

JOÃO PAULO COSTA

**ESTUDO DO POTENCIAL BIOESTIMULANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE
CRAVO DA ÍNDIA NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Geraldo Humberto Silva

Coorientadores: Willian Rodrigues Macedo
Fabrícia Queiroz Mendes

RIO PARANAÍBA – MINAS GERAIS

2023

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da Universidade Federal
de Viçosa - Campus Rio Paranaíba**

T

C837e
2023 Costa, João Paulo, 1994-
Estudo do potencial bioestimulante do óleo essencial de
cravo da índia no tratamento de sementes de soja / João Paulo
Costa. – Rio Paranaíba, MG, 2023.
35 f.: il. (algumas color.).

Orientador: Geraldo Humberto Silva.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa -
Campus Rio Paranaíba, Instituto de Ciências Agrárias, 2023.
Inclui bibliografia.
DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvcrp.2024.001>

1. *Glycine max*. 2. *Syzygium aromaticum*.
3. bioestimulante. I. Silva, Geraldo Humberto, 1969-.
II. Universidade Federal de Viçosa - Campus Rio Paranaíba.
Instituto de Ciências Agrárias. Mestrado em Agronomia
(Produção Vegetal). III. Título.

633.34

JOÃO PAULO COSTA

**ESTUDO DO POTENCIAL BIOESTIMULANTE DO ÓLEOS ESSENCIAL DE
CRAVO DA ÍNDIA NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE SOJA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 05 de dezembro de 2023.

Assentimento:



Documento assinado digitalmente

JOAO PAULO COSTA

Data: 29/02/2024 19:41:54-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

João Paulo Costa
Autor



Documento assinado digitalmente

GERALDO HUMBERTO SILVA

Data: 20/02/2024 16:58:25-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Geraldo Humberto Silva
Orientador

Dedico esta dissertação a meus pais João Batista (*in memoriam*) e Regina, que fizeram de tudo para que eu alcançasse meus objetivos e sempre me apoiaram e incentivaram.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela oportunidade de alcançar o conhecimento por meio dos meus estudos e por todas as coisas boas que Ele me permitiu alcançar.

Agradeço a minha família, em especial aos meus pais João Batista (*in memoriam*) e Regina pela compreensão e apoio, me ajudando nos momentos mais difíceis. Obrigado por sempre desejarem o melhor para mim, pelo esforço feito por vocês para que eu pudesse superar cada obstáculo em meu caminho e chegar aqui.

Ao meu companheiro de vida Thiago, a minha gratidão por sempre se fazer presente e sempre me ajudar constantemente a superar obstáculos com tranquilidade e paciência. A todos os meus amigos que sempre compreenderam minha ausência, e que tiveram toda paciência, atenção e força para me motivar constantemente. Para não correr o risco de não enumerar algum não irei identificá-los, aqueles a quem este agradecimento se dirige saberão. Desde já os meus agradecimentos.

Minha gratidão ao meu orientador prof. Dr. Geraldo, pelo grande profissional que esteve presente durante toda essa jornada. Obrigado por me acolher como seu orientando, me apoiando e auxiliando da melhor forma possível, o meu muito obrigado por sempre ter se empenhado e me corrigido, me motivando mais a cada dia com todos os seus ensinamentos.

Aos profs. Dr. Willian e Dra. Fabrícia, pela coorientação do trabalho, por toda a paciência, suporte, cada ensinamento e incentivo que me foi dado, e isso foi essencial.

Aos professores do Centro Universitário de Patos de Minas, em especial Dra. Gabriella, Dra. Karla e Me. Lucas por todo o suporte que me deram para que eu alcançasse os meus objetivos desde o início da minha trajetória acadêmica.

Desejo agradecer a todos os meus colegas e amigos que fiz no Mestrado em Agronomia, em especial a Vanessa Oliveira, Monique, Leticia e Maria Tereza, cuja amizade e apoio estiveram presentes em todas as circunstâncias.

À Universidade Federal de Viçosa, pelo suporte de infraestrutura e laboratórios.

Aos professores e demais colaboradores do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal de Viçosa - campus Rio Paranaíba, pelos esforços em prol da pesquisa e do crescimento acadêmico de cada um dos discentes.

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

RESUMO

COSTA, João Paulo, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2023. **Estudo do potencial bioestimulante do óleo essencial de cravo da índia no tratamento de sementes de soja.** Orientador: Geraldo Humberto Silva. Coorientadores: Willian Rodrigues Macêdo e Fabrícia Queiroz Mendes.

A soja é um alimento de alto valor nutritivo, que possui grande demanda no mercado mundial. Assim o aumento da produção da cultura é uma forma de contribuir com a segurança alimentar mundial. Uma alternativa para incrementar a produtividade da soja é o tratamento de sementes com bioestimulante, produtos que podem conferir proteção contra estresses bióticos e abióticos, desta forma auxiliando as plantas a expressarem seu máximo potencial genético. O óleo essencial de cravo (OEC) que apresenta diversas biológicas e alguns relatos de ação sobre a fisiologia sementes foi avaliado como bioestimulante no tratamento de sementes soja. Soluções entre 0,5 e 3,0 mL/L de OEC dissolvido em óleo de soja foram aplicadas as sementes de soja na dose de 40 mL/Kg e avaliadas em teste de germinação. O OEC a 1,6 mL/L foi avaliado em teste de sanidade sementes e em experimentos de campo nas safras, e na safra de 2019/2020 além dos parâmetros biométricos e de produtividade também avaliou o efeito nas trocas gasosas e na metabolômica da planta. O OEC a 1,6 mL/L apresentou resultados positivo para germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento de raiz e número de raízes secundária, além de reduzir a porcentagem de infecção por fungos. Na safra de 2019/2020 houve um ganho significativo na produção de soja em comparação aos controles tratamento industrial e óleo de soja, já na safra 2021/2022 não se observou ganhos na produção em relação aos controles. O tratamento com OEC a 1,6 mL/L não afetou significativamente os parâmetros de trocas gasosas com 38 dias após semeadura DAS, mesmo tendo apresentado diferença significativa em 15 metabólitos entre os tratamentos. Análise discriminante de mínimos quadrados parciais (PLS-DA) mostrou que componente principal explica 86,1% da variância total e permitiu separar em dois grupos, um formado pelo tratamento industrial e outro pelo óleo de soja e OEC, este apresentando maiores teores de carboidratos e aminoácidos, metabólitos produzidos como resposta das plantas as condições de estresse.

Palavras-chave: *Glycine max*; *Syzygium aromaticum*; bioestimulante; eugenol.

ABSTRACT

COSTA, João Paulo, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, March 2023. **Study of the biostimulant potential of clove essential oil in the treatment of soybean seeds.** Adviser: Geraldo Humberto Silva. Co-advisers: Willian Rodrigues Macêdo and Fabrícia Queiroz Mendes.

Soy is a food with high nutritional value and high market demand worldwide. Therefore, increasing crop production is a way of contributing to global food security. An alternative to increasing soybean productivity is the treatment of seeds with biostimulants, products that can protect against biotic and abiotic stresses, thus helping plants express their maximum genetic potential. Clove essential oil (OEC), which has several biological substances and some reports of action on seed physiology, was evaluated as a biostimulant in the treatment of soybean seeds. Solutions between 0.5 and 3.0 mL/L of OEC diluted in soybean oil were applied to soybean seeds at a dose of 40 mL/Kg and evaluated in a germination test. The OEC at 1.6 mL/L was evaluated in seed health tests and field experiments in harvests. In the 2019/2020 harvest, the effect on gas exchange and plant metabolomics was also evaluated in addition to biometric and productivity parameters. The OEC at 1.6 mL/L showed positive results for germination, germination speed index, root length, and number of secondary roots, in addition to reducing the percentage of fungal infection. In the 2019/2020 harvest, there was a significant gain in soybean production compared to industrial treatment and soybean oil controls, while in the 2021/2022 harvest, there were no gains in production compared to controls. Treatment with OEC at 1.6 mL/L in the 2019/2020 harvest did not significantly affect gas exchange intervals 38 days after the seeding (DAS), although as leaves showed a significant difference ($p < 0.05$) between treatments in 15 metabolites. Partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) showed that the main component explained 86.1% of the total variance and allowed the separation into two groups, one formed by industrial treatment and the other by soybean oil and OEC, the latter presenting more significant carbohydrate and amino acid content, metabolites produced as a response by plants to stress conditions.

Keywords: *Glycine max*; *Syzygium aromaticum*; phytotoxicity; eugenol.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	MATERIAL E MÉTODOS	11
2.1	Análise da composição química do óleo essencial de cravo	12
2.2	Avaliação do efeito bioestimulante do óleo essencial de cravo	12
2.3	Teste de sanidade.....	13
2.4	Avaliação do efeito bioestimulante do OEC aplicado as sementes de soja em experimentos de campo, safra 2019/2020 e 2021/2022	14
2.5	Análise biométrica, trocas gasosas foliares.	14
2.6	Extração de metabólitos para análise por GC-MS	14
2.7	Análise metabolômica não direcionada baseada em GC-MS.....	15
2.8	Processamento de dados GC-MS	16
3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	16
4	RESULTADOS.....	16
4.1	Análise da composição química do óleo essencial de cravo	16
4.2	Preparo do OEC formulado e aplicação as sementes	17
4.3	Teste de sanidade.....	19
4.4	Influência do tratamento de sementes de soja com OEC na cultura da soja em experimentos de campo nas safras de 2019/2020 e 2021/2022.	20
4.5	Experimento de campo safra 2019/2020	20
4.5.1	Experimento de campo 2021/2022	21
4.5.2	Comparação entre os experimentos de campo nas safras de 2019/2020 e 2021/2022	22
4.6	Avaliação do efeito do tratamento com OEC nas trocas gasosas e metabolômicas das plantas de soja.	22
4.6.1	Trocas gasosas.....	22
4.6.2	Análise metabólica das plantas da safra 2019/2020.....	23
5	CONCLUSÃO	25
6	REFERÊNCIAS.....	26

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L. Merrill) atualmente se destaca como a oleaginosa de maior importância mundial. Seus grãos não apenas apresentam elevado potencial nutritivo e industrial, mas também demonstram ser uma espécie facilmente adaptável a diferentes tipos de solos e condições climáticas (PECCINELLI, 2022; JULIATTI; POLIZEL; JULIATTI, 2004). Na safra 2020/21, o Brasil consolidou sua posição como principal produtor global de soja, atingindo a marca de 135.409 milhões de toneladas em uma área total de 38.502 milhões de hectares (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB), 2021). No que diz respeito às exportações, o Brasil também liderou, registrando o envio de 86,63 milhões de toneladas de soja (CNN BRASIL, 2022).

A produtividade da soja está diretamente vinculada à implementação de práticas adequadas de manejo, à utilização de tecnologias avançadas e à adoção de sementes de alta qualidade. Sementes consideradas de qualidade destacam-se pela sua boa sanidade, pureza física e genética, além de apresentarem um elevado potencial fisiológico. Este último aspecto está intimamente ligado à capacidade de germinação, vigor e longevidade das sementes (ALVES, 2022; SILVA, 2013). Bakhshandeh e Gholamhossieni (2018) destacam a importância crucial da germinação e da emergência de plântulas, que representam as fases iniciais do desenvolvimento da cultura, para o estabelecimento bem-sucedido da lavoura. Segundo Marcos Filho (2005), a baixa qualidade fisiológica das sementes resulta na redução da população de plantas, acarretando prejuízos econômicos significativos.

O desempenho fisiológico das sementes pode ser otimizado por meio do tratamento de sementes, que envolve a aplicação de produtos contendo substâncias inseticidas, fungicidas e bioestimulantes, podendo ser de origem sintética ou natural. Além disso, a utilização de produtos biológicos, inoculantes e nutrientes contribui para preservar ou melhorar o desempenho das sementes. Essa abordagem favorece a emergência e cria condições mais propícias para o desenvolvimento das plântulas, possibilitando a expressão plena do potencial genético da cultura (AVELAR et al., 2011; TRAFANE, 2014; PICCININ et al., 2013; LUDWIG et al., 2015; DAN et al., 2010; SANTANA et al., 2022).

Contudo, apesar da contribuição significativa para a produção da cultura, o tratamento de sementes com agentes químicos sintéticos pode causar distúrbios ambientais, tais como a seleção de patógenos resistentes, a liberação de pragas secundárias e a contaminação do solo e das águas subterrâneas (SOYLU; KURT; SOYLU, 2010). Além disso, a crescente preocupação da população em consumir alimentos mais saudáveis e produzidos de maneira ambientalmente consciente torna questionável o uso de produtos químicos (NUNES, 2015).

Diante desse cenário, métodos sustentáveis, como o emprego de produtos naturais, ganham destaque, incluindo os óleos essenciais (BORGES, 2007). Alguns desses óleos já são aplicados na agricultura como fungicidas, bactericidas, inseticidas e estimulantes, uma vez que contêm metabólitos capazes de influenciar a germinação e a polinização (KNAAK e FUIZA, 2010). As principais vantagens do uso de óleos essenciais como alternativa aos produtos químicos incluem baixa probabilidade de seleção ou geração de patógenos resistentes, rápida manipulação no ambiente, baixa toxicidade, obtenção de recursos renováveis e amplo espectro de ação (MACHADO, 2019).

Dentre os diversos produtos empregados no tratamento de sementes, os bioestimulantes se destacam como inovações promissoras e ecologicamente sustentáveis. Esses agentes foram reconhecidos por sua capacidade de aprimoramento e eficiência na utilização de nutrientes, ao mesmo tempo em que melhoram a tolerância das plantas a diversos tipos de estresses. Essa abordagem contribui significativamente para que as sementes expressem todo o seu potencial genético, resultando em um aumento substancial na produtividade da cultura, conforme evidenciado por Lagzian et al. (2013), Fathi et al. (2021a, b), Toledo et al. (2011) e Viganó et al. (2010).

As moléculas bioativas presentes nos bioestimulantes desempenham um papel crucial ao aumentar a capacidade das plantas de enfrentar condições climáticas adversas, influenciando tanto o metabolismo primário quanto o secundário, como apontado por Bulgari et al. (2019) e Teklić et al. (2021). Entretanto, é importante notar que, apesar dos benefícios obtidos, o mercado oferece uma quantidade limitada de produtos bioestimulantes, e ainda há lacunas no entendimento dos efeitos desses produtos na produtividade de grãos e na fisiologia das plantas, conforme salientado por Ferreira et al. (2007) e Aguayo et al. (2015).

O óleo essencial de cravo (OEC) surge como uma alternativa promissora no desenvolvimento de novos bioestimulantes para o tratamento de sementes. Este óleo tem sido utilizado há séculos por indianos, chineses e egípcios para diversas específicas, dadas suas propriedades antioxidantes, inseticidas, antimicrobianas, anestésicos, anti inflamatórios e antissépticos (SILVESTRI et al., 2010; MANON, 2002; ASCENSÃO et al., 2013; OLIVEIRA, 2011).

O OEC pode ser extraído de folhas, galhos e talos (ALMA et al., 2007), constituindo uma mistura de metabólitos, principalmente eugenol (70-90%), acetato de eugenol e β -cariofileno (5-15%), α -humuleno (até 2,1%). O eugenol, componente predominante no óleo essencial de cravo, desempenha um papel crucial nas interações entre as plantas. No entanto, a compreensão do efeito desse composto nas plantas requer uma abordagem equilibrada, reconhecendo que, em altas quantidades, pode ser maléfico, enquanto em menores quantidades, revela-se benéfico. (CORTES-ROJAS; SOUZA; OLIVEIRA, 2014; RAZAFIMAMONJISON et al., 2013).

Santos e cols. (2011) constataram que o tratamento de sementes de fava com OEC proporciona ganhos na qualidade fisiológica das sementes, além de promover o controle

do caruncho do feijão. Em seu estudo, Santos (2018) concluiu que, na concentração de 0,25%, o óleo essencial de cravo influencia positivamente a germinação de sementes de feijão. Por sua vez, Nascimento et al. (2020) utilizaram o óleo essencial de cravo no tratamento de sementes de pimentão com o objetivo de reduzir a incidência de fungos. Esses autores constataram que, além da ação fungicida, o óleo de cravo não afetava a qualidade fisiológica das sementes.

Bioestimulantes podem afetar os processos fisiológicos relacionados e germinação e emergência das plantas, desta forma é fundamental aplicar a dose correta e distribuída de forma uniforme sobre todas as sementes do lote (AVELAR et al., 2011; FRANÇA NETO et al., 2015; TRAFANE, 2014). Desta forma é fundamental avaliar a qualidade fisiológica das sementes tratadas com bioestimulantes realizando experimentos para avaliar a germinação e emergência, de modo a otimizar as doses e modo de aplicação (BARROS et al., 2002; Frare, 2019; BORGES, 2019).

Portanto, o propósito deste estudo consistiu em avaliar a eficácia do OEC em diferentes concentrações, tanto na germinação quanto na emergência de sementes de soja, considerando condições de laboratório e campo. Os resultados obtidos nesta pesquisa têm o potencial de contribuir para o desenvolvimento de um produto destinado ao tratamento de sementes de soja com índices de produção baixos. Essas sementes, que poderiam ser previamente descartadas, podem se transformar em novas fontes de produtividade, promovendo um método com menor toxicidade se comparado aos produtos atualmente disponíveis e utilizados na agricultura convencional e orgânica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi dividido em duas etapas: análise laboratorial e teste em campo. Na primeira etapa foram realizados testes para analisar a composição química do OEC e avaliar a fitotoxicidade do mesmo em sementes de soja. Estes foram feitos no Laboratório de Fisiologia e Metabolismo da Produção Vegetal e no Laboratório de Desenvolvimento de Agroquímicos Naturais - LDAN, ambos localizados na Universidade Federal de Viçosa (UFV) - *Campus* Rio Paranaíba – MG.

Na segunda etapa foi realizado o plantio em condições de campo nas safras de 2019/2020 e 2021/2022 para avaliar o potencial bioestimulante do tratamento de sementes de soja com óleo essencial de cravo dissolvido em óleos de soja (OEC 1,6 mL/L) sobre a emergência e produtividade da soja.

O experimento foi realizado na área experimental da COODAPAD – Cooperativa Agropecuária do Alto Paranaíba, localizada na cidade de São Gotardo – MG, nas condições de adubação e tratos fitossanitários adotados na fazenda em condições de sequeiro.

A cultivar utilizada no estudo, para os testes em laboratório foram duas, foi a cultivar da cultivar M5917-IPRO (Monsoy, Brasil), fornecidas pela Cooperativa

Agropecuária do Alto Paranaíba (COOPADAP). Para o experimento realizado na área experimental da Universidade Federal de Viçosa em 2022 foi utilizada também a cultivar TEC 7849.

2.1 Análise da composição química do óleo essencial de cravo

O OEC utilizado neste estudo foi adquirido da empresa Ferquima Indústria e Comércio LTDA. Para a análise da composição química do óleo, empregou-se a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM) no equipamento QP2010 (Shimadzu), sob as seguintes condições: uma coluna capilar de sílica fundida (30 cm de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno) com fase estacionária RTX®-5MS (0,25 µm de espessura do filme), e hélio como gás de atração com um fluxo de 1,0 mL por minuto. A temperatura do injetor foi mantida em 220°C, enquanto a temperatura inicial da coluna foi de 60°C, programada para aumentar 2°C por minuto até atingir 200°C e 5°C por minuto até 250°C.

Os espectros de massa foram obtidos por impacto de elétrons a 70 eV, com uma varredura de 29 a 400 (m/z), sendo injetados 1 µL da solução do óleo preparada na concentração de 10 mg/L, com uma razão de divisão de 1:20. A identificação dos compostos foi realizada por meio da comparação dos espectros de massa com os disponíveis no banco de dados da espectroteca NIST, pela interpretação visual dos espectros de massa e pela comparação dos índices de retenção com os índices aritméticos (AI), cálculos por meio da Equação 1.

Para o cálculo dos índices aritméticos, uma mistura de alcanos lineares (C9 a C17) foi injetada no cromatógrafo. O IA foi calculada para cada composto e comparada com os valores da literatura (ADAMS, 2007). O percentual relativo de cada composto foi determinado pela razão entre a área de cada pico e a área total de todos os constituintes da amostra.

2.2 Avaliação do efeito bioestimulante do óleo essencial de cravo

A avaliação do efeito bioestimulante do OEC foi realizada por meio do teste de germinação, utilizando sementes de soja (M5917-IPRO), conforme Normas para Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009a). Nessa etapa, foram avaliadas concentrações de OEC nas proporções de 0,5; 0,7; 1,0; 1,6; 2,0 e 3,0 mL/L, com água destilada e óleo de soja puro como controles. Inicialmente, as sementes foram higienizadas com hipoclorito de sódio (NaClO) na concentração de 1:1, por 10 minutos, garantindo a qualidade sanitária. Em seguida, as sementes foram secas sobre folhas de papel esterilizadas e, por último, submetidas aos tratamentos. Cada solução de OEC (0,5 a 3,0 mL/L) foi aplicada sobre as sementes na dose de 40 mL/Kg de semente de soja. Para isso, 2 mL de cada solução foram adicionados a um saco plástico junto com 50 g de sementes de soja, agitando-se até que a solução começasse a escorrer sobre elas.

Os testes de germinação foram montados em papel germitest®, previamente esterilizado em autoclave (Prismatec) por 15 minutos a uma pressão de 1,5 atm, e umedecidos com água destilada numa proporção de 2,5 vezes o seu peso seco. Cada rolo continha três folhas para garantir a umidade, e foram semeadas 50 sementes de soja em cada. Os ensaios foram realizados em câmara de germinação, a uma temperatura de 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas. A cada 24 horas, durante sete dias, foi verificada a taxa de germinação, registrando o número de plântulas que apresentavam protrusão de radícula. No sétimo dia, também foi contabilizado o número total de sementes germinadas para determinar a porcentagem de germinação, além da quantidade de sementes mortas e anormais.

Com os dados de sementes germinadas por dia, foi calculado o Índice de Velocidade de Germinação (IVG), utilizando a fórmula proposta por Maguire (1962). Ao final do teste, foram selecionadas aleatoriamente 10 plântulas de cada repetição por tratamento para avaliação dos parâmetros: comprimento radicular (CR), número de raízes secundárias (NRS), massa fresca (MFR) e massa seca (MSR) das raízes. O comprimento radicular foi medido com uma régua milimétrica, do início ao fim das raízes. O número de raízes secundárias foi contado, e a massa fresca foi obtida pesando-se o sistema radicular das plantas em uma balança de precisão. Em seguida, as raízes foram secas em uma estufa (Nova Instruments) a 65°C por 72 horas, e a massa seca foi determinada pesando novamente as raízes.

2.3 Teste de sanidade

A avaliação da sanidade das sementes de soja teve como propósito complementar o teste de germinação, objetivando também analisar o efeito bioestimulante do OEC. Nesse contexto, foi conduzido o teste de sanidade denominado "*Blotter test*", seguindo as orientações do Manual de Análise Sanitária de Sementes (BRASIL, 2009b). O experimento foi delineado em um arranjo fatorial 2x3, considerando dois tipos de sementes (sanitizadas e não sanitizadas) e três modos de tratamento (OEC 1,6 mL/L na dose de 40 mL/Kg de semente de soja, controle com água destilada e controle com óleo de soja puro), cada um replicado 16 vezes.

Cada repetição foi representada por uma caixa gerbox contendo 25 sementes, totalizando 400 sementes por tratamento. O teste foi estruturado em caixas gerbox, utilizando duas folhas de papel germitest®. Para inibir a germinação, foi adicionado 2,5 mL do herbicida 2,4-diclorofenoxiacetato de sódio (2,4-D) a uma concentração de 5 mg/L. Nos grupos de controle com água destilada, uma solução de ágar-água foi aplicada no papel germitest® para fixar as sementes, impedindo assim qualquer movimentação durante o período de incubação. Após, foram levadas a uma incubadora ajustada a 25°, com um fotoperíodo de 12 horas, ao longo de 10 dias. Após o período de incubação, procedeu-se à contagem do número de sementes contaminadas, identificadas pela presença de crescimento fúngico.

2.4 Avaliação do efeito bioestimulante do OEC aplicado as sementes de soja em experimentos de campo, safra 2019/2020 e 2021/2022

As sementes da cultivar M5917-IPRO (Monsoy, Brasil) de soja foram cultivadas em campo na cidade de São Gotardo – MG, Brasil, situadas nas coordenadas cartográficas (19° 15' 33" S e 46° 05' 28" W). As sementes foram submetidas a três tratamentos distintos: OEC a uma concentração de 1,6 mL/L (diluído em óleo de soja) na dose de 40 mL/kg de sementes; óleo de soja puro, também na dose de 40 mL/Kg de sementes; e um tratamento industrial que envolve o uso do fungicida tiametoxam (Cruiser®), do fungicida Nitragin® (Power), proteção com o polímero Incotec® e secagem com pó secante, além da inoculação com *B. elkanii* e *B. japonicum*. No experimento da safra 2021/2022 foi adicionado o tratamento controle absoluto, no qual as sementes foram semeadas sem nenhum tratamento. O delineamento experimental na safra de 2019/2020 utilizado foi o de Blocos Inteiramente Casualizados (DBC), com dois blocos e três repetições em cada. O experimento de 2021/2022 foi realizado em 5 blocos. O manejo cultural adotado seguiu as práticas adotadas na empresa.

Na safra de 2019/2020 as sementes de soja foram semeadas via semeadora marca New Holland com 5 linhas de plantio, em 25 de outubro de 2019 e a colheita foi realizada manualmente em 19 de março de 2020, completando um ciclo de 146 dias. Na safra de 2021/2022 as sementes foram semeadas utilizando carrinho de Plantio CP SB-15 em 5 novembro de 2021 e a colheita foi realizada em 09 de março de 22, completando um ciclo de 124 dias.

2.5 Análise biométrica, trocas gasosas foliares.

Aos 20 dias após o plantio (DAP) houve mensuração do percentual de emergência das plantas. Já as análises de trocas gasosas ocorreram aos 38 dias após o plantio DAP, no estádio fenológico V2 com auxílio de um analisador de trocas gasosas, modelo LI-6400 XT (Li-Cor Biosciences, USA), acoplado a um fluorômetro (6400-40), com densidade de fluxo de fótons de $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As análises de TGF foram compostas dos parâmetros: condutância estomática (Gs), transpiração (E), evapotranspiração (ETR), eficiência quântica do fotossistema 2 (PSII), taxa de fotossíntese líquida (A), eficiência intrínseca do uso da água (WUE i), eficiência instantânea do uso da água (WUE) e concentração interna de carbono (Ci). Esses parâmetros foram verificados sob uma radiação fotossinteticamente ativa (PAR) de $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ no nível foliar, sob condições ambientais de temperatura, concentração de dióxido de carbono (CO₂) e déficit de pressão de vapor (VPD).

2.6 Extração de metabólitos para análise por GC-MS

Cada repetição de todos os tratamentos consistiu em 3 folhas coletadas de plantas distintas. As folhas foram devidamente armazenadas em uma caixa térmica e

transportadas para o laboratório, onde foram imediatamente maceradas em nitrogênio líquido. Para a extração dos metabolitos, 10 mg das folhas maceradas foram pesados em tubos Eppendorf. Em seguida, adicionou-se 1 mL de metanol contendo 25 µg/mL de ribitol como padrão interno, agitando-se a mistura em vórtex por 5 segundos e procedendo à sonicação por 15 minutos. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 13.000 rpm por 15 minutos, e o sobrenadante foi transferido para um tubo. O procedimento de extração do resíduo foi repetido utilizando 1 mL de água, e os sobrenadantes foram combinados em um único frasco. A massa de folhas de soja extraída em cada repetição foi fisicamente normalizada pelo padrão interno.

Em seguida, foram transferidos 400 µL do volume da amostra para um frasco de vidro, e procedeu-se à secagem do solvente em um forno de recirculação de ar forçado a 40°C por 12 horas. As alíquotas secas foram submetidas à metoxilação em piridina, adicionando 50 µL de 15 mg/mL de cloridrato de metoxiamina, seguido da trimetilsilação com 50 µL de MSTFA (N-metil-N-(trimetilsilil) trifluoroacetamida) + 1% de reagente TMCS (triclorometilsilano).

Para o controle de qualidade (CQ), foram reunidas alíquotas de todas as amostras de folhas de soja, as quais foram processadas utilizando o mesmo procedimento das amostras experimentais. As amostras de CQ foram analisadas por GC-MS antes, durante e após as injeções das amostras, a fim de assegurar que a deriva instrumental fosse mantida em níveis mínimos.

2.7 Análise metabolômica não direcionada baseada em GC-MS

As amostras do extrato de folhas de soja derivatizadas foram analisadas via GC-MS utilizando um sistema de cromatografia acoplado a um espectrômetro de massa Shimadzu GCMS-QP2010 (Shimadzu, Kyoto, Japão). Foi utilizada uma coluna capilar RTX-5MS (30 m × 250 µm de diâmetro interno, 0,25 µm de espessura de filme; Restek, EUA). A separação cromatográfica foi realizada utilizando uma rampa de temperatura de aquecimento da coluna da seguinte forma; 80 °C por 2 min, com aumento de 5 °C / min até atingir 315 °C, e mantida nesta temperatura por 12 min. O gás de arraste utilizado foi o gás hélio, com fluxo constante de 1,0 ml/min. Injetou-se 1 µL da amostra derivatizada com uma razão de split de 15: 1. Os espectros de massas foram obtidos utilizando uma varredura entre massas de 50 a 650 m/z, no modo de varredura completa, com uma velocidade de varredura de 5 varreduras s⁻¹. A temperatura da interface foi de 280°C e a temperatura da fonte de íons de 280 e 240 °C. A voltagem do detector foi de 1,2 kV, e o modelo de impacto eletrônico (EI) com energia de ionização a 70 eV. Os índices de retenção (IA) foram obtidos injetando uma mistura de padrão de alcanos lineares de C9 a C30, os quais foram usados na identificação dos metabolitos das folhas.

2.8 Processamento de dados GC-MS

Os dados brutos obtidos na análise via GC-MS foram convertidos para o formato "abf" utilizando o software conversor ABF (<https://www.reifycs.com/AbfConverter/>). Os dados convertidos foram processados utilizando o software MS-DIAL (http://prime.psc.riken.jp/Metabolomics_Software/MS-DIAL/index.html) onde se realizou o alinhamento e deconvolução e identificação dos picos (Lai et al., 2018). Para tratamento dos dados utilizou os parâmetros de largura média do pico igual a 20 varreduras; com amplitude (altura mínima do pico) igual a 1000. Os parâmetros de deconvolução foram janela Sigma de igual a 0,5. Para identificação dos picos utilizou o índice de retenção RI inserido no Software via Arquivo MSP e comparação com o banco de dados FiehnLib (Kind et al., 2009), adotando tolerâncias de RI de 30, tempo de retenção (RT) de 0,5, massa/carga (m/z) de 0,5 e semelhança mínima de 70%.

3 Análise estatística

Os dados obtidos via o Software Ms-DIAL foram exportados para planilha txt, normalizados e submetidos a análises estatísticas e análise de vias metabólicas utilizando o Software de código aberto Metaboanalyst 4.0 (<http://www.metaboanalyst.ca>) um programa baseado no R e projetado para análise metabolômica (Chong et al. 2018). Os valores não presentes em 50% dos dados foram removidos da análise. Os valores ausentes foram substituídos por um pequeno valor (metade do valor positivo mínimo nos dados originais), e os dados foram relativos ao desvio padrão filtrado, soma normalizada, log2 transformado e dimensionado automaticamente.

Os metabólitos foram comparados (controles, óleo de soja e tratamento industrial versus tratamento com óleos de cravo diluído em óleo de soja) por meio do teste t de Student, e um mapa de calor de características significativamente diferentes foi gerado para identificar os metabólitos de agrupamento. O nível de significância considerado foi de $P < 0,05$. Para identificar as vias metabólicas alteradas pelo tratamento industrial de sementes, foram considerados cinquenta e oito potenciais biomarcadores identificados em *Arabidopsis thaliana*. Assim sendo realizado teste t de Student usando o MetaboAnalyst 4.0, com base na biblioteca de vias metabólicas KEGG.

4 RESULTADOS

4.1 Análise da composição química do óleo essencial de cravo

O OEC apresentou sete constituintes químicos, sendo cinco identificados, o que correspondeu a 99,55% do óleo essencial. A porcentagem de eugenol verificada foi de 76,18%, também foi identificado os constituintes (*E*)-cariofileno (19,9%), α -humuleno (2,26%) aromandendreno (0,19%) e acetato de eugenol (1,02%). Resultado muito semelhante aos obtidos por Silva, 2019 que trabalhou com o mesmo OEC. A porcentagem de eugenol obtida foi menor que a obtida por Scherer et al. (2009), que foi de (83,75%) e maior que a obtida por Gomes et al. (2018) que foi de (52,53%). As variações na

composição química de óleos essenciais podem ser atribuídas a influência do ambiente, como fatores ecológicos e as condições edafoclimáticas, além de fatores genéticos (YIN 1991; MORAIS 2009).

4.2 Preparo do OEC formulado e aplicação as sementes

As sementes tratadas com OEC, nas doses variando de 0,5 mL/L a 3,0 mL/L, apresentaram taxas de germinação entre 97,5% e 100%, como evidenciado na Tabela 1. Todas essas taxas foram significativamente distintas dos dois controles, superando inclusive os valores mínimos estipulados pelo MAPA. Santos (2014) obteve resultados semelhantes ao empregar emulsão de OEC em sementes de soja, através de uma imersão de 5 minutos, destacando que na concentração de 2,5 mL/L ou 0,25%, a taxa de germinação foi superior ao controle.

É crucial notar que, conforme Gonzalez, Medeiros e Sosa (2002) enfatizam, a concentração dos aleloquímicos exerce influência na resposta, podendo manifestar-se como um potencial bioestimulante ou alelopático. Neste sentido, de acordo com Nascimento (2015), doses elevadas de OEC podem ser potencialmente tóxicas, prejudicando a germinação de sementes de *Phaseolus lunatus* L. Desta forma o OEC diluído em óleo de soja, o qual não provocou alterações significativas na germinação e no vigor, permite preparar e aplicar as sementes diferentes soluções oleosas. Assim evitando a aplicação de altas doses, as quais segundo Affonso e col. 2012 podem apresentar efeito alelopático, devido a presença do metabolito eugenol. Desta forma, a etapa de formulação e otimização das concentrações foi primordial para promover ganhos na germinação e IVG e desenvolvimento de raiz nas sementes tratadas com OEC.

Adicionalmente, o experimento incluiu um grupo de sementes de soja sem tratamento como controle, as quais exibiram uma taxa de germinação de 83%, que atende as exigências das normas do MAPA (BRASIL, 2013)

Os resultados obtidos para o IVG (Tabela 1) a partir da concentração de 0,7 mL/L foi superior aos observados nos controles, sendo T6 (1,6 mL/L) o que propiciou melhor IVG para as sementes de soja tratadas. Santos (2014) não observou diferença no IVG para sementes de soja tratadas com emulsão de OEC por imersão de 5 minutos na concentração 2,5 mL/L ou (0,25 %), tal diferença pode ser justificada pelo uso de diferentes veículos na aplicação do OEC. Mas é importante realçar que a dose mais efetiva para IVG foi inferior as avaliadas por Santos (2014). Maior IVG está correlacionado com mais rápida emergência em campo, reduzindo a exposição das sementes as condições ambientais adversas, o que pode prejudicar a germinação e facilitar a ação de microrganismos, causando deterioração à semente ou à plântula (LUIZ et al., 2017; SILVA et al. 2008).

Tabela 1: Avaliação da fitotoxicidade do OEC aplicado as sementes de soja em diferentes concentrações sobre germinação e vigor

Trat. OEC (mL/L)	Parâmetros Avaliados							
	G	PA	SM	IVG	CRp	NRS	MUR	MSR
0	83,0 b	2,2 a	8,2 b	23,5 d	4.7 d	0,0 d	0,53 b	0,41 b
0*	81,0 b	0 a	9,5 b	26,25 cd	4.9 d	0,0 d	0,52 b	0,45b
0,5 mL/L	100,0 a	0 a	0,0 a	30,50 bc	8.6 bc	5,0 a	0,68 a	0,55 a
0,7 mL/L	97,4 a	0 a	1,2 a	35,75 ab	7.6 c	2,3 c	0,71 a	0,55 a
1,0 mL/L	98,4 a	0 a	0,7 a	32,12 ab	8.3 bc	3,2 bc	0,72 a	0,54 a
1,6 mL/L	100,0 a	0 a	0,0 a	37,33 a	9.8 a	4,6 ab	0,77 a	0,57 a
2,0 mL/L	99,0 a	0 a	0,5 a	32,83 ab	8.3 bc	1,9 c	0,72 a	0,59 a
3,0 mL/L	97,4 a	0,2 a	1,0 a	32,27 ab	8.8 ab	4,6 ab	0,67 a	0,53 a

0: controle (sementes tratadas com água); 0*: controle com óleo de soja; G: Germinação (%); PA: Plântula Anormal (%); SM: Sementes Mortas (%); IVG: Índice e Velocidade de Germinação (%); CR: Comprimento de Raiz (cm); NRS Número de Raízes secundárias (cm) MU: Massa Úmida da plântula (g); MS: Massa Seca da plântula (g). Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si no teste de agrupamento Tukey (5%).

As sementes submetidas ao tratamento com OEC revelaram um aumento significativo no comprimento das raízes em comparação aos grupos de controle, sendo que o desempenho mais expressivo foi observado na concentração de 1,6 mL/L. Na análise do NRS, o OEC a 0,5 mL/L apresentou um desempenho superior em relação aos grupos de controle, embora não tenha diferido de maneira significativa do OEC a 1,6 mL/L. Nos ensaios de MFR e MSR, os tratamentos com OEC destacaram-se em comparação aos grupos de controle, contudo, houve variação de acordo com a concentração de OEC utilizada.

Um estudo conduzido por Gomes et al. (2016) avaliou o tamanho da parte aérea e das raízes em plantas de feijão-fava submetidas a diferentes dosagens de OEC. Comparando essas dosagens, os pesquisadores constataram que ambos os parâmetros apresentaram resultados superiores ao grupo de controle. Em contraste, Silva (2013) não identificou diferença estatística entre o controle e os tratamentos com OEC em sementes de feijão-caupi quanto a CPA e CR. Essa constatação é respaldada por Olinto et al. (2021), que também obtiveram resultados semelhantes aos de Silva (2013) em sementes de leucena.

Os aumentos dos parâmetros de CR pelo OEC evidenciam o potencial bioestimulante do composto, favorecendo o desenvolvimento inicial do sistema radicular. Esse aspecto torna o OEC altamente promissor, pois plantas com um sistema radicular

bem desenvolvido estão mais aptas a explorar camadas mais profundas do solo. Tal capacidade facilita a adaptação a solos com menor fertilidade, ampliando a absorção de nutrientes e água. Como resultado, a parte aérea da planta se desenvolve mais, o que contribui para o aumento da produção (MENDES; MENDES, 2022).

4.3 Teste de sanidade

As sementes de soja tratadas com OEC 1,6 mL/L (conforme apresentado na Tabela 2) e as investigações ao teste de sanidade obtiveram uma redução significativa na porcentagem de contaminação, em comparação com os dois controles, água destilada e óleo de soja. Entretanto, o óleo de soja também apresentou uma redução significativa no índice de contaminação em relação ao controle de água. Esses resultados indicam que o óleo de soja cria uma barreira hidrofóbica que auxilia na inibição do crescimento de fungos.

No entanto, o OEC, na dose de 16 $\mu\text{mol/L}$, mostrou-se mais eficaz do que o óleo de soja puro, reduzindo o índice de infestação para apenas 11,1%, o que sugere um efeito aditivo do OEC na atividade antimicrobiana. Santos (2014), ao avaliar OEC formulados como emulsão no controle de *Phomopsis sojae* em sementes de soja, explicou que, na dose de 1,5 mL/L e aplicados via inclusão por três minutos em sementes de soja inoculadas, foram capazes de reduzir a incidência de 19% sem controle para 6% nas tratadas com OEC.

Além disso, ao utilizar o OEC no tratamento de sementes de feijão, Santos e Mendes (2021) e Santos (2018) também constataram uma redução significativa na incidência de fungos. O OEC aplicado em sementes de ervilhas também prejudica o percentual de contaminação das sementes pelos fungos causadores da podridão amarga (Riccioni et al., 2019).

1. A ação fungicida da OEC ainda não está totalmente estabelecida, mas de acordo com Wang et al. (2010), o eugenol presente no OEC pode se ligar à membrana dos fungos e alterar sua permeabilidade, levando ao rompimento. Essa afirmação baseia-se nas propriedades hidrofóbicas do OEC, que podem aderir às paredes do escleródio, causando alterações morfológicas (VENTUROSIO, BACCHI, GAVASSONI, 2011; COSTA et al., 2011).

Tabela 2 – Influência do tratamento de sementes de soja com OEC na porcentagem de sementes de soja com presença de fungos filamentosos

	água	óleo de soja	OEC 1,6 mL/L
não sanitizadas	59,3 Aa	23,7 Ba	11,1 Ca
sanitizadas	50,5 Ab	22,5 Ba	10,6 Ca

4.4 Influência do tratamento de sementes de soja com OEC na cultura da soja em experimentos de campo nas safras de 2019/2020 e 2021/2022.

O OEC a 1,6 mL/L demonstrou os resultados mais promissores como a dose adequada para a atividade bioestimulante nos testes de germinação e sanidade, sendo selecionado para os testes em nível de campo. Para tanto, foram conduzidos dois experimentos de campo nas safras 2019/2020 e 2021/2022.

4.5 Experimento de campo safra 2019/2020

Na safra 2019/2020 foram avaliados os parâmetros emergência, nodulação, número de vagens e sementes por planta e a produção em sacas por hectare, os resultados são apresentados na Tabela 3.

As sementes tratadas com OEC a 1,6 mL/L, na dose de 40 mL/Kg de sementes, apresentaram uma porcentagem de emergência, nodulação e produção superiores em comparação aos controles tratamento industrial e óleo de soja. No entanto, o número de vagens e sementes por planta foi inferior ao tratamento industrial, destacando a importância do estabelecimento de um estande adequado de plantas no campo para garantir uma alta produtividade ao final da cultura.

Um estudo conduzido por Silva et al. (2019) avaliou a emergência em sementes de arroz tratadas com OEC, observando um acréscimo significativo de 60% para 87% nas sementes tratadas em relação ao controle. Em contraste, o OEC nas doses de 2,5 mL/L aplicado às sementes de soja e pimentão não apresentou diferença na emergência.

O tratamento com OEC no campo promoveu um aumento significativo no número de nódulos na soja. De acordo com Hungria, Campo e Mendes (2001), a fixação biológica de nitrogênio pela cultura da soja está diretamente relacionada ao número de nódulos presentes na planta. Uma nodulação em quantidade abundante tende a fixar mais nitrogênio, refletindo em uma maior disponibilidade do nutriente para a planta, o que, por sua vez, resulta em maior produtividade. Esses resultados evidenciam o potencial uso do OEC como bioestimulante.

Tabela 3: Avaliação do efeito bioestimulante do OEC aplicado em sementes de soja em experimento de campo.

Tratamento	Parâmetros avaliados						Produção sc/ha
	Emergência (%)	nº nódulos	vagens/planta		Sementes/planta		
			*Rank	nº	*Rank	nº	
Industrial	40,1 c	50,1 b	43,7 a	25,18	44,1 a	64,4	75,2 b
Óleo soja	70,4 b	50,3 b	24,0 b	17,48	23,6 b	42,7	76,4 b
OEC 1,6 mL/L	89,7 a	56,0 a	23,7 b	16,98	23,7 b	41,4	89,5 a

*Os dados de número de vagens e sementes por planta foram analisados após transformação Rank, pois não apresentavam normalidade dos resíduos.

4.5.1 Experimento de campo 2021/2022

No experimento da safra de 2021/2022 foi adicionado o controle absoluto, sem nenhum tratamento e realizadas e avaliados os parâmetros emergência, altura de planta com 20 DAS e ao final do cultivo, diâmetro do caule, inserção da primeira vagem, número de vagens e sementes por plantas, peso de sementes por planta e produção em sacas por hectare.

A porcentagem de emergência, altura a 20 DAS e ao final da cultura na safra 2021/2022 (Tabela 4) foram superiores no tratamento industrial. O OEC não promoveu aumento significativos na emergência, mas nos parâmetros altura a sete dias e ao final da cultura na safra não diferiu do tratamento industrial e nem dos controles. Nos demais parâmetros não se verificou diferenças significativas, apesar das sementes tratadas industrialmente e com OEC terem produzido 5 e 4,2 sc/ha a mais que o controle absoluto. Santos 2014 também não detectou diferença significativa na emergência de sementes de soja entre o tratamento controle com OEC a 2,5 mL/L.

Tabela 4: Resultado da comparação do teste de média para as variáveis do ensaio de campo realizado no município de São Gotardo – MG safra 2021/22.

Tratamentos	Emerg 20 dias	Plantas por m	Alt. 20 DAS	Alt Final	Diam. caule	Alt 1ª vag	Nº vagem	Nº Grãos	Peso Sem/plan	Prod. sc/ha
Controle	63,1 b	11,4 b	8,0 b	70,8 ab	0,85 a	14,4 a	37,2 a	99,0 a	12,0 a	81,1 a
Industrial	77,4 a	13,9 a	9,0 a	76,7 a	0,84 a	14,6 a	34,9 a	89,9 a	11,3 a	86,1 a
Óleo soja	64,3 b	11,6 a	8,0 b	69,4 b	0,85 a	14,3 a	39,8 a	104,2 a	13,1 a	83,4 a
OEC 1,6 mL/L	65,0 b	11,7 a	8,3 ab	71,5 ab	0,82 a	13,3 a	43,9 a	117,9 a	13,4 a	85,3 a

Emerg = emergência com 20 DAS, alt 20 DAS= altura com 20 DAS, Alt final = alturas média das plantas ao final do ciclo, diam. Caule = diâmetro do caule ao final da cultura, nº de vagens, grãos e peso médio das sementes por planta medidas ao final da cultura, n.s = não significativo; Médias seguidas pela mesma letra não se diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.5.2 Comparação entre os experimentos de campo nas safras de 2019/2020 e 2021/2022

A análise estatística para comparação da produtividade dos experimentos de ambas as safras foi realizada excluindo o tratamento controle absoluto da safra 2021/2022 e uma repetição (bloco) do experimento de 2019/2020. Na safra de 2019/2020, a maior produtividade foi observada com o OEC 1,6 mL/L, demonstrando superioridade em relação aos controles. Na safra de 2021/2022 não foi observada diferença significativa entre os tratamentos, e quando comparada o OEC 1,6 mL/L nas duas safras não foi observado diferença significativa, o que mostra que o bioestimulante é capaz de suprir estresses que as sementes e plantas sofrem em condições de campo, mas não para promover ganhos acima do potencial genético da cultura.

Tabela 5: Comparação da produtividade estimada (scs/ha) de plantas de soja tratadas com OEC em campo nas duas safras.

Tratamentos	Experimento	
	2019	2021
Industrial	59,78 cB*	86,05 aA*
OEC 1,6 mL/L	84,80 aA	85,32 aA
Óleo de soja	71,58 bB	83,35 aA

*médias seguidas da mesma letra minúscula na mesma coluna ou por letra maiúscula na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.6 Avaliação do efeito do tratamento com OEC nas trocas gasosas e metabólicas das plantas de soja.

No experimento da safra de 2019/2020 foram realizadas a avaliação das trocas gasosas e de alterações metabólicas para buscar compreender efeito do uso do OEC no tratamento de sementes sobre as plantas.

4.6.1 Trocas gasosas

Os parâmetros de troca gasosas realizados no estágio fenológicos V2 não apresentaram diferenças significativas, conforme evidenciado na Tabela 6.

Tabela 6: Resultados sem diferença significativa. Taxa de assimilação de CO₂ (A) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), Transpiração (E) ($\text{mmol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), Concentração interna de CO₂ (Ci) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$), Condutância estomática (gs) ($\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), eficiência instantânea de carboxilação (EiC) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}/\mu\text{mol mol}^{-1}$) e Fotossíntese/Concentração interna A/Ci ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}/\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$).

Tratamento	A	EiC	E	Ci	Gs	A
Industrial	28,28	3,39	9,06	188,68	0,30	0,13
Óleo soja	29,60	3,50	8,65	196,62	0,33	0,16
OEC 1,6 mL/L	28,89	3,40	8,60	202,51	0,32	0,15

4.6.2 Análise metabólica das plantas da safra 2019/2020

Nas amostras de folhas de soja 15 metabólitos apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) na concentração relativas entre os tratamentos. Após essa verificação foi gerado um mapa de calor, baseado nos grupos dos componentes principais dos 58 metabólitos identificados, sendo classificados por seus valores de p no teste t de Student (Figura 1). Esses dados revelaram um agrupamento claro e distintos, um grupo formado pelo tratamento industrial de semente e o outro dos tratamentos com óleo de soja e OEC (Figura 1 e 2).

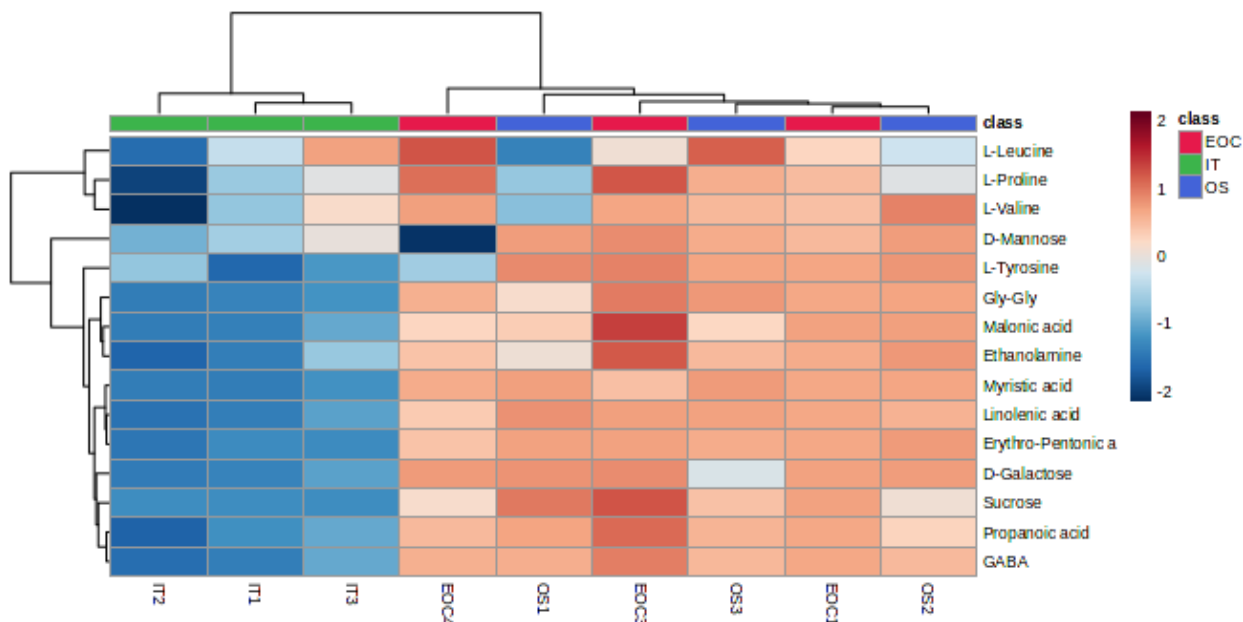


Figura 1: Mapa de calor dos 15 metabólitos que apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos. As colunas representam as amostras de cada tratamento (verde = tratamento industrial; azul = óleo de soja o vermelho = OEC 1,6 mL/L). Cada linha representa um metabólito. Os quadrados de cores representam a abundância dos metabólitos, onde vermelho escuro (maior abundância) e azul escuro (menor abundância).

O Gráfico 1 da análise por PLS-DA revela uma clara separação entre o tratamento industrial e os tratamentos com óleo de soja e OEC. A componente principal 1,

responsável por explicar 86,1% da variância total, destaca-se nessa diferenciação. As plantas do tratamento industrial exibem concentrações relativas mais baixas de aminoácidos como L-prolina, L-valina e L-tirosina, do dipeptídeo glicina-glicina, bem como dos ácidos orgânicos malônico, mirístico, linolênico e propanoico. Além disso, apresentam menores teores relativos dos açúcares sacarose, D-manose e D-galactose.

No contexto deste trabalho, observa-se um aumento dos açúcares e aminoácidos nos tratamentos com óleo de soja e OEC. De acordo com Fàbregas and Fernie (2019), açúcares e aminoácidos são os primeiros metabólitos de resposta produzidos quando as plantas enfrentam condições de estresse. Vale destacar que um dos aminoácidos com maior teor relativo é a prolina, um aminoácido osmoprotetor conhecido por sua atuação na estabilização de proteínas e no papel protetor das membranas, desempenhando diversos papéis cruciais em seu metabolismo e resposta a estresses ambientais. (SHARMA & DUBEY, 2005) (LIMA, 2010).

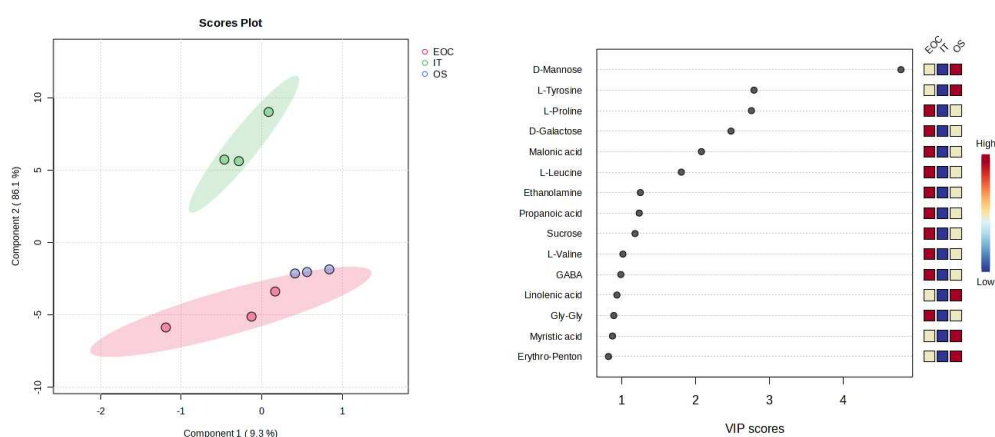


Figura 3: Gráfico de pontuações entre os PCs selecionados. As variações explicadas são mostradas entre parênteses.

Análise das rotas metabólicas via MetaboAnalyst 4.0 mostra que apenas a rota metabólica da biossíntese de aminoacil-tRNA foi alterada significativamente ($FDR \leq 0,05$), mas com baixo impacto

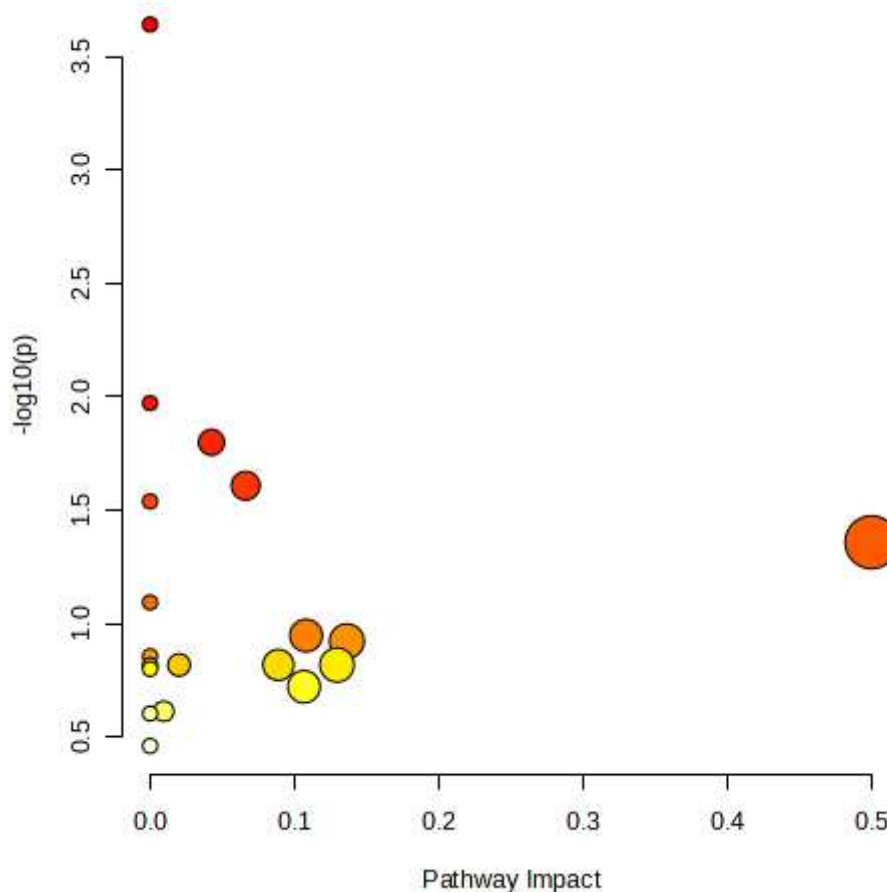


Figura 2. Alterações em vias metabólicas, regulação para inibição das vias (A) e estímulo as vias (B) em plantas de soja (58 DAP). O tamanho e as cores dos círculos revelaram a magnitude das vias metabólicas afetadas (amarelo = menor relevância; vermelho = maior relevância; círculos pequenos = menor impacto na via, círculos grandes = maior impacto na via) de acordo com a relevância estatística e os valores de impacto na via (PI) resultantes Análise Quantitativa de Enriquecimento (QEA) e Análise de Topologia de Rede (NTA), respectivamente. A linha pontilhada representa o ponto de corte de significância em $P < 0,05$.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos destacam o impacto do óleo essencial de cravo no processo de germinação de sementes de soja. Os dados obtidos revelam claramente que a incorporação desse óleo essencial nas práticas agrícolas pode desempenhar um papel significativo no aumento da taxa de germinação e no desenvolvimento inicial das plântulas.

Diante dessas descobertas, é evidente que o óleo essencial de cravo se revela não apenas como um recurso valioso na medicina natural, mas também como uma ferramenta promissora na agricultura sustentável. Considerando os desafios crescentes relacionados à produção de alimentos e à necessidade de práticas agrícolas mais eficientes, a utilização

estratégica desse óleo apresenta-se como uma alternativa viável e ecologicamente sensata.

Portanto, investir em pesquisas adicionais e integrar o óleo essencial de cravo nas práticas agrícolas pode representar um avanço significativo na busca por métodos sustentáveis e eficazes para promover o crescimento saudável das plantas, contribuindo assim para o desenvolvimento de soluções inovadoras no cenário agrícola contemporâneo.

6 REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. 2001. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectrometry. **Allured Publishing Corporation**, Illinois, 2007.

AFFONSO, R. S. et al. Aspectos químico e biológico do óleo essencial de cravo da Índia. **Revista Virtual Química**, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012.

ALTIZANI JÚNIOR, J. C. et al. Óleo essencial de cravo amarelo sobre o desempenho germinativo de sementes de cenoura. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 11, p. 91793-91803, nov. 2020.

ALVES, R. M. **Tratamento de sementes de soja com micronutrientes apresentando diferentes níveis de vigor**: absorção durante a germinação e efeitos sobre o potencial fisiológico das sementes e desempenho inicial das plantas. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2022.

ARAÚJO, A. S. et al. Estudo da produção, mercado e escoamento da soja no estado de Rondônia. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**, Ariquemes, v. 13, ed. esp., 2022.

AVELAR, S. A. G. et al. Storage of soybean seed treated with fungicide, insecticide and micronutrient and coated with liquid and powdered polymer. **Ciência Rural**, v.41, n.10, p.1719-1725, 2011.

BAKHSHANDEH, E.; GHOLAMHOSSINI, M. Quantification of soybean seed germination response to seed deterioration under PEG-induced water stress using hydrotimic concept. **Acta Physiologia e Plantarum**, v. 40, p. 1-8, 2018.

BALARDIN, R. S. et al. Tratamento de sementes com fungicidas e inseticidas como redutores dos efeitos do estresse hídrico em plantas de soja. **Ciência Rural**, v. 41, n. 7, p. 1120-1126, 2011.

BARBOSA, L. N. **Propriedade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas condimentares com potencial de uso como conservante em carne e hambúrguer**

bovino e testes de aceitação. 2010. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

BARROS, D. I. et al. Comparação entre testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 24, n. 2, p.12-16, 2002.

BASTOS, G. D. B. **A tecnologia RR na produção da soja.** 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, 2020.

BELLIDO, L. L. **La soja.** Ediciones Mundi- Prensa, Madrid, Espanha, 1988.

BIASI, L. A.; DESCHAMPS, C. **Plantas aromáticas:** do cultivo à produção de óleo essencial. Curitiba: Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, 2009.

BIZZO, H.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588- 594, abr. 2009.

BLACK, R. J. **Complexo soja:** fundamentos, situação atual e perspectiva. In:

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2009). Manual de Análise Sanitária de Sementes. Brasília: Mapa/ACS, 2009 a. 200p.

CÂMARA, G. M. S. (Ed.). Soja: tecnologia de produção II. Piracicaba: ESALQ, p.1- 18, 2000.

BONATO, E. R; BONATO, A. L. V. **A soja no Brasil:** história e estatística. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, p. 8 -10. (Documentos, 21). 1987.

BONATO, E. R. et al. Teor de óleo e de proteína em genótipos de soja desenvolvidas após 1990. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 12, p. 2391-2398, dez. 2000.

BORGES, D. I. **Óleos e extratos vegetais no controle da ferrugem-asiática da soja**

(*Glycine max* (L.) Merrill). Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

BORGES, J. P. S. **Restrição hídrica e germinação de sementes de soja tratadas com produtos fitossanitários.** Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, 2019.

BRANDT, E. A. et al. Desempenho agrônomo de soja em função da sucessão de culturas em sistema de plantio direto. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 5, p. 869-874, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº45, de 17 de setembro de 2013.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, seção 1, p.6. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de análise sanitária e de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 200 p., 2009b.

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

BUZZERIO, N. F. Ferramentas para qualidade de sementes no tratamento de sementes profissional. **Informativo Abrates**, v. 20, n.3, p.56, 2010.

CÂMARA, G.M.S. **Introdução ao agronegócio da soja**. Piracicaba: ESALQ, LPV, p.1-18, 2011.

CHAVES, J. S. et al. Pharmacokinetics and tissue distribution of the sesquiterpene alpha-humulene in mice. **Planta Medica**, v. 74, p. 1678-1683, 2008.

CNN BRASIL. **Brasil bate recorde de exportação de soja em 2021**. 2022. Disponível em: <https://www.cnnbrasil.com.br/business/brasil-bate-recorde-de-exportacao-de-soja-em-2021/>. Acesso em: 19 abr. 2022.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Dados econômicos da soja**. 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>. Acesso em: 19 abr. 2022.

CONAB. **Perspectivas para a agropecuária: safra 2019/2020**. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento Conab, v. 7, 2019. Disponível em: <http://www.conab.gov.br> Acesso em: 20 jun. 2022.

CORTES-ROJAS, D. F.; SOUZA, C. R. F.; OLIVEIRA, W. P. Clove (*Syzygium aromaticum*): A precious spice. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, p. 90- 96, 2014.

COSTA, A. R. T. et al. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & LM Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista brasileira de plantas medicinais**, Botucatu, v. 13, n. 2, p. 240-245, 2011.

DALL'GNOL, A. **O impacto da soja sobre a economia brasileira**. Informações técnicas para a agricultura. São Paulo, Máquinas Agrícolas Jacto, 2000.

DAN, L. G. M. et al. Qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas com inseticidas sob efeito do armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 2, p. 131-139, 2010.

DARONCO, M. V. **Óleos essenciais no tratamento de sementes de soja (*Glycine Max* L.)**. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Agrônômica) - Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2013.

DELESPAUL, Q. et al. The antifungal activity of essencial oils as determined by different screening methods. **Journal of Essential Oil Research**, p. 256-266, 2000.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Soja na alimentação**. 2013. Disponível em:

http://www.cnpso.embrapa.br/soja_alimentacao/index.php?pagina=23. Acesso em: 19 out. 2021.

FERRÃO, J. E. M. **Especiarias: cultura, tecnologia e comércio**. Lisboa Ministério do Planeamento e da Administração do Território/Secretaria de Estado da Ciência e Tecnologia/Instituto de Investigação Científica Tropical, 1993. 443 p.

FIDELIS, R. et al. Alguns aspectos do plantio direto para a cultura da soja. **Bioscience Journal**, v. 19, n. 1, p. 23-31, 2003.

FRANÇA NETO, J. B. et al. Adoção do tratamento industrial de sementes de soja no Brasil, safra 2014/15. **Informativo Abrates**, v. 25, n.1, p. 26-29, 2015.

FRAENKEL, G. S. The raison d'être of secondary plant substances. **Science**, v. 129, n. 3361, p. 1466-1470, 1959.

FRARE, T. T. **Desempenho de sementes de soja (*Glycine max*) tratadas com fungicida isolado e combinado à inseticida e fertilizante**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.

GARCIA, A. G. **Cultivos Herbaceos Extensivos**. 6.^a ed. Ediciones Mundi – Prensa, Madrid, 1999.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOMES, P. R. B. et al. Caracterização química e citotoxicidade do óleo essencial do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*). **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, v. 47, n. 1, p. 37-52, 2018.

GOMES, R. S. S. et al. Eficiência de óleos essenciais na qualidade sanitária e fisiológica em sementes de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 18, p. 279-287, 2016.

GONZALEZ, H. R.; MEDEROS, D.; SOSA, H. I. Efectos alelopáticos de restos de diferentes espécies de plantas medicinales sobre la albahaca (*Ocimum basilicum* L.) em condiciones de laboratorio. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 7, n. 2, p. 67-72, 2002.

HILLEN T. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicos in vitro e no tratamento de sementes. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, p. 439-445, 2012.

HIRAKURI, M. H.; LAZZAROTTO, J. J. **O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 37 p, 2014.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja**. Embrapa Soja, Circular Técnica, n. 35; Embrapa Cerrados, Circular Técnica, n. 13, 2001.

JULIATTI, F. C.; POLIZEL, A. P.; JULIATTI, F. C. **Manejo integrado de doenças na cultura da soja**. Uberlândia: EDUFU, 325p., 2004.

KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 5, n. 2, p. 120-132, 2010.

LI, Y. et al. Illicium verum essential oil, a potential natural fumigant in preservation of lotus seeds from fungal contamination. **Food and Chemical Toxicology**, v. 141: p. 111-347, 2020.

LOZADA, M. I. O. **Eficiência de óleos essenciais para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* f. Sp. Cepae em sementes de cebola e seu efeito na qualidade fisiológica**. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

LUDWIG, M. P. et al. Armazenamento de sementes de soja tratadas e seu efeito no desempenho de plântulas. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 9, n. 1, p. 51-56, 2015.

LUIZ, M. C. et al. Velocidade de emergência de sementes de *Raphanus sativus* L. e *Eruca sativa* cultivadas em diferentes substratos orgânicos. **Revista Mirante**, v. 10, n. 1, p. 194-205, 2017.

MACHADO, B. R. **Uso de plantas medicinais no controle de doenças em plantas**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Campos Curitibanos, 2019.

MAGALHÃES, C. R. et al. Óleos essenciais na emergência de grãos de milho (*Zea mays* L.). **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 10, n. 19, p. 338, 2014a.

MAGALHÃES, C. R. I. et al. Óleos essenciais na emergência de grãos de milho (*Zea mays* L.). **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, p. 338-349, 2014b.

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

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2 ed. Londrina: Abrates, 2015.

MARTINS, C. D. M. **Estudo químico, atividade antioxidante, atividade antimicrobiana e análise do óleo essencial da espécie *kielmeyera coriácea* Mart. & Zucc (PAU-SANTO) do cerrado**. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasileira Botanica**, v. 26, p. 231-238, 2003.

MENDES, M.; MENDES, A. F. **A importância da aplicação dos Ácidos Húmicos na agricultura**. 2022. Disponível em: < <https://bolschare.com/wp-content/uploads/2022/07/A-importancia-da-aplicacao-dos-Acidos-Humicos-na-agricultura.pdf> >. Acesso em: 16 mar. 2023.

MENTEN, J. O. M.; MORAES, M. H. D. de. Tratamento de sementes: histórico, tipos, características e benefícios. **Informativo Abrates**, v. 20, n. 3, p. 52-53, 2010.

MEVY, J. P. et al. Chemical composition and some biological activities of the volatile oils of a chemotype of *Lippia chevalieri* Moldenke. **Food Chemistry**, v. 101, p. 682-685, 2007.

MILADINOVIC, J.; HRUSTIC, M.; VIDIC, M. **Soyabean**. Becej: Institute of Field and Vegetables Crops, Novi Sad, Serbia, 2011.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 4050- 4063, 2009.

MUNDSTOCK, C. M. **Soja**: fatores que afetam o crescimento e o rendimento de grãos. Porto Alegre: Departamento de Plantas de Lavoura - UFRGS, 31p. 2005.

NASCIMENTO, D. M. do. **Efeito do tratamento de sementes de pimentão com óleos essenciais sobre o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* e o potencial fisiológico das sementes**. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2017.

NASCIMENTO, D. M. et al. Essential oils control anthracnose in pepper seeds. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, 2020.

NASCIMENTO, D. M. do. Óleos essenciais no tratamento de sementes. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 27, p. 77-90, 2021.

NERILO, S. M. et al. Antifungal activity and inhibition of aflatoxins production by *Zingiber officinale* Roscoe essential oil against *Aspergillus flavus* in stored maize grains. **Ciência Rural**, v. 50, p. 1–10, 2020.

NUNES, M. C. **Eficiência de óleos essenciais na qualidade sanitária e fisiológica em sementes de fava (*Phaseolus lunatus* L.)**. Monografia (Bacharelado em Agronomia) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2015.

OLINTO, F. A. et al. Óleos essenciais sobre a qualidade de sementes de leucena. **Revista Principia**, n. 54, p. 9-19, 2021.

OLIVEIRA, L. **Efeito inibitório dos óleos essenciais de alfavacão (*Ocimum gratissimum* L.) e cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.) e do suco de limão (*Citrus latifolia* Tanaka) frente às bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de carcaças de ovinos**. Dissertação (Mestrado em Ciência Agrárias) – Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2011.

OLIVEIRA, J. A. et al. Secagem e armazenamento de sementes de sorgo com alto e baixo teor de tanino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 4, p. 699-710, 2011.

OLIVEIRA, R. A. de et al. Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 3, p. 771-775, 2009.

PASSOS, G. F. et al. Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenacea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, p. 323-33, 2007.

PECCINELLI, M. C. **Atividade de novo composto inseticida (dinotefuram+ lambda-cialotrina) no controle do percevejo-marrom, *Euschistus heros* (Fabricius), na cultura da soja, *Glycine max* (Merrill)**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Agrônômica) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira, 2022.

PEREIRA, C. E. et al. Tratamento fungicida e peliculização de sementes de soja submetidas ao armazenamento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 1, p. 158-164, jan./fev., 2011.

PICCININ, G. G. et al. Influência do armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas com inseticidas. **Ambiência**, v.9, n. 2, p.289 - 298, 2013.

POMBEIRO, A. **Técnicas e Operações Unitárias em Química Laboratorial**, 4 ed., Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 2003. 1072p.

QUEIROGA, M. F. C. et al. Aplicação de óleo no controle de *Zabrotes subfasciatus* e na germinação de *Phaseolus vulgaris*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.16, n. 7, p.777-783, abr. 2012.

RABÊLO, N. F. **Caracterização química toxicidade e avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial do cravo da índia (*Syzygium aromaticum*)**. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Universidade Federal do Maranhão, São Luis, 2010.

RAZAFIMAMONJISON, G. et al. Bud, leaf and stem essential oil composition of clove (*Syzygium aromaticum* L.) from Indonesia, Madagascar and Zanzibar. **Nat Prod Commun**, v. 8, p. 1–7, 2013.

RICCIONI L. et al. Organic seed treatments with essential oils to control ascochyta blight in pea. **European Journal of Plant Pathology**, v. 155, p. 831–840, 2019.

SÁNCHEZ, A. A. et al. Antimicrobial and antioxidant activities of Mexican oregano essential oils (*Lippia graveolens* H. B. K.) with different composition when microencapsulated in βcyclodextrin. **Letters in Applied Microbiology**, v.50, n. 6, p. 585-590, mai. 2010.

SANTANA, C. R. Tratamento de sementes de soja durante períodos de armazenamento. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 4, p. 27722-27740, 2022.

SANTANA, R. H. **Isolamento e caracterização de promotores órgão-específicos de plantas de soja (*Glycine max*)**. Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular) - Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

SANTOS, A. M. D.; MENDES, L. **Tratamento de sementes de feijão com óleos essenciais: efeitos na germinação e sanidade**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Grande Dourados, Dourados, 2021.

SANTOS, H. H. D. et al. Qualidade fisiológica de sementes de fava (*Phaseolus lunatus* L.) armazenadas: produtos naturais e embalagens. In: XI Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão nº XI, Recife-PE, **Anais...** UFRPE, 2011.

SANTOS, P. L. D. **Efeito de óleos essenciais sobre o fungo *Phomopsis sojae* e a qualidade fisiológica de sementes de soja**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Botucatu, 2014.

SANTOS, P. L. **Manejo de *Macrophomina phaseolina* (tassi) goid. em sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) com óleos essenciais e antagonistas**. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Botucatu, 2018.

SCHERER, R. et al. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 4, p. 442-449, 2009.

SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R. C.; REIS, M. S. **Melhoramento da soja**. In: BORÉM, A. Melhoramento de espécies cultivadas. Viçosa: UFV, 2005. 969 p.

SCHMITT, A.; KOCH, E.; STEPHAN, D.; KROMHARDT, C.; JAHN, M.; KRAUTHAUSEN, H. J Evaluation of non-chemical seed treatment methods for the control of *Phoma valerianellae* on lamb's lettuce seeds. *J. Plant Dis. Prot.* 2009, 116, 200–207

SILVA, A. A., PEREIRA, F. A. C., DE SOUZA, E. A., DE OLIVEIRA, D. F., NOBRE, D. A. C., MACEDO, W. R., & SILVA, G. H.. Inhibition of anthracnose symptoms in common bean by treatment of seeds with essential oils of *Ocimum gratissimum* and *Syzygium aromaticum* and eugenol. **European Journal of Plant Pathology**, 163(4), 865-874, (2022).

SILVA, A. C. da; LIMA, E. P. C. de; BATISTA, H. R. A importância da soja para o agronegócio brasileiro: uma análise sob o enfoque da produção, emprego e exportação. In: ENCONTRO DE ECONOMIA CATARINENSE, 2011, Florianópolis. **Anais...** Criciúma: APEC, 2011.

SILVA, A. C. et al. Effectiveness of essential oils in the treatment of *Colletotrichum truncatum*-infected soybean seeds. *Tropical Plant Pathology* v. 37, p. 305–313, 2012.

SILVA, E. A. et al. Germinação da semente e produção de mudas de cultivares de alface em diferentes substratos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 2, p. 245-254, 2008.

SILVA, I. N. da. et al. Qualidade fisiológica de sementes de arroz tratadas com óleos essenciais e extratos vegetais. **Revista Destaques Acadêmicos**, v. 11, n. 3, p. 259-271, 2019.

SILVA, K. M. da. **Potencial fisiológico de sementes armazenadas de feijão caupi *Vigna unguiculata* (L) Walp tratadas com óleo essencial de cravo da Índia**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada, 2013.

SILVESTRI, J. D. F. et al. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Revista Ceres**, v. 57, n. 5, p. 589-594, 2010.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. **Óleo voláteis**. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Orgs) Farmacognogia da planta ao medicamento. Florianópolis; Ed UFSC. 2003. 467p.

SOYLU, E. M.; KURT, S.; SOYLU, S. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 143, p. 183-189, 2010.

STAMP, N. Out of the quagmire of plant defense hypotheses. **The Quarterly Review of Biology**, v. 78, p. 23–55, 2003.

STANCK, J. A. T. **Avaliação da sanidade de sementes de *Mimosa scabrella* submetidas a tratamento com os óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Corymbia citriodora***. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2019.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p

TOLEDO, M. Z. et al. Seed germination and seedling development of white oat affected by silicon and phosphorus fertilization. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 68, n. 1, p. 18-23, jan-fev. 2011.

TRAFANE, L. G. **Tratamento Industrial de sementes de soja e seus reflexos na qualidade durante o período de armazenamento**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Sementes) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). **Soja em números (safra 2020/21)**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>. Acesso em: 20 jun 2022.

VELLO, N. A.; SILVA, L. A. S. Genética busca atender ao consumo humano crescente. **Visão Agrícola**, ano 3, n. 5, p. 60- 62, jan-jun. 2006.

VENDRAMIN, J. D. Plantas inseticidas e controle de pragas. **Informativo da Sociedade Entomológica do Brasil**, Piracicaba, v.25, n.2, p.1-5, 2000.

VENTUROSOSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L. Antifungal activity of plant extracts on the development of plant pathogens. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 1, p. 18-23, 2011.

VIEGAS, R. I. F. **Valor fertilizante de leguminosas herbáceas nos ecossistemas agrícolas**. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) – Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança, 2017.

VIGANO, J. et al. Qualidade fisiológica de sementes de trigo em resposta aos efeitos de anos e épocas de semeadura. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina v. 32, n.3, p. 086-096, out. 2010.

YIN, H. W. Yield and composition variation of essential oil from leaves of different *Cinnamomum osmophloeum* Kanehira clones in Taiwan. **Quarterly Journal of Chinese Forestry**, n. 24, p. 83-104, 1991.

WANG, C. et al. Antifungal activity of eugenol against *Botrytis cinerea*. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, p. 137–143, 2010.