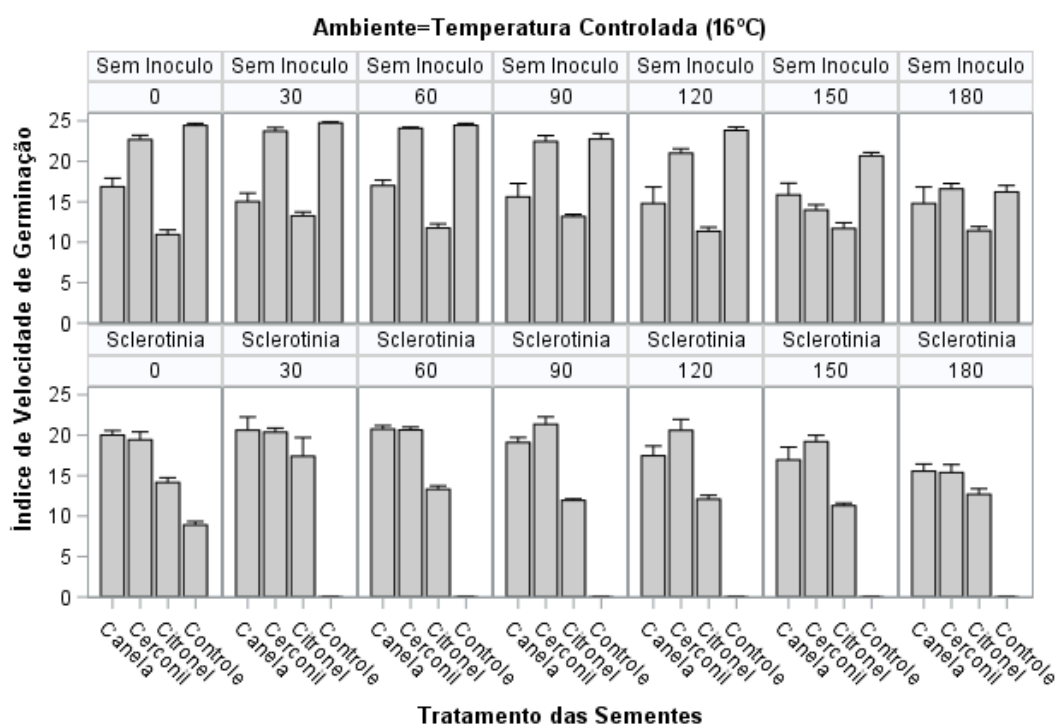


Figura 23 – Valores de IVG das sementes de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16 °C), para o fungo *S. sclerotiorum*.

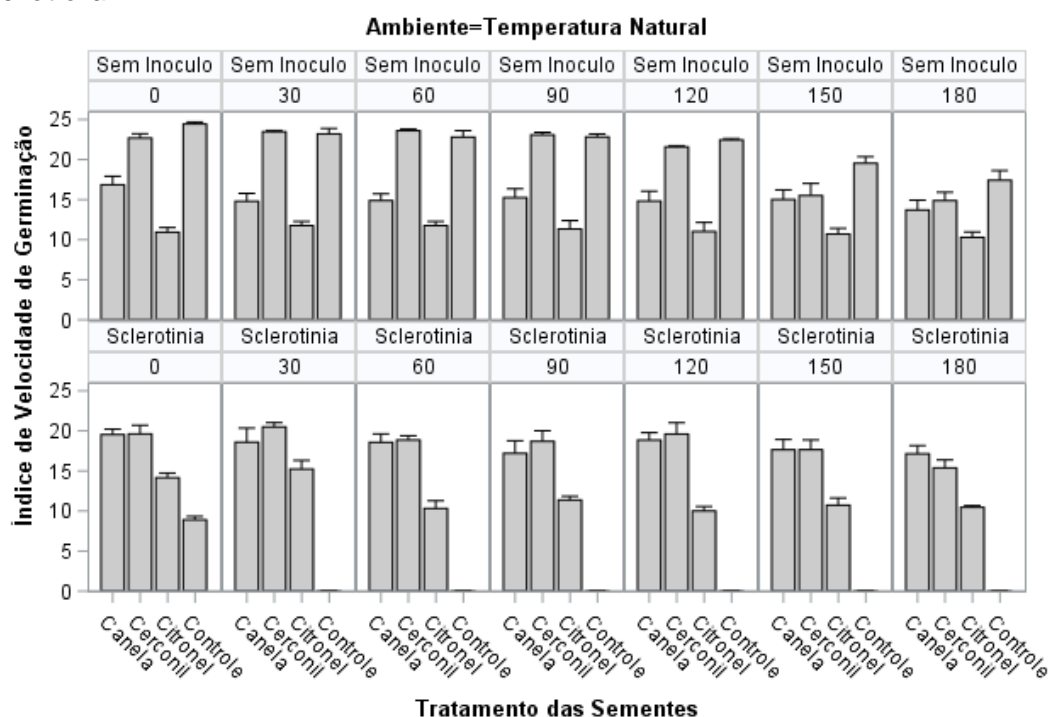


Figura 24 – Valores de IVG das sementes de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *S. sclerotiorum*.

A porcentagem de plântulas normais foi menor nas sementes que foram tratadas com óleos e não foi inoculado o fungo *S. sclerotiorum*, quando

comparadas àquelas que receberam tratamento com os óleos, e inoculado o fungo *S. sclerotiorum*, em todas as épocas de armazenamento, nas duas temperaturas de armazenamento (Tabela 7, Figuras 25 e 26). Nas sementes que foi inoculado o fungo *S. sclerotiorum*, o uso do óleo de canela proporcionou porcentagem de plântulas normais similar àquelas tratadas com o fungicida comercial Cerconil®, nos dois ambientes de armazenamento (Figuras 25 e 26). Entretanto, as sementes tratadas com o óleo de citronela apresentaram menores porcentagens de plântulas normais.

Tabela 7. Estimados interceptos e coeficientes angulares e seus correspondentes erro padrão e valores de probabilidade ($H_0: \beta=0$) para relações entre porcentagem de número de plântulas normais, índice de velocidade de germinação (IVG) versus tempo de armazenamento das sementes (0; 30; 60; 90; 120; 150 e 180 dias) sob diferentes combinações de tratamento de sementes x inoculação (não inoculada e *S. sclerotiorum*) em duas condições ambientais (natural e controlada).

Variáveis	Ambiente	TRT*	Intercepto			Coeficientes Angulares		
			Estimativas	SE	p-values	Estimativas	SE	p-values
Plântulas Normais (%)	Controlado	1	103.390	1.520	<.0001	-0.101	0.014	<.0001
		2	45.071	2.996	<.0001	0.064	0.028	0.028
		3	70.786	3.207	<.0001	-0.031	0.030	0.306
		4	98.571	1.954	<.0001	-0.086	0.018	<.0001
		5	8.357	1.781	<.0001	-0.064	0.016	0.001
		6	69.571	2.201	<.0001	-0.105	0.020	<.0001
		7	90.024	3.514	<.0001	-0.061	0.033	0.073
		8	93.429	1.400	<.0001	-0.067	0.013	<.0001
	Natural	1	101.890	1.626	<.0001	-0.108	0.015	<.0001
		2	46.071	2.687	<.0001	0.021	0.025	0.396
		3	68.429	3.022	<.0001	-0.043	0.028	0.137
		4	98.786	1.514	<.0001	-0.121	0.014	<.0001
		5	8.357	1.781	<.0001	-0.064	0.016	0.001
		6	69.214	1.965	<.0001	-0.145	0.018	<.0001
		7	83.393	2.366	<.0001	-0.054	0.022	0.021
		8	87.679	2.170	<.0001	-0.063	0.020	0.004

* T1 - sem inoculação + não tratadas; T2 - sem inoculação + tratadas com Citronela; T3 - sem inoculação + tratadas com Canela; T4 - sem inoculação + tratadas com fungicida Captan; T5 - inoculado com *Aspergillus* sp. + não tratadas; T6 - inoculado com *Aspergillus* sp. + tratadas com Citronela; T7 - inoculado com *Aspergillus* sp. + tratadas com Canela; T8 - inoculado com *Aspergillus* sp. + tratadas com fungicida Captan; SE-Desvio padrão.

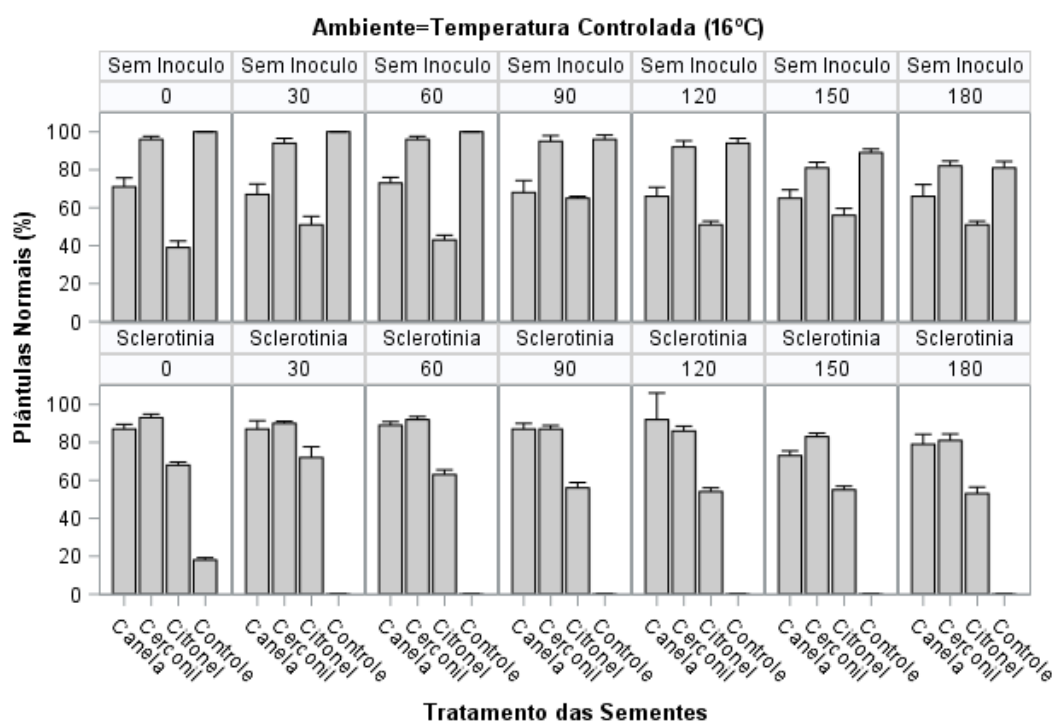


Figura 25 – Porcentagem de plântulas normais de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16 °C), para o fungo *S. sclerotiorum*.

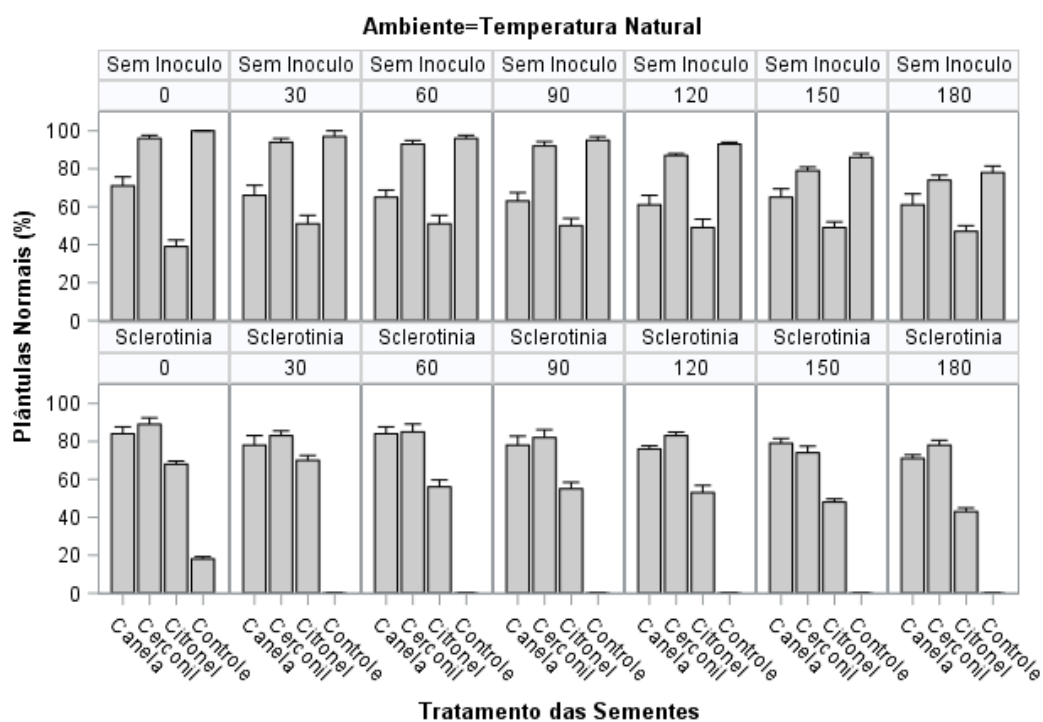


Figura 26 – Porcentagem de plântulas normais de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *S. sclerotiorum*.

O tratamento das sementes é viável, pois as sementes infectadas e/ou infestadas com inóculo fungo *S. sclerotiorum*, podem além de disseminar o patógeno para áreas isentas causar danos diretos no campo, reduzindo o potencial produtivo das plantas (TU, 1988; MULLER et al., 1999; VIEIRA et al. 2001; BOTELLHO et al., 2013; REIS et al., 2014; WAFARA et al., 2014; VENTUROSO et al., 2015).

Para altura das plântulas (cm), quando comparadas as sementes que não foram inoculadas e as que foram inoculadas com o fungo *S. sclerotiorum*, as primeiras apresentaram maiores alturas, em relação às segundas, não houve diferença entre os óleos de canela e citronela e o fungicida Cerconil®. Quanto maior o tempo de armazenamento, menores foram os valores de altura de plantas (cm). Esse comportamento foi observado nas sementes armazenadas nos dois ambientes (Figuras 27 e 28). Comportamento similar foi observado para comprimento radicular (cm), massa fresca da parte aérea (g), massa fresca da raiz (g), massa seca da parte aérea (g) e massa seca da raiz (g) (Figuras 29 a 38).

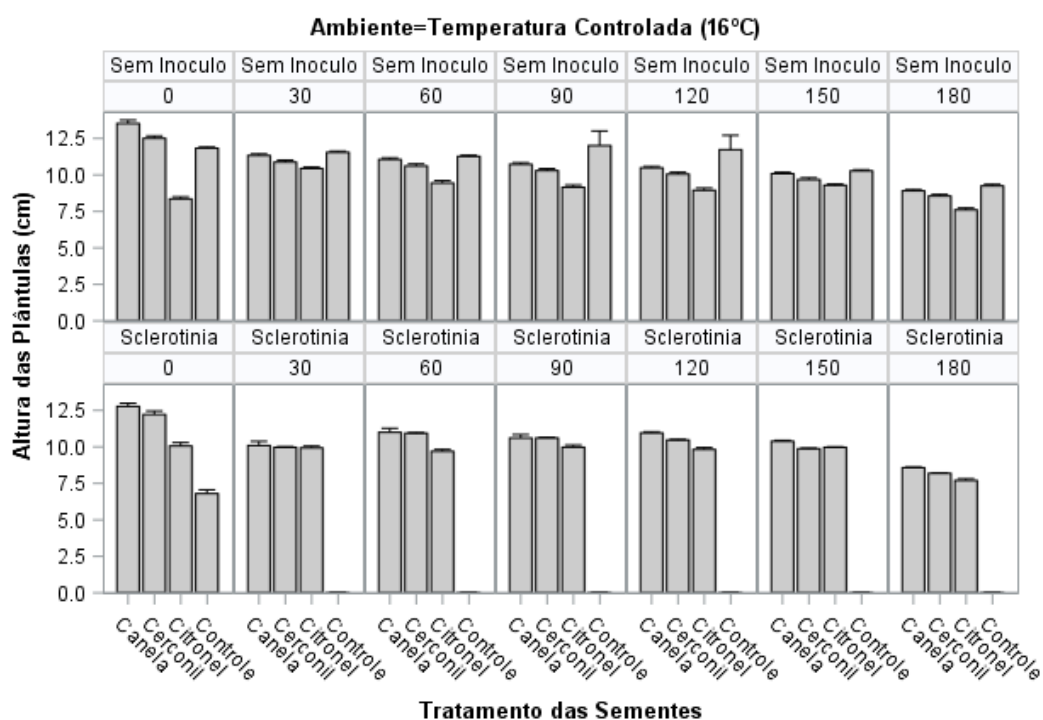


Figura 27 – Altura de plântulas normais (cm) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16 °C), para o fungo *S. sclerotiorum*.

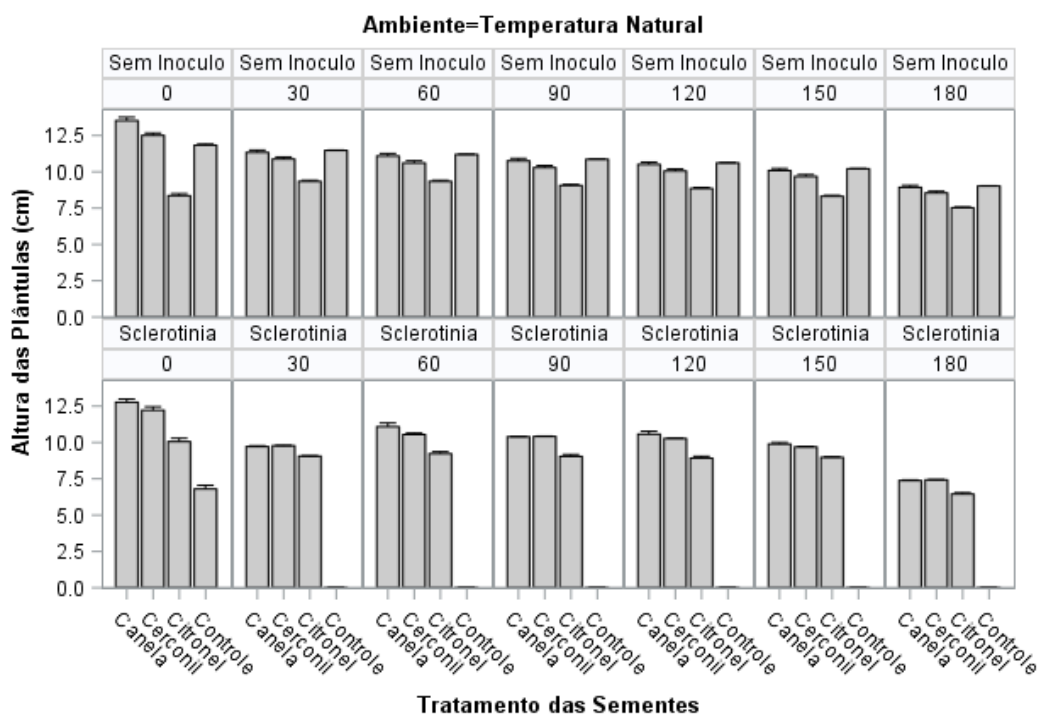


Figura 28 – Altura de plântulas normais (cm) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetidas à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *S. sclerotiorum*.

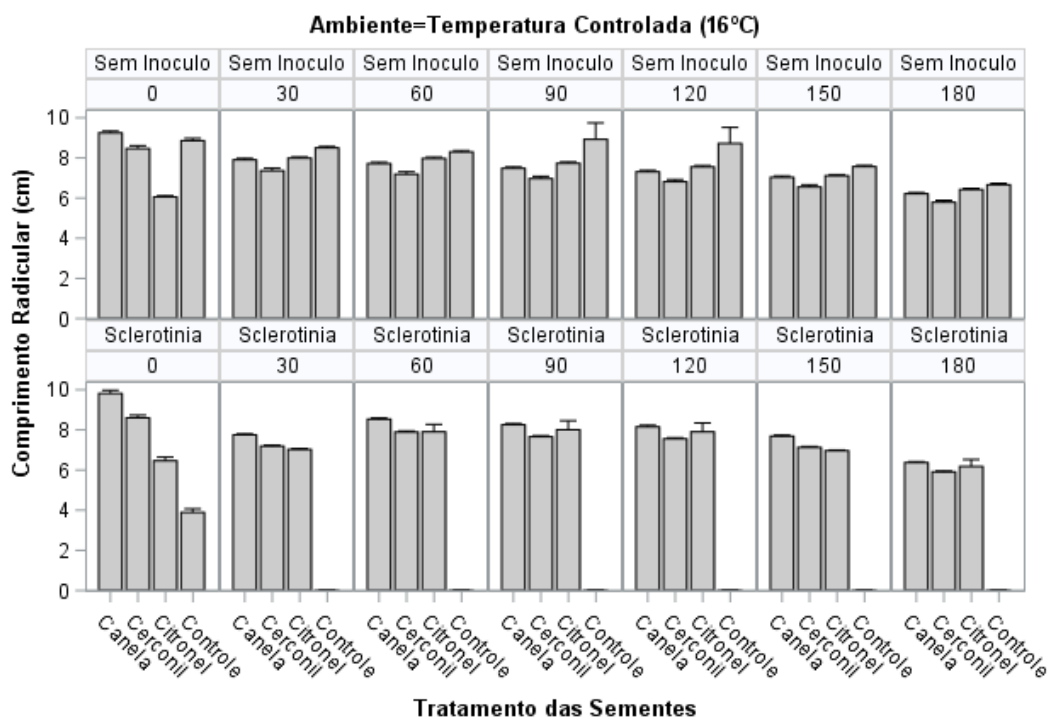


Figura 29 – Comprimento radicular (cm) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16 °C), para o fungo *S. sclerotiorum*.

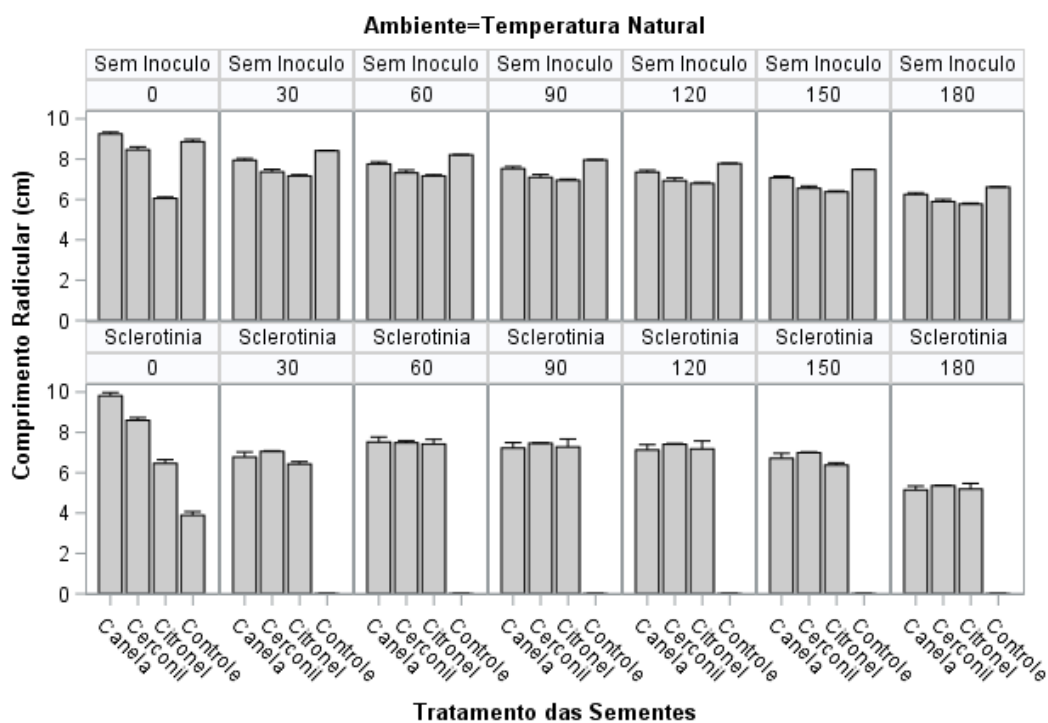


Figura 30 – Comprimento radicular (cm) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural ($25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), para o fungo *S. sclerotiorum*.

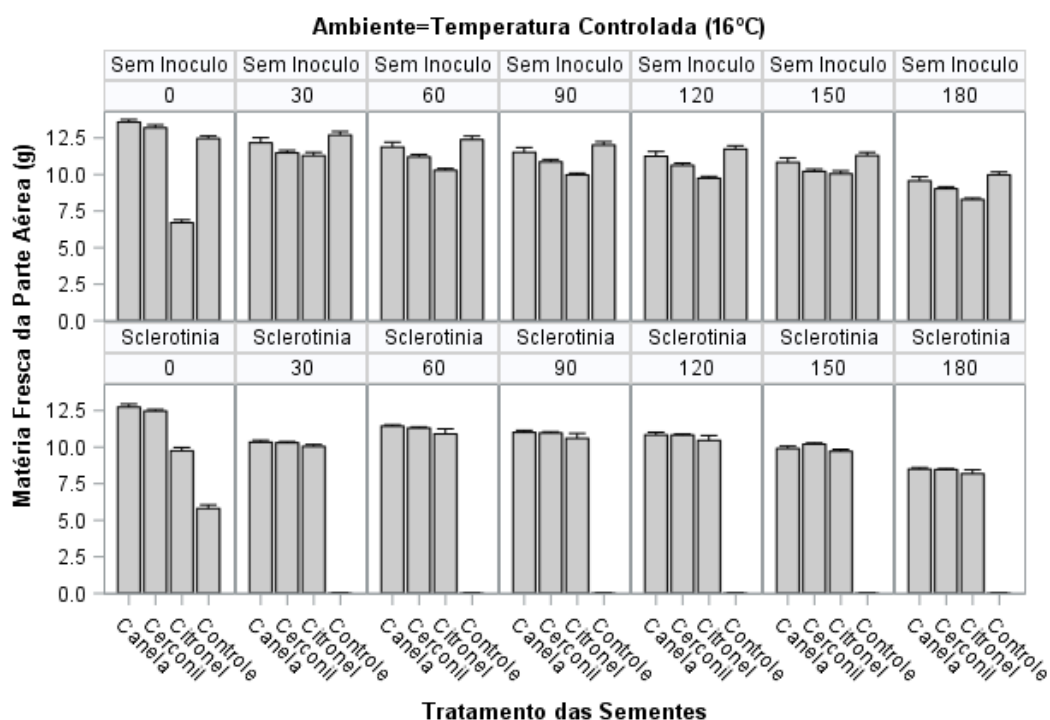


Figura 31 – Massa fresca da parte aérea (g) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural ($16 \text{ }^\circ\text{C}$), para o fungo *S. sclerotiorum*.

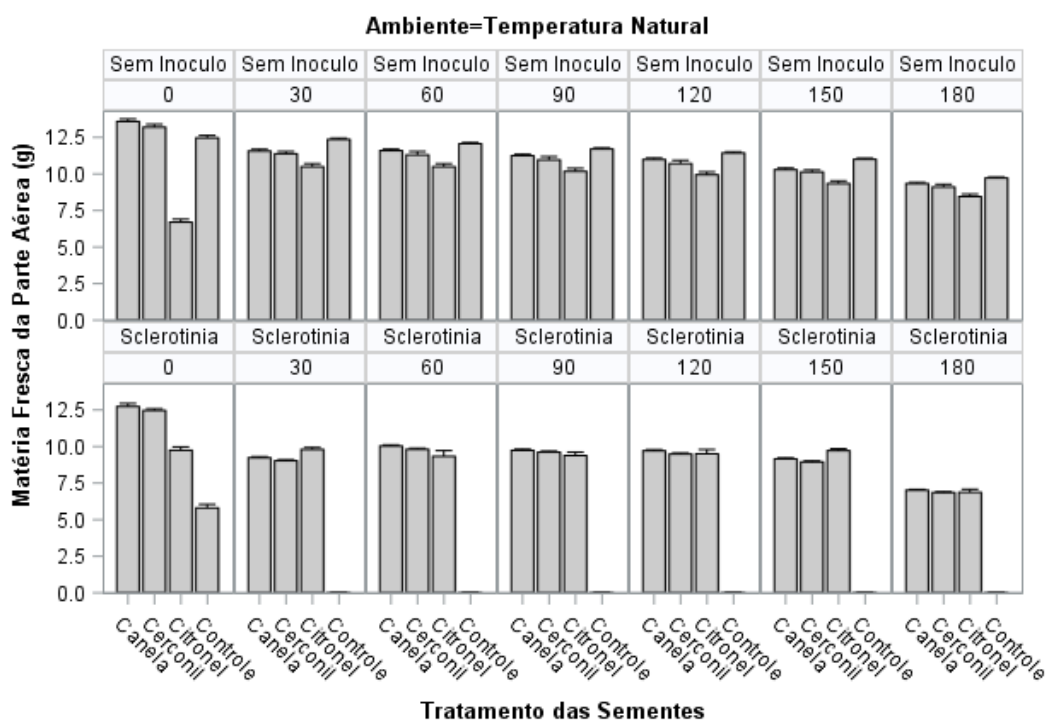


Figura 32 – Massa fresca da parte aérea (g) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *S. sclerotiorum*.

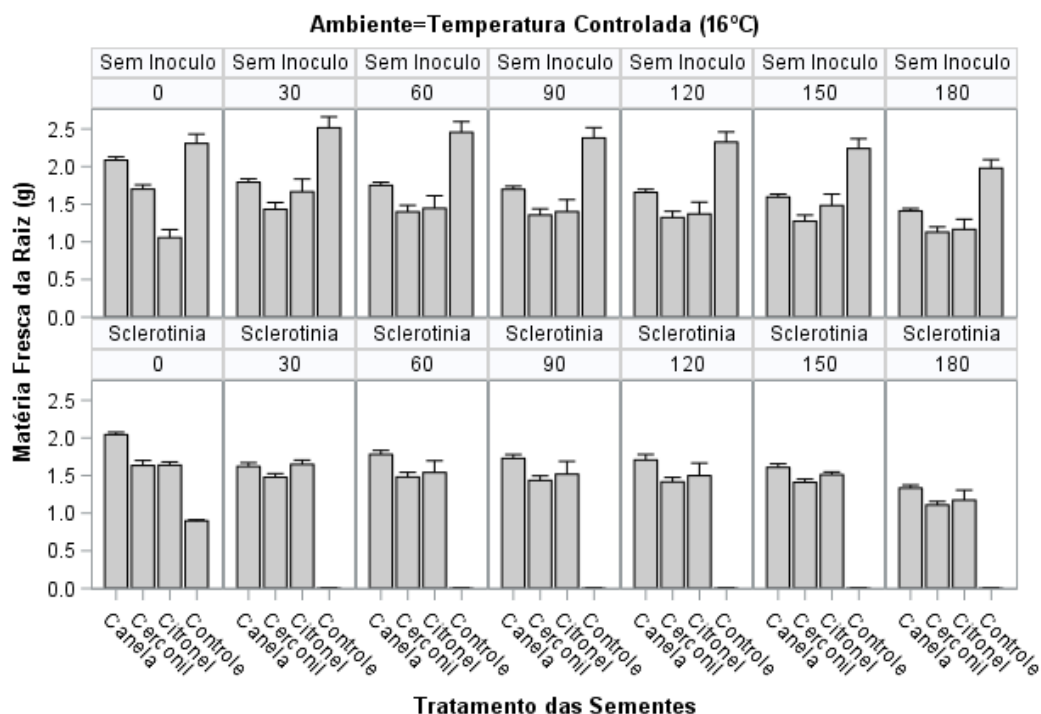


Figura 33 – Massa fresca da raiz (g) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16 °C), para o fungo *S. sclerotiorum*.

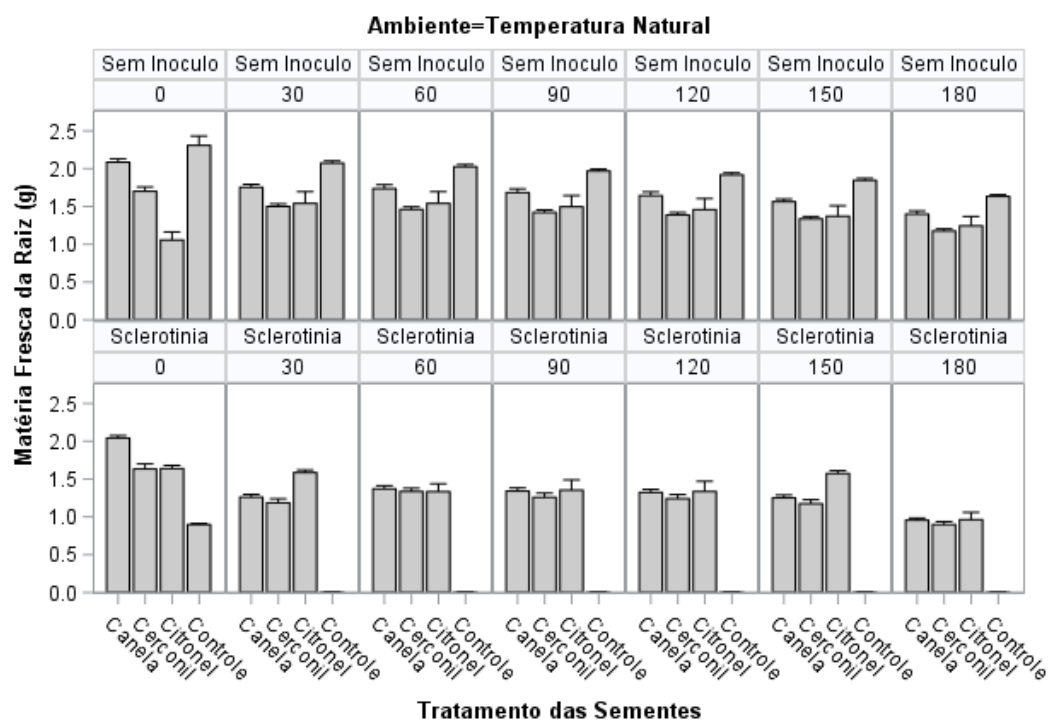


Figura 34 – Massa fresca da raiz (g) de feijão comum, cultivar Carioca Precoc, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *S. sclerotiorum*.

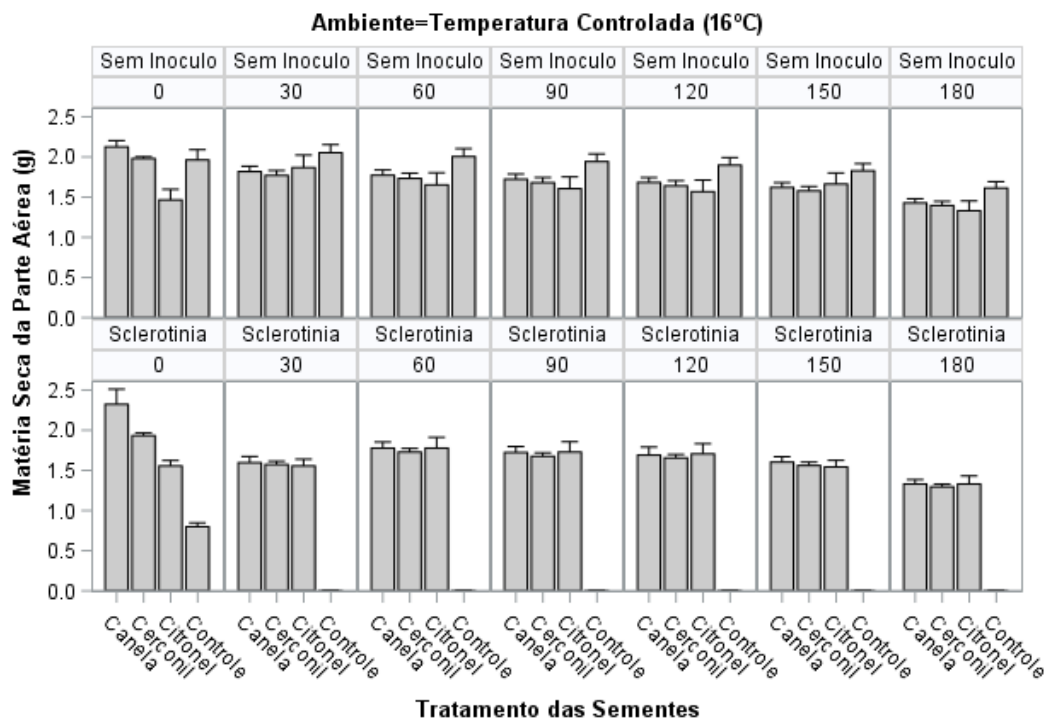


Figura 35 – Massa seca da parte aérea (g) de feijão comum, cultivar Carioca Precoc, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16 °C), para o fungo *S. sclerotiorum*.

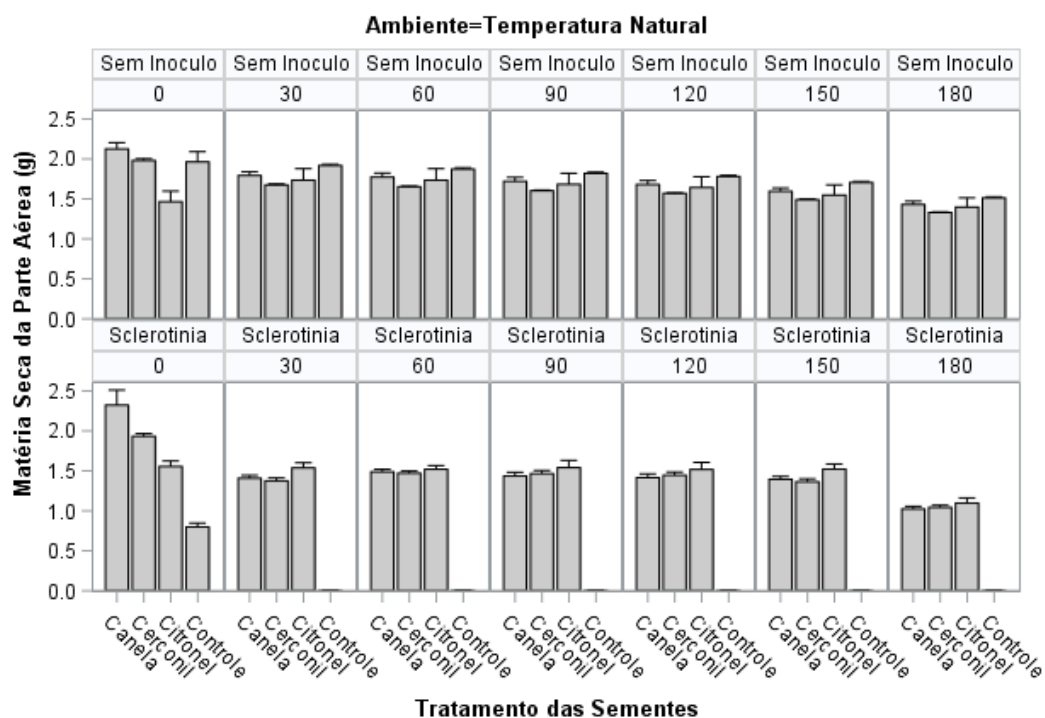


Figura 36 – Massa seca da parte aérea (g) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *S. sclerotiorum*.

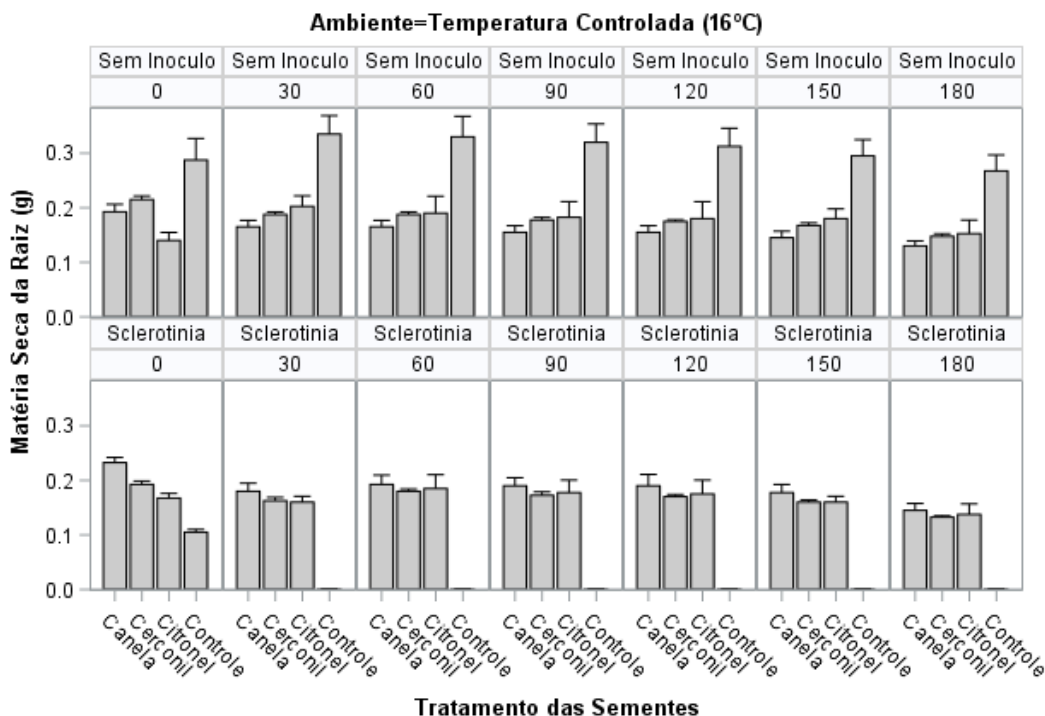


Figura 37 – Massa seca da raiz (g) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura controlada (16 °C), para o fungo *S. sclerotiorum*.

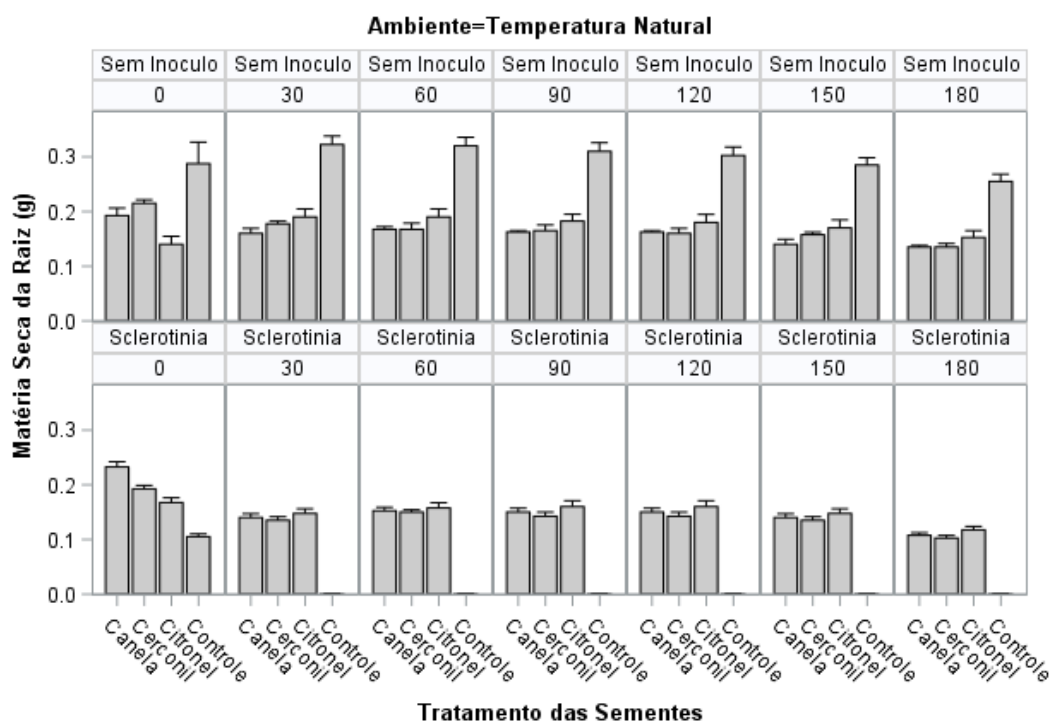


Figura 38 – Massa seca da raiz (g) de feijão comum, cultivar Carioca Precoce, submetida à aplicação dos produtos, nos diferentes tempos de armazenamento, em temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), para o fungo *S. sclerotiorum*.

Houve maior incidência de *S. sclerotiorum* para a temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C), tanto nas amostras inoculadas quanto nas não inoculadas. (Figura 19 e 20). A partir dos 120 dias houve uma baixa incidência da ocorrência do fungo nas amostras não inoculadas. Nas amostras inoculadas, não houve diferença entre os óleos essenciais de canela e citronela e o fungicida comercial Cerconil®, em todas as épocas de armazenamento, tanto para temperatura controlada (16°C), quanto para a temperatura ambiente natural (25 ± 2 °C) (Figura 39 e 40).

plantas de feijão, atingindo o valor máximo de incidência de 25% (WAFAN et al., 2014). Vieira et al. (2001) utilizando os fungicidas e doses do ingrediente ativo por hectare: benomyl (1 kg), iprodione (0,75 kg), procimidone (0,5 kg) e fluazinam (0,5 L), obtiveram valores de incidência (%) de: 18; 22,2; 16,2; 18; 18,2; 22,2; respectivamente, após 95 dias da emergência das plântulas. Em batata, o cinamaldeído, composto majoritário do óleo de canela induziu o gene glutathione S-transferase (GST)-like no fungo *S. sclerotiorum*, e essa indução do gene GST evitou que os tecidos das plantas fossem danificados, o que permitiu o crescimento delas (OJAGHIAN et al., 2015).

O tratamento das sementes de feijão com óleo essencial de canela na dose de 1,6 mL L⁻¹, visando ao controle dos fungos *Aspegillus* e *S. sclerotiorum*, em sistemas de cultivos sustentáveis ou em locais onde há impossibilidade do armazenamento de sementes de feijão em ambiente desfavorável aos patógenos, pode ser utilizado para oferecer proteção a emergência e desenvolvimento inicial das plântulas no campo.

5.4 CONCLUSÕES

Os óleos essenciais de canela e citronela causam fitotoxidez nas sementes não inoculadas com os fungos *Aspegillus* sp. e *S. sclerotiorum*.

O óleo essencial de citronela causa fitotoxidez nas sementes inoculadas com os fungos *Aspegillus* sp. e *S. sclerotiorum*.

O óleo essencial de canela não causa fitotoxidez nas sementes inoculadas com os fungos *Aspegillus* sp. e *S. sclerotiorum*.

O óleo essencial de canela na dose de 1,6 mL L⁻¹ controla os fungos *Aspegillus* e *S. sclerotiorum* em sementes de feijão.

Há atraso da ocorrência e baixa incidência dos fungos *Aspegillus* sp. e *S. sclerotiorum* nas sementes de feijão armazenadas em temperatura controlada (16°C).

O tratamento das sementes de feijão com o óleo essencial de canela na dose de 1,6 mL L⁻¹, e inoculadas com os fungos *Aspegillus* sp. e *S. sclerotiorum*, mantém a viabilidade das sementes durante todas as épocas de armazenamento, independente dos dois ambientes.

5.5 REFERÊNCIAS

ANDRADE, E.T.; CORRÊA, P.C.; TEIXEIRA, L.P.; PEREIRA, R.G.; CALOMENTI, J.F. Cinética da secagem e qualidade de sementes de feijão. **Engevista**, v. 8, n. 2, p. 83-95, 2006.

AMADI, J.E.; ADENIYI, D.O. Mycotoxin production by fungi isolated from stored grains. **African Journal of Biotechnology**, v.8, n.7, p.1219-1221, 2009.

ANDRADE, E.T.; CORRÊA, P.C.; TEIXEIRA, L.P.; PEREIRA, R.G.; CALOMENTI, J.F. Cinética da secagem e qualidade de sementes de feijão. **Engevista**, v. 8, n. 2, p. 83-95, 2006.

BAKER, K.F.; SMITH, S.H. Dynamics of seed transmission of plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v.4, p.311–334, 1966.

BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 3 ed. Minneapolis, Burgess, 1972. 241p.

BENINCASA, M.M.P. Análise de crescimento de plantas (noções básicas). 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41p.

BOLAND, G.J.; HALL, R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v.16, n.2, p. 247–252, 1994.

BOTELHO, L.S.; ZANCAN, W.L.A.; MACHADO, J.C.; BARROCAS, E.N. Performance of common bean seeds infected by the fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. **Journal of Seed Science**, v.35, n.2, p.153-160, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399p.

CHOU, S.U., KIM, Y.M., LEE, J.C., Herbicidal potential and qualification of causative allelochemicals from several compositae weeds. **Weed Research**, 43, 444–450, 2003.

COSTA, D. S.; BONASSA, N.; NOVEMBRE, A. D. L. C. Incidence of storage fungi and hydropriming on soybean seeds. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 1, p. 35-41, 2013.

DI PASQUA, R.; BETTS, G.; HOSKINS, N.; EDWARDS, M.; ERCOLINI, D.; MAURIELLO, G. Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential

oils. J. Agric. Food Chem. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, n.12, p.4863–4870, 2007.

FRANCISCO, F.G.; USBERTI, R. Seed health of common bean stored at constant moisture and temperature. **Scientia Agricola**, v..65, n.6, p.613-619, 2008.

HILLEN, T; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; MESQUINI, R.M.; CRUZ, M.E.S.; STANGARLIN, J.R.; NOZAKI, M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicos in vitro e no tratamento de sementes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.14, n. 3, p. 439-445, 2012.

JAVAID, A.; SHOAIB, A. Allelopathy for the Management of Phytopathogens. In: CHEEMA Z.; FAROOQ M.; WAHID A. (eds) **Allelopathy**. Springer, Berlin, Heidelberg. 2013. 299-319p.

JIANG, Z.; JIANG, H.; XIE, P. Antifungal activities against *Sclerotinia sclerotiorum* by *Cinnamomum cassia* oil and its main components, **Journal of Essential Oil Research**, v. 25, n.6, p.444-451, 2013.

KRISHNAMURTHY, Y.L.; SHASHIKALA, J; NAIK, B.S. Antifungal Potential of Some Natural Products gainst *Aspergillus flavus* in Soybean Seeds during Storage. **Journal of Stored Products Research**, v.44, n.4, p.305–309, 2008.

KUMAR, R.; DUBEY, N.K.; TIWARI, O.P.; TRIPATHI, Y.B.; SINHA, K.K. Evaluations of some essential oils as botanical fungitoxicants for the protection of stores food commodities from infestation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.87, n.9, p.1737-1742, 2007.

LITTELL, R. C., MILLIKEN, G. A., STROUP, W. W., WOLFINGER, R. D., AND SCHABENBERGER, O. **SAS System for Mixed Models**. SAS Institute, Cary, NC. 2006.

LIU, C.H.; MISHRA, A.K.; TAN, R.X.; TANG, C.; YANG, H.; SHEN, Y.F. Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean. **Bioresource Technology**, v. 97, Issue 15, p. 1969-1973, 2006.

MACHADO, J. C.; OLIVEIRA, J. A.; VIEIRA, M. G. G. C.; ALVES, M. C. Use of the water restriction technique in the inoculation of fungi in cotton seeds (*Gossypiumhirsutum*). **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.1, p.62-67, 2004.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seeding emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, p.176-177, 1962.

MILLS, J.T.; WOODS, S.M. Factors affecting storage life of farm-stored field peas (*Pisum sativum* L.) and white beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Stored Products Research**, v. 30, n. 3, p.215-226, 1994.

MUELLER, D.S., DORRANCE, A.E.; DERKSEN, R.C.; OZKAN, E.; KURLE, J.E.; GRAU, C.R.; GASKA, J.M.; HARTMAN, G.L.; BRADLEY, C.A.; PEDERSEN, W.L. Efficacy of fungicides on *Sclerotinia sclerotiorum* and their potential for control of Sclerotinia stem rot on soybean. **Plant Disease**, v.86, n.1, p.26-31. 2002.

MUELLER, D.S.; HARTMAN, G.L.; PEDERSEN, W.L. Development of sclerotia and apothecia of *Sclerotinia sclerotiorum* from infected soybean seed and its control by fungicide seed treatment. **Plant Disease**, v.83, n.12, p.1113-1115, 1999.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: The MacMillan Press,. v.1, 839p. 1979

NEGRELLE, R.R.B; GOMES E.C. *Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf: chemical composition and biological activities. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, n.1, p.80-92, 2007.

NOVEMBRE, A. D.L.C.; MARCOS FILHO, J. Tratamento fungicida e conservação de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.. 13, n. 2, p. 105-113, 1991.

OJAGHIAN, M.R.; SUN, X.; ZHANG, L.; LI, X.; XIE, G.; ZHANG, J.; WANG, L. Effect of E-cinnamaldehyde against *Sclerotinia sclerotiorum* on potato and induction of glutathione S-transferase genes. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v.91, p. 66-71, 2015.

OOTANI, M. A.; RAIMUNDO, A.W.S.; RAMOS, A.C.C.; BRITO, D.R.; SILVA, J.B.; CAJAZEIRA, J.P. Use of Essential Oils in Agriculture. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.4, n.2: p. 162-175, 2013.

PAWAR, V.C.; THAKER, V.S. In vitro efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. **Mycoses**, v.49, n.4, p. 316-323, 2006.

PEREIRA, E.L.; BARROS, C.S.; ROSSETTO, C.A.V. Contamination of peanut seeds inoculated with *Aspergillus* section *Flavi* affected by genotype, cultivation area and isolate. **Ciência e Agrotecnologia**, vol.34, n.4, pp.853-859. 2010.

PERRONE, G., SUSCA A., COZZI, G., EHRLICH, K.; VARGA, J.; FRISVAD, J. C.; MEIJER, M.; NOONIM, P.; MAHAKARRNCHANAKUL, W. AND SAMSON, R. A. Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. **Studies in Mycology**, v. 59, p.53-66, 2007.

PRAKASH, B.; SINGH, P.; YADAV, S.; SINGH, S.C.; DUBEY, N.K. Safety profile assessment and efficacy of chemically characterized *Cinnamomum glaucescens* essential oil against storage fungi, insect, aflatoxin secretion and as antioxidant. **Food and Chemical Toxicology**, v. 53, n.3, p.160–167, 2013.

REIS, G.F. DOS; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L.; HIRATA, L.M.; PONTIM, B.C.A. Viability of storage of soybean seeds inoculated with *Sclerotinia sclerotiorum* in medium with water restriction. **Summa Phytopathologica**, v.40, n.2, p.168-173, 2014.

ROCHA, F. S.; CATÃO, H. C. R. M.; BRANDÃO, A. A.; GOMES, L. A. A. Danos causados por diferentes potenciais de inóculo de *Aspergillus ochraceus* no vigor de sementes de soja. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 35, n. 6, p. 2895-2904, 2014.

ROSSI, G.B.; VALENTIM-NETO P.A.; BLANK M.; FARIA, J.C.; ARISI, A.C.M. Comparison of Grain Proteome Profiles of Four Brazilian Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n.35, p.7588–7597, 2017.

SILVA, D.M.M.H.; BASTOS, C.N. Atividade Antifúngica de Óleos Essenciais de Espécies de Piper Sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, n. 2, p. 143-145, 2007.

SILVA, M.A.D. da; SILVA, W.R.; Comportamento de fungos e de sementes de feijoeiro durante o teste de envelhecimento artificial. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasilia, v.35, n.3, p.599-608, mar. 2000.

TIAN, J; HUANG, B; LUO, X; ZENG, H; BAN, X; WANG, Y. The control of *Aspergillus flavus* with *Cinnamomum jensenianum* Hand.Mazz essential oil and its potential use as a food preservative. **Food Chemistry**, v.130, n.3, p.520-527, 2012.

TU, J.C. The role of white mold-infected white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds in the dissemination of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. **Journal of Phytopathology**, v.121, n.1, p.40-50, 1988.

VENTUROSOS, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W.L.; VENTUROSOS, L. A. C.; PONTIM, B. C.A.; REIS, G. F. Inoculação de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de oleaginosas: transmissão e seus efeitos sobre a emergência de plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n.5, p. 788-793, 2015.

VIEIRA, R. F.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PERES, Â. P.; MACHADO, J. C. Fungicidas aplicados via água de irrigação no controle do mofo-branco no feijoeiro e incidência do patógeno na semente. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, n.4, p. 770-773, 2001.

VOKOU, D., DOUVLI, P., BLIONIS, G.J., HALLEY, J.M., Effects of monoterpenoids, acting alone or in pairs, on seed germination and subsequent seedling growth. **Journal of Chemical Ecology**, v.29, n.10, p. 2281–2301, 2003.

YUN, K.W., CHOI, S.K., Mycorrhizal colonization and plant growth affected by aqueous extract of *Artemisia princeps* var. *orientalis* and two phenolic compounds. **Journal of Chemical Ecology**, v.28, p. 253–262, 2002.

WAFAR, A. AL-TAISAN; ALI H. BAHKALI; ABDALLAH M. ELGORBAN; MOHAMED A. EI-METWALLY. Effective Influence of Essential Oils and Microelements against *Sclerotinia sclerotiorum*. **International Journal of Pharmacology**, v.10, n.5, p.275-281, 2014.

WINHAM, D.M; HUTCHINS, A.M.; THOMPSON, S.V.; DOUGHERTY, M.K. Arizona Registered Dietitians Show Gaps in Knowledge of Bean Health Benefits. **Nutrients**, v.52, n.10, p. 1-12, 2018.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os óleos essenciais de canela e citronela controlam *in vitro* os fungos *Aspergillus* sp. e *S. sclerotiorum*, sendo recomendada a dose de 1,6 mL L⁻¹, de ambos os óleos.

Os óleos essenciais de canela e citronela causam fitotoxidez nas sementes não inoculadas com os fungos *Aspegillus* sp. e *S. sclerotiorum*.

O óleo essencial de citronela causa fitotoxidez nas sementes inoculadas com os fungos *Aspegillus* sp. e *S. sclerotiorum*.

O óleo essencial de canela não causa fitotoxidez nas sementes inoculadas com os fungos *Aspegillus* sp. e *S. sclerotiorum*.

O óleo essencial de canela na dose de 1,6 mL L⁻¹ controla os fungos *Aspegillus* e *S. sclerotiorum* em sementes de feijão.

Há atraso na ocorrência e baixa incidência dos fungos *Aspegillus* sp. e *S. sclerotiorum* nas sementes de feijão armazenadas em temperatura controlada (16 °C).

O tratamento de sementes de feijão com o óleo essencial de canela na dose de 1,6 mL L⁻¹, e inoculadas com os fungos *Aspegillus* sp. e *S. sclerotiorum* mantém a viabilidade das sementes durante 180 dias de armazenamento, independente do ambiente de armazenamento.

O tratamento das sementes de feijão com óleo essencial de canela na dose de 1,6 mL L⁻¹, visando ao controle dos fungos *Aspegillus* e *S. sclerotiorum*, em sistemas de cultivos sustentáveis ou em locais onde há impossibilidade do armazenamento de sementes de feijão em ambiente desfavorável aos patógenos, pode ser utilizado para proporcionar proteção a emergência e desenvolvimento inicial das plântulas no campo.