ADRIENE APARECIDA SILVA

FORMULAÇÃO DE FUNGICIDA AGROECOLÓGICO A PARTIR DE ÓLEOS ESSENCIAIS E SEUS COMPONENTES PARA CONTROLE DA ANTRACNOSE DO FEIJOEIRO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa - Campus Rio Paranaíba, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, para a obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Geraldo Humberto Silva

Coorientador: Willian Rodrigues Macedo

RIO PARANAÍBA - MINAS GERAIS
2019

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca da Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Rio Paranaíba

T
S586f
2019

Silva, Adriene Aparecida, 1990-
Formulação de fungicida agroecológico a partir dos óleos essenciais e seus componentes para controle da antracnose do feijoeiro / Adriene Aparecida Silva. – Rio Paranaíba, MG, 2019.
61f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Geraldo Humberto Silva.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa - Campus Rio Paranaíba.
Referências bibliográficas: f.46-61.

1. Fungicida agroecológico. 2. Óleos essenciais. 3. Antracnose. I. Universidade Federal de Viçosa - Campus Rio Paranaíba. Instituto de Ciências Exatas e Tecnológicas. Mestrado Multicêntrico em Química de Minas Gerais. II. Título.

632.3

ADRIENE APARECIDA SILVA

FORMULAÇÃO DE FUNGICIDA AGROECOLÓGICO A PARTIR DE ÓLEOS ESSENCIAIS E SEUS COMPONENTES PARA CONTROLE DA ANTRACNOSE DO FEIJOEIRO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa - Campus Rio Paranaíba, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, para a obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Aprovada: 01 de novembro de 2019.

Assentimento:

Adriene Aparecida Silva
Autora

Geraldo Humberto Silva
Orientador

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Geraldo e Maria José, meus irmãos Éder e Adriana, a minha sobrinha Ana Clara e ao Marcos Vinícius.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela minha vida e pelas pessoas maravilhosas que Ele colocou em meu caminho.

Aos meus pais Geraldo e Maria José que estiveram sempre ao meu lado, apoiando minhas decisões, pelas orações e por sempre acreditarem em mim.

Aos meus irmãos Éder e Adriana, pelo carinho e pelo incentivo.

Ao Marcos Vinícius que sempre esteve comigo, pelo companheirismo e carinho nesses anos de convivência.

À Ana Clara, por ser um presente de Deus. Obrigada pela alegria e o amor a mim dedicados.

Ao Professor e orientador Dr. Geraldo Humberto Silva, pela orientação, dedicação, paciência e todo conhecimento transmitido.

Ao Professor Dr. Willian Rodrigues Macedo por todos os ensinamentos e conselhos.

Ao Professor Dr. Denilson Ferreira de Oliveira por toda a ajuda, conselhos e orientação.

À Professora Dr.ª Elaine Aparecida de Souza por toda a ajuda e pelas oportunas sugestões.

A todos do Laboratório de Resistência de Plantas a Doenças do Departamento de Biologia da UFLA, que me acolheram com muito carinho, em especial a Fernanda por toda a ajuda, dedicação e carinho no desenvolvimento deste trabalho.

À Danúbia pela amizade e por todo o carinho e ajuda no decorrer desta caminhada.

Ao Professor Dr. Hernani Martins Junior pela ajuda nas análises estatísticas.

À Universidade Federal de viçosa (UFV) juntamente com o programa da rede mineira pela oportunidade em realizar o Mestrado.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), pela oportunidade para que eu pudesse desenvolver a última etapa desta pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, juntamente com o INCT-BioNat e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio com a concessão da bolsa, e a FAPEMIG pelo apoio financeiro no desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço também todos os técnicos e funcionários da Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba, em especial ao Jader, Vinícius e Vander pelo suporte.

A todos do laboratório de desenvolvimento de agroquímicos naturais (UFV-CRP) e aos que me auxiliaram na montagem dos experimentos.

Finalizo agradecendo a todos e todas que me ajudaram direta ou indiretamente na conclusão de mais essa etapa. Obrigada por me acompanharem nessa caminhada!

"E aqueles que foram vistos dançando foram julgados insanos por aqueles que não escutavam a música"

Friedrich Nietzsche

RESUMO

SILVA, Adriene Aparecida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa - Campus Rio Paranaíba, novembro de 2019. **Formulação de fungicida agroecológico a partir de óleos essenciais e seus componentes para o controle da antracnose do feijoeiro.** Orientador: Geraldo Humberto Silva. Coorientador: Willian Rodrigues Macedo.

Os óleos essenciais (OE's), fontes de compostos bioativos, possuem potencial para substituir os fungicidas no controle de fitopatógenos, logo, neste estudo, objetivou avaliar a ação dos OE's de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.), canela cássia (*Cinnamomum cassia* L.) e alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), e suas substâncias para o desenvolvimento de um fungicida natural que controle a antracnose. A caracterização dos OE's foi realizada via cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) por comparações dos espectros com a biblioteca de espectros NIST e cálculo dos índices aritméticos com padrões da literatura. Avaliou-se a fitotoxicidade dos OE's e as substâncias *in vitro* em 5 diferentes concentrações solubilizados em óleo de soja e delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições. O potencial antifúngico foi realizado pelo teste *in vitro* calculando a concentração inibitória mínima (CIM) para germinação dos esporos e pelo teste *in vivo* realizado em casa de vegetação, utilizando sementes de feijão BRSMG UAI, coletadas em plantas apresentando sintomas da doença, com os OE's e as substâncias solubilizados em óleo de soja, com delineamento em blocos casualizados, e 3 repetições. Os dados foram analisados pela ANAVA, teste de Scott-Knott (5%) e regressão de Poisson. As substâncias majoritárias para o OE de cravo foram o eugenol (76%), trans-cariofileno (19,9%) e α-humuleno (2,26%), para o OE de canela foram o *trans*-cinamaldeído (82,03%), *trans*-metoxicinamaldeído (9,5%) e eugenol (3,56%), para a alfavaca foram o eugenol (92,7%) e α-farneseno (6,08%). O teste *in vitro* evidenciou como CIM para os OE's 125 μg mL^{-1}, já para o eugenol e o *trans*-cinamaldeído 63,5 e 125 μg mL^{-1}, respectivamente. Os fungicidas formulados não interferiram no processo germinativo e vigor das sementes, e reduziram à incidência da doença, o OE de canela e o *trans*-cinamaldeido apresentaram similaridades ao fungicida Cercobin, já os OE's de cravo, alfavaca e o eugenol superaram o fungicida comercial.

Palavras-chave: Antracnose. *Colletotrichum lindemuthianum*. Óleos essenciais. *Phaseolus vulgaris*.

ABSTRACT

SILVA, Adriene Aparecida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa - Campus Rio Paranaíba, November, 2019. **Formulation of agroecological fungicide from essential oils and their components in the control of bean anthracnose.** Advisor: Geraldo Humberto Silva. Co-advisor: Willian Rodrigues Macedo.

The essential oils (EO's), are sources of bioactive compounds and have the potential to replace fungicides on controlling some phytopathogen, agents. Therefore, the aim of this work is evaluate the action EO's stracted from clove (*Syzygium aromaticum* L.), cassia cinnamom (*Cinnamomum cassia* L.) and sweet basil (*Ocimum gratissimum* L.) and their substances for the development of a natural fungicide that can controls anthracnosis. The characterization of the EO's obtained was performed by using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) technics on comparing the resulting spectra against NIST spectra library and calculating the arithmetic index by the published standards. The phytotoxicity of the EO's and the substances *in vitro* were evaluated at 5 different concentrations of soybean oil solubilized solutions in a completely randomized arrangement with 4 replications. The antifungic potential was performed using *in vitro* test, calculating the minimum inhibitory concentration (MIC) for spore germination, and by in vivo test carried out in an greenhouse, using 'BRSMG UAI' bean seeds, collected from plants displaying the disease symptoms, with their EO's and soybean oil solubilized substances, delineated in a randomized block design, with 3 replications. The collected data were analyzed by ANAVA, Scott-Knott test (5%) and Poisson regression annalysis. The main encountered substances from clove's EO were eugenol (76%), *trans*-caryophyllene (19.9%) and α-humulene (2.26%), from cinnamon's EO the main composition was *trans*-cinnamaldehyde (82.03%), trans-methoxycinmaldehyde (9.5%) and eugenol (3.56%), and from sweet basil's EO we have obtained eugenol (92.7%) and α-farnesene (6.08%). The in vitro test showed as MIC for the 125 μg mL^{-1} EO's, while on eugenol and trans-cinnamaldehyde 63.5 and 125 μg mL^{-1}, respectively. The formulated fungicides have shown no interferences on the seed germination and strenght, and reduced the disease incidence. Cinnamon and trans-cinnamaldehyde obtained compounds have showed similarities to commercial Cercobin fungicide, while the products resulting from clove, cinnamon and eugenol extracts have outperformed the commercial fungicide.

Keywords: Anthracnosis. *Colletotrichum lindemuthianum*. Essential oils. *Phaseolus vulgaris.*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Representação das estruturas dos compostos majoritários dos óleos essenciais de cravo-da-índia, canela cássia e alfavaca. (a) Eugenol (b) (E)-cariofileno (c) α-humuleno (d) (E)-cinamaldeído (e) (E)-metoxicinamaldeído (f) α-Farneseno. (ACD/Chemsketch, 2015) 31
Figura 2- Imagem representativa das plantas de feijão da cultivar BRSMG UAI (no último dia de avaliação) quando as sementes foram submetidas aos tratamentos controles e os fungicidas formulados. 45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição química e concentração relativa do óleo essencial de cravo-da-índia..... 28
Tabela 2. Composição química e concentração relativa do óleo essencial de canela cássia. 29
Tabela 3. Composição química e concentração relativa do óleo essencial de alfavaca. 30
Tabela 4. Valores médios dos parâmetros no teste de germinação e avaliação do vigor das sementes de feijão tratadas com os OE's de cravo, alfavaca e canela cássia. 33
Tabela 5. Valores médios dos parâmetros no teste de germinação e avaliação do vigor das sementes de feijão tratadas com as substâncias de (E)-cinamaldeído e eugenol. 35
Tabela 6. Concentrações inibitórias mínimas observadas para os OE's e substâncias sobre o *C. lindemuthianum.* 38
Tabela 7. Valores médios dos parâmetros no teste de emergência e avaliação do vigor das plantas de feijão, quando as sementes foram tratadas com os fungicidas formulados a partir dos óleos essenciais e suas respectivas substâncias majoritárias. 41
Tabela 8. Incidência da antracnose em plantas de feijão do tipo carioca, da cultivar BRSMG UAI oriundas de sementes tratadas com tratamentos controles e os fungicidas formulados a partir dos OE's e suas substâncias majoritárias. 42

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Percentual da incidência da antracnose em plantas de feijão do tipo carioca, da cultivar BRSMG UAI oriundas de sementes tratadas com os controles e os fungicidas formulados. 43

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO 14

2- OBJETIVOS 15

2.1- Objetivo geral 15

2.2- Objetivos específicos 15

3- REFERÊNCIAL TEÓRICO 15

3.1- A cultura do feijão no Brasil 15

3.2- A antracnose do feijoeiro 16

3.3- Controle da antracnose no feijão 18

3.4- Óleos essenciais no controle de doenças de plantas 19

3.4.1- C*innamomum cassia* L. 20

3.4.2- *Syzygium aromaticum* L. 20

3.4.3- *Ocimum gratissimum* L. 21

4- PARTE EXPERIMENTAL 21

4.1- Obtenções dos óleos essenciais e das substâncias puras 21

4.2- Análises da composição química dos óleos essenciais 22

4.3- Avaliação da fitotoxicidade *in vitro* dos óleos essenciais em sementes de feijão 23

4.4- Avaliação da fitotoxicidade *in vitro* das substâncias majoritárias referentes aos óleos essenciais em sementes de feijão 24

4.5- Obtenção do isolado fitopatogênico de *Colletotrichum lindemuthianum* 24

4.6- Obtenção do inóculo para o teste *in vitro* 24

4.7- Avaliação do potencial antifúngico *in vitro* dos OE's e as substâncias majoritárias sobre o fungo *Colletotrichum lindemuthianum* 25

4.8- Avaliação do potencial antifúngico *in vivo* dos OE's e as substâncias no controle da antracnose 26

4.8.1- Parâmetros avaliados 26

4.8.1.1- Emergência e Índice velocidade emergência 26

4.8.1.2- Incidência da doença **26**

4.8.1.3- Análise estatística **27**

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO **28**

5.1- Composição química dos óleos essenciais **28**

5.2- Avaliação da fitotoxicidade *in vitro* dos óleos essenciais e substâncias em sementes de feijão **32**

5.3- Avaliação do potencial antifúngico *in vitro* dos óleos essenciais e as substâncias majoritárias sobre o fungo *Colletotrichum lindemuthianium* **37**

5.4- Avaliação do potencial antifúngico *in vivo* dos óleos essenciais e as substâncias no controle da antracnose **40**

6- CONCLUSÕES **45**

REFERÊNCIAS **46**

1- INTRODUÇÃO

O cultivo e manejo de leguminosas, há tempos, é um dos carros chefe da agricultura brasileira. O Brasil é o terceiro maior produtor e primeiro consumidor mundial de feijão Phaseolus (CONAB, 2019). Este cultivo é atingido por diversas patologias que dificultam o manejo, retardando o desenvolvimento desta cultura. Um dos patógenos que trazem malefícios para a agricultura é o fungo causador da antracnose, que tem um histórico devastador em cultivos de feijoeiros no Brasil (ZAMBOLIM; CHAVES, 1978).

O fungo *Colletotrichum lindemuthianum*, responsável pela doença da antracnose, pode permanecer nas sementes e até mesmo sobreviver em restos de culturas, contaminando futuros cultivos (BIANCHINI et al., 1997). A contaminação também pode ocorrer por outras vias, como, através dos ventos e chuvas. Além da facilidade de contaminação por este fungo, para agravar sua incidência, algumas regiões de grande produção de feijão apresentam temperaturas entre 13 e 27 °C e umidade relativa do ar acima de 91%, o que se caracteriza como condições ótimas para a sua proliferação (BARBOSA; GONZAGA, 2012). Devido à importância desta leguminosa para o ser humano, estudos relacionados a este fungo vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de diminuir sua incidência ou até mesmo de aumentar a resistência do feijão a este patógeno (CRUZ, et al., 2014; GADAGA, 2009; COSTA, 2015).

Os métodos de controle deste fungo utilizados atualmente têm trazido grandes preocupações a órgãos ambientais e de saúde, uma vez que consistem na utilização, na maioria das vezes de forma indiscriminada, de agrotóxicos, que, além de prejudicar o meio ambiente e o ser humano, tem selecionado variantes deste fungo mais resistentes ao tratamento (GHINI; KIMATI, 2000). A tendência é que dentro de um curto prazo, tais métodos de controle passem a ser ineficientes, e, devido a isto, agrotóxicos com maior poder destrutivo e em maiores quantidades tendem a ser usados. Métodos alternativos e naturais de controle, tendem a ser mais sustentáveis, além de que podem trazer maior eficiência e menor custo de produção e aplicação. Sendo assim, estudos que tangem métodos sustentáveis têm atraído a atenção de pesquisadores e produtores de várias regiões, mostrando um caminho a ser seguido pela pesquisa brasileira. (LOPES; ALBUQUERQUE, 2018; MAIA et al., 2015)

Diante do exposto, produtos naturais como extratos de plantas e óleos essenciais vêm sendo testados como alternativa no tratamento de sementes. Os óleos essenciais possuem metabólitos secundários, apresentando diversas atividades biológicas que podem ser uma opção no controle de fitopatógenos (CUNHA, 2015; SILVA, 2014;

OOTANI et al., 2013).

2- OBJETIVOS

2.1- Objetivo geral

Avaliar o potencial dos óleos essenciais de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.) e canela cássia (*Cinnamomum cássia* L.) já disponíveis no mercado, conjuntamente com óleo de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.) e suas substâncias constituintes no controle do fungo patogênico *Colletotrichum lindemuthianum* causador da antracnose do feijoeiro, para o desenvolvimento de um fungicida agroecológico menos tóxico que os já disponíveis no mercado para uso na agricultura convencional e orgânica.

2.2- Objetivos específicos

- Determinar a composição química dos óleos essenciais de cravo, canela cássia e alfavaca via cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).
- Avaliar a fitotóxicidade dos óleos essenciais e suas substâncias majoritárias em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*).
- Empregar o fitopatógeno *C. lindemuthianum* como modelo para a realização deste trabalho, já que este fungo apresenta ampla distribuição no território nacional e causa perda na cultura do feijão, uma cultura de grande importância para o país e, em particular, para o Estado de Minas Gerais.
- Selecionar óleos essenciais com potencial antifúngico contra o fungo *C. lindemuthianum* e formular um fungicida para o controle da antracnose do feijoeiro.

3- REFERÊNCIAL TEÓRICO

3.1- A cultura do feijão no Brasil

O Brasil se destaca como o terceiro maior produtor mundial de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) sendo que no MERCOSUL é o principal produtor e consumidor desta leguminosa. Com uma crescente produção na região centro-sul do país (CONAB, 2019), sendo o feijão carioca e o feijão preto as variedades mais consumidas (RABELO et al., 2017).

O feijoeiro comum é o mais cultivado dentro do gênero Phaseolus (BARROS, 2011; FERREIRA et al., 2003) e desempenha um papel importante na alimentação populacional. No Brasil é um dos alimentos mais consumidos, pois essa leguminosa

possui propriedades nutricionais e funcionais capazes de atender muitas necessidades básicas de alimentação da população humana, destacando-se, como fonte proteica (MIORANZA, 2018).

A produção desse grão é difundida em todo o território nacional, sendo semeados em três safras. A primeira é denominada como safra das águas, realizada entre nos meses de agosto e novembro e colheita entre novembro e fevereiro. A segunda safra ou safra da seca é a qual a semeadura é realizada entre os meses de janeiro e março, a colheita é realizada de março a junho. Já a terceira safra ou safra do inverno, tem a semeadura entre os meses de abril e julho, e colheita de julho a outubro (SILVA; WANDER, 2013).

Diferentes fatores influenciam na cultura do feijoeiro comum, sendo as doenças, as que mais afetam sua produtividade. A mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*), a murcha-de-*fusarium* (*Fusarium oxysporum*), a podridão-radicular-seca (*Fusarium solani*), o mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) e a antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) são algumas das dez principais doenças fúngicas que acometem a cultura do feijoeiro. Devido à severidade destas doenças, faz-se necessário a utilização de medidas que possam minimizar prejuízos econômicos. Os fungicidas químicos são os produtos mais utilizados atualmente (PAULA JUNIOR et al., 1998; CROUS et al. 2006; SARTORATO; RAVA, 1994; GARCIA et al., 2002), porém são produtos que podem ser nocivos ao meio ambiente e a saúde humana ao serem manuseados de forma intensiva, logo os produtos naturais surgem como uma possibilidade viável para o controle de doenças fúngicas, pois podem trazer maior eficiência e um menor custo de produção atrelado à diminuição de defensivos agrícolas (CUNHA, 2015; SILVA, 2014; OOTANI et al., 2013).

3.2- A antracnose do feijoeiro

A antracnose do feijoeiro, cujo agente etiológico é o fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc & Magn.) Briosi & Cav., é uma das doenças mais destrutivas da cultura do feijoeiro comum, podendo ocasionar perdas totais das plantações, principalmente quando infecta as plantas nos estádios iniciais de seu desenvolvimento (RAVA; SARTORATO, 1994). Este fungo se reproduz de duas formas, assexuada ou imperfeita e sexuada ou perfeita.

O fungo *C. lindemuthianum* se reproduz assexuadamente, produzindo os conídios ou esporos assexuais, num corpo de frutificação chamado acérvulo (SUTTON, 1992), apresentando micélio septado e ramificado, e sua coloração, à medida que envelhece,

varia de hialina à quase negra (VIÉGAS 1946; RAVA; SARTORATO, 1994; GADAGA, 2017).

Este fungo também se reproduz de forma sexuada, sendo classificado como *Glomerella cingulata* (Stonem Spauld & V. Schrenk f.sp. phaseoli). Nesta fase o fungo produz peritécio e ascos, dentro dos quais se originam os esporos, denominados de ascósporos (RAVA; SARTORATI, 1994). Nesta fase perfeita o fungo dificilmente é encontrado na natureza (CAMARGO JÚNIOR, 2004).

A principal forma de disseminação do fungo *C. lindemuthianum* é a partir de sementes contaminadas, entretanto, este patógeno pode ser propagado pelo homem, respingos de chuva e por animais (DA SILVA, 2011; DA SILVA; POZZA, 2016). A antracnose é comumente encontrada em regiões de clima com temperatura entre 13 e 27ºC e umidade relativa acima de 90%, sendo amplamente encontrada em regiões onde a cultura do feijoeiro é difundida. No Brasil os estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Bahia e Pernambuco, por serem os principais produtores, são os que apresentam os maiores índices de incidência da doença (RAVA; SARTORATO, 1994).

O patógeno *C. lindemuthianum* é um fungo necrótico, que consegue sobreviver de um cultivo a outro por se alojar no interior do tegumento da semente e permanecer dormente até o plantio, ou pela presença do mesmo em restos culturais, na forma de esporos, podendo permanecer no solo por até 24 meses (BARBOSA; GONZAGA, 2012; DA SILVA, 2011). A antracnose além de ocasionar perdas na produção, pode depreciar a qualidade do produto devido às manchas provocadas nos grãos. A incidência da doença é ainda mais severa quando se utiliza sementes infectadas com o patógeno ou cultivares suscetíveis sob condições ambientais favoráveis ao progresso das epidemias dessa doença (DA COSTA et al., 2003; NETO et al., 2016).

Os sintomas causados pela antracnose podem ser observados a partir de lesões que aparecem nos órgãos aéreos da planta como hipocótilo, pecíolo, caule, folhas, vagens e também nas sementes (CHAVES, 1980). Após 6 a 9 horas de contato com a planta, os conídios, em condições favoráveis, germinam e penetram pela cutícula e epiderme do hospedeiro. As lesões podem ser observadas a partir do quinto dia do início da infecção (GARCIA et al., 2007; KIMATI et al., 1997; CHAVES, 1980; DALLA PRIA et al., 2003). Na infecção proveniente de semente os primeiros sintomas surgem nas folhas cotiledonares ou nos cotilédones, na forma de lesões necróticas. As lesões foliares ocorrem, inicialmente, na parte inferior das folhas e em toda a extensão das nervuras

principais na forma de pequenas manchas de cor vermelho-alaranjado à púrpura, tornando-se, posteriormente, de cor escura. Nas vagens, as lesões são circulares, deprimidas, de coloração marrom e delimitadas por um anel pardo com borda laranja avermelhado (PASTOR-CORRALES; TU, 1989).

3.3- Controle da antracnose no feijão

Algumas alternativas para o controle da antracnose podem ser utilizadas, como o uso de sementes de boa qualidade e rotação de culturas. Entretanto, o método ideal para o controle da antracnose seria o uso de cultivares resistentes obtidas pelo melhoramento genético. No entanto o desenvolvimento de cultivares resistentes à antracnose é dificultado pela existência de muitas raças fisiológicas e a alta variabilidade até mesmo dentro das raças de *C. lindemuthianum* (BONETT et al., 2008; COÊLHO et al., 2016; DAMASCENO e SILVA et al., 2007). Desta forma, uma das principais medidas de controle para a antracnose na cultura do feijoeiro é a aplicação de fungicidas (SANTINI et al., 2005, GARCIA et al., 2002).

A aplicação de fungicidas é uma medida de controle amplamente utilizada pelos agricultores, tanto no tratamento de sementes como na aplicação foliar na cultura do feijoeiro, pois são eficientes no controle desta doença, mesmo levando em consideração que estes podem causar prejuízos ao meio ambiente e além de desenvolver resistência aos defensivos agrícolas, devido à alta variabilidade do *C. lindemuthianum* (VIDIGAL FILHO et al., 2007; BERNARDES et al., 2010).

Dentre os princípios ativos liberados para o controle da antracnose do feijoeiro se destacam os: Acibenzolar-s-metil, Azoxistrobina, Captan, Carbendazim, Clorotalonil, Mancozeb, Oxicloreto de cobre, Óxido cuproso, Propiconazol, Quintozeno, Tebuconazol, Tiofanato metílico e Tolifluanida (COMISSÃO ESTADUAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 2000).

Porém, estes produtos vêm sendo aplicados de forma intensiva, causando prejuízos por apresentarem forte ação tóxica para o homem, para organismos benéficos para a planta cultivada e para o ambiente em geral (GHINI; KIMATI, 2000; PAULA JÚNIOR et al., 2005, KASHYAP et al., 2014; QIAO et al., 2015; LUCAS et al., 2012; OKA et al., 2015). Diante disto, percebe-se a necessidade de métodos alternativos que remetem à diminuição, ou até mesmo a total substituição, do uso destes compostos químicos sintéticos na produção agrícola (SARMENTO-BRUM et al., 2014). Logo, os extratos de plantas e óleos essenciais surgem como alternativa de produtos naturais para

o controle da antracnose.

3.4- Óleos essenciais no controle de doenças de plantas

Os óleos essenciais (OE's) são produtos originados do metabolismo secundário das plantas, contém estrutura química e propriedades biológicas variadas, são obtidos por várias técnicas de extração, das quais as mais usuais são por arraste a vapor, hidrodestilação, extração por solvente, fluido supercrítico ou ainda pela prensagem do pericarpo de frutos cítricos. São constituídos geralmente por monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides, podendo ser encontrados nas flores, sementes, folhas, cascas, rizomas e frutos (CRAVEIRO; QUEIROZ 1993; BIZZO, 2009; ABDOLAHI et al., 2010). Possuem várias aplicações especialmente nas indústrias farmacêutica, alimentícia e agrícola, uma vez que são fontes de vários compostos bioativos, apresentando ação bactericida, antiviral, inseticida, fungicida entre outros. Devido a estas propriedades, o uso de óleos essenciais tem se difundido como alternativa aos produtos sintéticos (JURADO et al., 2015; PANDEY et al., 2017).

A grande diversidade de plantas da flora brasileira capazes de produzir óleos essenciais com composição química variada tem despertado interesse de vários pesquisadores em avaliar a ação destes para o controle de fitopatógenos em diversas culturas. A literatura traz diversos relatos sobre a atividade de óleos essenciais de plantas sobre bactérias e fungos, além de relatos sobre o efeito alelopático, que podem ativar mecanismos de defesa das plantas aos patógenos (ABDOLAHI et al., 2010; BASTOS; ALBUQUERQUE, 2004; CARNELOSSI et al., 2009; OOTANI, 2010).

Alguns trabalhos desenvolvidos com extratos brutos ou óleos essenciais, obtidos a partir de plantas, têm indicado o potencial das mesmas no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta quanto pela indução de resistência, indicando a presença de compostos com características de elicitores (KNAAK; FIUZA, 2010; DE MORAIS, 2009; FERRAZ e FREITAS 2008; OOTANI et al., 2013; SOUZA et al., 2007; HILLEN et al., 2012; ROMERO et al., 2009; TZORTZAKIS et al., 2007).

Assim, a utilização de óleos essenciais pode se tornar um importante método para o controle de fitopatógenos, pois eles podem agir como protetores naturais no controle integrado às doenças de várias culturas, contribuindo para a redução do uso de fungicidas sintéticos e, consequentemente, um menor impacto ambiental (FONSECA et al., 2015; MAIA et al., 2015).

3.4.1- C*innamomum cassia* L.

A planta *cinnamomum cassia*, pertencente à família *Lauraceae*, é popularmente conhecida como canela cássia, canela-da-china, canela chinesa, canela-aromática ou até mesmo por cássia (ZANARDO, 2015). Esta espécie é considerada como uma das mais importantes dentre a variedade de *cinnamomum* por apresentar propriedades medicinais (GENG et al., 2011). É nativa da China, porém encontrada em outros países como Índia, Malásia, Madagascar e Vietnã (JANTAN et al., 2008; LI et al., 2013a).

Vários estudos vêm sendo desenvolvidos com o óleo essencial obtido da planta de *C. cassia* pela diversidade de sua composição química. Este óleo pode ser obtido a partir de suas folhas, galhos, sementes e cascas. (LI et al., 2013b). Por apresentar aroma característico e propriedades importantes, a canela é utilizada amplamente em bebidas, temperos, alimentos, cosméticos e com grande uso na indústria farmacêutica, se destacando como um produto natural e fonte de substâncias bioativas (ZANARDO et al., 2014; ALMEIDA et al., 2011).

Esta planta por apresentar propriedades medicinais é utilizada no tratamento de gastrite, diabetes, pressão alta, náuseas, distúrbios da circulação sanguínea e possui atividade anti-inflamatória, antioxidantes, antibacteriana e antifúngica (YANG et al., 2012; GIORDANI et al., 2006; CHANG et al., 2001; KHAN et al., 2003).

3.4.2- *Syzygium aromaticum* L.

O cravo-da-índia, craveiro-da-índia ou simplesmente cravo, como é conhecido, pertence à família das mirtáceas (*Myrtaceae*). As espécies desta família são constituídas por 140 gêneros e aproximadamente 3000 espécies, além de serem ricas em OE's (CERQUEIRA et al., 2009). O seu nome científico atual é *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry, porém, têm como sinônimos botânicos *Eugenia caryophyllus* (Sprengel) Bullok et Harrison, *Caryophyllus aromaticus* L., *Eugenia Caryophyllata* Tumb e *Eugenia aromática* (L.) Baill (MAEDA et al., 1990).

Segundo a literatura, esta espécie vegetal é originária das ilhas Molucas, pertencentes à Indonésia, mas é encontrada também na América latina em regiões de clima tropical, inclusive no Brasil, mais precisamente na região sul da Bahia (MAEDA et al., 1990; MANON, 2002; OLIVEIRA et al., 2008).

É uma árvore de ciclo perene, conseguindo sobreviver por até 100 anos, chega a alcançar alturas de até 12 metros. O seu óleo essencial pode ser obtido a partir de suas folhas, galhos e talos (ALMA et al., 2007). Apresenta propriedade antioxidante,

inseticida, antimicrobiana, anestésica, anti-inflamatória e antisséptica. (SILVESTRI et al., 2010; MANON, 2002; ASCENSÃO; FILHO, 2013). É comumente usada na culinária por seu aroma e sabor característico além de ser indicado para o alívio de náuseas e indigestões a partir de chá feito com suas folhas e, por ser um potente anestésico, é amplamente utilizado para o alivio de dores dentárias através da mastigação de seus talos.

3.4.3- *Ocimum gratissimum* L.

A Alfavaca é pertencente à família *Lamiaceae*, denominada cientificamente por *Ocimum gratissimum* L. e é popularmente conhecida como alfavacão, manjericão-doce, alfavaca cravo e favacão (PEREIRA et al., 2011; MARTINS et al., 2014; ALVAREZ et al., 2013; COSTA et al., 2011b).

É originária da Ásia, sendo encontrada também na África, Europa, América Central e América do Sul e tem ampla distribuição no Brasil, principalmente na região Nordeste (VIEIRA et al., 2002; MARTINS et al., 2010; ALMEIDA et al., 2003; RABELO et al., 2003), e é facilmente reconhecida pelo seu aroma característico, que lembra o cravo-da-índia.

Esta planta tem grande potencial econômico, principalmente na indústria farmacêutica, devido à variedade de substâncias bioativas encontradas em sua composição química, apresentando propriedades antifúngica, antimicrobiana, analgésica e antiséptica (MORAIS et al., 2005; SILVA et al., 2006; PEREIRA; MOREIRA, 2011). Popularmente é utilizada em forma de chá para tratamento de dores de cabeça, tosse, gastrite, gripe, inflamações da boca e garganta (GRANDI et al., 1989; SILVA et al., 2006).

Por apresentarem propriedades biológicas diversas, os óleos essenciais podem ser usados na agricultura como uma alternativa natural aos produtos sintéticos para o combate a pragas que acometem várias culturas.

4- PARTE EXPERIMENTAL

4.1- Obtenções dos óleos essenciais e das substâncias puras

Os óleos essenciais comerciais de cravo (*Syzygium aromaticum* L.) e canela cássia (*Cinnamomum cassia* L.) foram adquiridos da empresa Ferquima Indústria e comércio LTDA.

A obtenção do óleo essencial de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.) foi feito através da extração, realizada pelo método de hidrodestilação, utilizando-se um aparelho

Clevenger. As folhas frescas (185 g) foram trituradas juntamente com 400 mL de água e transferidas para um balão de 1000 mL, o tempo de extração foi de 90 minutos após a primeira gota.

Além dos óleos essenciais citados, foram utilizadas suas respectivas substâncias majoritárias, o eugenol e *trans*-cinamaldeído, que foram obtidas da empresa Sigma-Aldrich com uma pureza ≥99% e densidade de 1,067 g/mL e 1,05 g/mL, respectivamente. Os óleos essenciais foram armazenados na geladeira até a análise da composição química e realização dos testes biológicos.

4.2- Análises da composição química dos óleos essenciais

Os óleos essenciais foram analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), em um equipamento modelo QP2010 (Shimadzu), nas seguintes condições: 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 arraste com fluxo de 1,0 mL por minuto. Temperatura do injetor de 220 ºC, a temperatura inicial da coluna foi de 60 ºC, com programação para aumento de 2 ºC por minuto até atingir a temperatura de 200 ºC, e de 5 ºC por minuto até a atingir temperatura máxima de 250 ºC. Os espectros de massas foram obtidos por impacto de elétrons a 70 eV, com varredura de 29 a 400 (m/z). Sendo injetado 1 µL da solução do óleo preparada na concentração de 10 mg/L com razão de split de 1:20. A identificação dos compostos foi realizada por comparação dos espectros de massas com os disponíveis no banco de dados da espectroteca NIST, interpretação visual dos espectros de massas e comparação dos índices de retenção com os índices aritméticos (AI), que foram calculados através da equação 1. Para o cálculo dos índices aritméticos, foi injetada no cromatógrafo uma mistura de alcanos lineares (C9 a C17). O AI foi calculado para cada composto e comparado com valores da literatura (ADAMS, 2007).

Equação 1:

$$AI(x) = 100Pz + 100\,[\{RT(x) - RT(Pz)\}/\{RT(Pz+1) - RT(Pz)\}]$$

Onde:

X - Composto de interesse;

Pz - número de átomos de carbono do hidrocarboneto com tempo de retenção imediatamente anterior ao tempo de retenção de X;

RT(x) - tempo de retenção de X;

RT(Pz) - tempo de retenção de Pz;

RT(Pz+1) - tempo de retenção do hidrocarboneto com tempo de retenção imediatamente posterior ao tempo de retenção de X.

O percentual relativo de cada composto foi calculado através da razão entre área de cada pico com a área total de todos os constituintes da amostra.

4.3- Avaliação da fitotoxicidade *in vitro* dos óleos essenciais em sementes de feijão

A avaliação do efeito fitotóxico dos óleos essenciais de cravo-da-índia, canela cassia e alfavaca foram realizados por meio do teste de germinação, seguindo as Normas para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Para a realização do mesmo, sementes da cultivar pérola, foram previamente sanitizadas com NaClO (2%), por dois minutos. Após a secagem sobre folhas de papel filtro esterilizadas, as mesmas foram submetidas aos tratamentos com os fungicidas formulados contendo os óleos essenciais solubilizados em óleo de soja nas concentrações de 10, 100, 500 e 2000 µg/mL, aplicados na dose de 40 mL/kg de semente, água e óleo de soja foram utilizados como controle.

Os ensaios de germinação foram realizados em câmara de germinação do tipo BOD a temperatura de 25 ºC, utilizando o método do papel germitest®, previamente esterilizados a 105 °C por 2 horas. Sendo semeadas 50 sementes por rolo, dispostos em delineamento inteiramente casualizados com quatro repetições, o papel germitest® foi previamente umedecido com água destilada numa proporção de 2,5 vezes a massa seca do papel.

A taxa de germinação foi verificada a cada 24 horas durante sete dias possibilitando a avaliação da velocidade de germinação, anotando-se, diariamente, no mesmo horário, o número de plântulas que apresentaram protrusão de radícula durante os dias de avaliação. Ao final do teste, com os dados diários do número de sementes germinadas, foi calculado o índice de velocidade de germinação, empregando-se a fórmula proposta por Maguire (1962):

$$IVG = G1/N1 + G2/N2 + ... + Gn/Nn$$

Onde:

IVG - índice de velocidade de germinação;

G1, G2, Gn - número de plântulas germinadas na primeira, segunda, até a última contagem;

N1, N2, Nn - número de dias da semeadura desde a primeira, segunda, até a última contagem.

Ao sétimo dia pôde ser contabilizado o número de plântulas anormais, normais e

sementes mortas, os resultados foram expressos em porcentagem (BRASIL, 2009). Ainda no sétimo dia após a montagem do teste, foi mensurado o comprimento de 10 plântulas aleatórias de cada repetição, por tratamento, com auxílio de uma régua milimetrada, aferindo o comprimento da parte aérea e da raiz de plântulas de feijão. Na sequência pôde ser determinada a massa úmida das plântulas com uma balança de precisão analítica (0,0001g) e posteriormente estas foram alocadas em estufa regulada a 70ºC para secar, após atingirem peso constante, obtido em 48 horas, foram pesadas a fim de se obter a massa seca. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade, com auxílio do software Sisvar (FERREIRA, 2011).

4.4- Avaliação da fitotoxicidade *in vitro* das substâncias majoritárias referentes aos óleos essenciais em sementes de feijão

Foi utilizada a metodologia anterior, porém ambas as substâncias na dosagem de 80% da solução final, obtendo desta forma concentrações relativas próximas às encontradas nos óleos essenciais para cada substância majoritária, gerando as concentrações de 8, 80, 400 e 1600 μg/mL.

Os testes envolvendo os fungicidas formulados a partir dos óleos essenciais e das substâncias foram realizados em diferentes dias, por questões práticas

4.5- Obtenção do isolado fitopatogênico de *Colletotrichum lindemuthianum*

Para este trabalho, foi utilizado o isolado LV 238 da raça 65 de *C. lindemuthianum* pertencente à micoteca do Laboratório de Resistência de Plantas a Doenças do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

4.6- Obtenção do inóculo para o teste *in vitro*

O fungo *C. lindemuthianum* (raça 65) foi repicado para meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), cultivado na temperatura de 23°C por dez dias. Em seguida, foi repicado para tubos de vidro contendo vagens de feijoeiro previamente esterilizadas, parcialmente embebidas em Agar, e mantidas em incubadora à temperatura de 23°C por 12 dias. Após o período de incubação, as vagens foram esmagadas em água estéril e obtida uma suspensão de esporos (CÁRDENAS et al., 1964), a concentração foi ajustada para $1{,}2 \times 10^6$ conídios/mL, com o auxílio da câmara de Neubauer. Esta suspensão foi utilizada para a realização do teste *in vitro*.

4.7- Avaliação do potencial antifúngico *in vitro* dos OE's e as substâncias majoritárias sobre o fungo *Colletotrichum lindemuthianum*

Para a avaliação do potencial antifúngico dos óleos essenciais, inicialmente em um tubo Eppendorff de 2 mL, foram adicionados 10 µL de cada óleo essencial, mais 62,5 µL de Dimetilsulfóxido (DMSO). Essa solução obtida foi, então, diluída com 1187.5 microlitros de meio M3S (composto por 10 g de sacarose, 2,7 g de KH_2PO_4, 2,5 g de $MgSO_4.7H_2O$, 1,0 g de peptona e 1,0 g de extrato de levedura por litro de água destilada) até a concentração de 8000 µg/mL (foi assumida densidade igual a 1g/mL). Posteriormente 100 µL de cada solução de OE em DMSO+M3S foi colocado em dois tubos Eppendorf de 1,5 mL, ao conteúdo do segundo tubo foram adicionados 100 µL de meio M3S e, após homogeneização do conteúdo do tubo, 100 µL foram retirados do seu interior e transferidos para um terceiro tubo Eppendorff. O mesmo procedimento foi repetido com o terceiro tubo, até que fossem obtidos no total 8 tubos com concentrações de cada OE iguais a 8000, 4000, 2000, 1000, 500, 250, 125 e 62,5 µg/mL. Todos os tratamentos foram avaliados com duas repetições. A cada 100 µl da solução (óleo+DMSO+MeioM3S), contida em cada tubo Eppendorff, foram adicionados 100 µl da suspensão de esporos (raça 65 de *C. lindemuthianum*) na concentração 1.2 x 10^6 conídios/mL. Portanto o volume final de cada tubo foi de 200 microlitros. Vale mencionar que a concentração de DMSO em cada Eppendorff, após a adição de suspensão de esporos foi de 2,5%. Além disso, foi testado o óleo de soja comercial nas mesmas condições descritas acima.

Foram utilizados dois tratamentos controles. O primeiro envolveu o fungicida comercial Cercobin 700WP, contendo o ingrediente ativo tiofanato-metílico na concentração de 700 g/kg. Para isso, 0.7 mg do Cercobin foram diluídos em 50 µL de DMSO para a obtenção de uma solução, que foi diluída com 950 µL de M3S até que a concentração do tiofanato metílico fosse de 490 µg/mL. Depois se empregou o mesmo procedimento descrito acima para os óleos, de tal forma que as concentrações finais de tiofanato-metílico variassem de 15,3 a 490 µg/mL (concentração final após a combinação com a suspensão de esporos do fungo). Já o segundo controle consistiu na solução de 100 µL de suspensão de esporos em 95 µl de meio M3S e 5 µl de DMSO.

Para a realização do experimento com as substâncias, foi adotada a mesma metodologia realizada para os OE's, porém as concentrações finais de cada substância foram 2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5 e 31,25 µg/mL.

Os tubos de Eppendorff foram mantidos em BOD, no escuro, na temperatura de

23°C, por 5 dias. Observou-se visualmente se havia algum crescimento fúngico. Foi considerada mínima (CIM) a menor concentração da amostra no Eppendorff, após a adição da suspensão de esporos, que evitou o crescimento fúngico.

4.8- Avaliação do potencial antifúngico *in vivo* dos OE's e as substâncias no controle da antracnose

Para avaliação do potencial antifúngico *in vivo*, sementes de feijão (*P. vulgaris*) da cultivar BRSMG UAI d, suscetível a antracnose, foram coletadas na área experimental da UFLA (Lavras, MG), em plantas apresentando sintomas de antracnose nas vagens e folhas. Posteriormente as sementes foram submetidas a cinco tratamentos com os óleos de cravo, alfavaca, canela cássia (cada um na concentração 2000 µg/mL), suas substâncias majoritárias eugenol e (E)-cinamaldeído (ambos na concentração de 1600 µg/mL), e os controles, tiofanato metílico (1g/kg de sementes), óleo de soja e água. Todos os tratamentos, exceto o controle com o fungicida, foram aplicados na dosagem de 40 mL/kg de sementes. As sementes tratadas foram semeadas na profundidade de 3,0 cm em vasos de 3,5 litros contendo uma mistura de substrato Plantmax® e solo (1:2). Cada tratamento consistiu em 60 plantas. O delineamento foi em blocos casualizados com três repetições.

4.8.1- Parâmetros avaliados

4.8.1.1- Emergência e Índice velocidade emergência

O número de sementes germinadas foi avaliado diariamente, desde a emergência da primeira plântula até a estabilização do estande por três dias consecutivos, quando os cotilédones apareciam acima do substrato. Com base nessas informações foi calculado o IVE, por meio da fórmula descrita por Maguire (1962).

$$IVE = E1/N1 + E2/N2 +...+ En/Nn$$

Onde:

IVE - índice de velocidade de emergência;

E1, E2, Em - número de plântulas emergidas na primeira, segunda e última contagem;

N1, N2, Nn - número de dias a partir da semeadura.

4.8.1.2- Incidência da doença

A incidência da doença foi avaliada aos 0º, 3º, 6º, 9º, 12º, 15º, 18º e 21º dias após o primeiro sintoma da doença, onde foi realizada a contagem de plantas com sintomas da antracnose nas folhas e hastes.

Para o cálculo da incidência foram consideradas o número de plantas infectadas e

sadias, e a porcentagem de incidência foi calculada conforme a formula abaixo.

$$\text{Incidência}(\%) = \frac{\text{numero de plantas infectadas}}{\text{número de plantas avaliadas}} * 100$$

Após a avaliação final da incidência da doença, a parte aérea das plantas de todos os tratamentos foram coletadas e postas em sacos de papel, para mensurar a massa úmida e massa seca de parte aérea das plantas. Posteriormente, após a coleta, foram pesadas afim de obter a massa úmida e alocadas em estufa regulada a 70ºC para secar, até atingir peso constante, obtido em 48 horas. Em seguida, estas foram pesadas para a obtenção da massa seca. Os resultados foram expressos em gramas/plantas emergidas (OLIVEIRA et al., 2009).

4.8.1.3- Análise estatística

Os dados obtidos em relação à emergência, índice de velocidade de emergência, massa úmida e massa seca foram submetidos à análise de variância pelo teste F. Para a incidência de doença foi realizada a análise de variância no esquema de parcelas subdivididas no tempo. As médias foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, sendo as análises realizadas no software Sisvar (FERREIRA, 2011). Para verificar o fator dias, foi realizada a análise de regressão de Poisson utilizando o Modelo Linear Generalizado utilizando o Software R (R Core Team, 2019).

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1- Composição química dos óleos essenciais

A composição química determinada por CG-EM, apresentou os compostos listados nas tabelas 1 a 3, para os óleos essenciais de cravo, canela cassia e alfavaca cravo.

Tabela 1- Composição química e concentração relativa do óleo essencial de cravo-da-índia.

Índice Calculado	Índice da literatura*	Concentração %	Similaridade %	Composto
900	-	0,25	-	NI
1357	1356	76,18	94	Eugenol
1411	1417	19,9	96	E-Cariofileno
1419	-	0,2	-	NI
1440	1439	0,19	84	Aromandendrene
1444	1452	2,26	96	α-Humuleno
1523	1521	1,02	97	Acetato de Eugenol

NI representam os valores não encontrados na literatura.

* (ADAMS, 2007)

De acordo com os dados descritos na tabela 1, é possível observar que o OE de cravo apresenta 7 constituintes químicos, porém, apenas 5 foram identificados, representando 99,55% do OE. Os constituintes majoritários foram Eugenol (76,18%), (E)-cariofileno (19,9%) e α-Humuleno (2,26%).

Jirovetz et al. (2006) analisando a composição química do óleo essencial de cravo na Alemanha, identificou como constituintes majoritários o eugenol (76,8%), (E)-cariofileno (17,4%), α-Humuleno (2,1%), resultado muito semelhante com o deste trabalho. Já Silvestri et al. (2010) analisaram o OE comercial adquirido em Erechim, Rio Grande do Sul, encontraram o eugenol (90,3%), (E)-cariofileno (4,83%) e acetato de eugenol (1,87%), os componentes majoritários evidenciados por Costa et al. (2011a) em plantas coletadas em Goiânia, foram o eugenol (83,6%), acetato de eugenila (11,6%) (E)-cariofileno (4,2%). Gomes et al. (2018) utilizando botões florais adquiridos do supermercado da rede varejista de São Luís (MA) caracterizaram como as principais substâncias o eugenol (52,53%) e o cariofileno (37,25%)

Na literatura o OE do cravo-da-índia é referenciado quanto à atividade biológica

frente a algumas doenças provocadas por fungos e bactérias, tal fato é ocasionado pela presença das substâncias majoritárias encontradas em sua composição (SCHERER et al., 2009; MARIATH et al., 2006; HEMALATHA et al., 2016).

No óleo essencial de canela cassia foram encontrados 10 constituintes químicos, sendo as substâncias majoritárias o (E)-cinamaldeído (82,03%), (E)-o-metoxicinamaldeído (9,49%) e o eugenol (3,56%), como pode ser observado na tabela 2, a seguir.

Tabela 2. Composição química e concentração relativa do óleo essencial de canela cássia.

Índice Calculado	**Índice da literatura***	**Concentração Relativa (%)**	**Similaridade (%)**	**Composto**
955	952	0,974	94	Benzaldeído
1110	-	0,227	-	NI
1238	1239	0,43	92	o-Anisaldeído
1269	1267	82,03	97	(E)-Cinamaldeído
1353	1356	3,56	94	Eugenol
1368	1374	0,28	78	α-Copaeno
1410	1417	0,35	93	E-Cariofileno
1427	-	1,28	-	NI
1440	1443	1,27	95	E-Acetato de cinamilo
1524	1527	9,49	97	(E)-o-metoxicinamaldeído

NI representam os valores não encontrados na literatura.

* (ADAMS, 2007)

Souza et al.(2016) encontraram no óleo essencial comercial de canela como principais substâncias o (E)-cinamaldéido (84,52%) seguido de (E)-o-metoxicinamaldeído (8,79%) e acetato de (E)-cinamila (1,44%), esse resultado é similar com o obtido por Giordani et al. (2006), que encontraram como substâncias majoritárias do OE de alfavaca da França o (E)-cinamaldeído (92,20%), o-metoxi cinamaldeído (4,67%) e acetato (E)-cinamilo (3,13%), e também com os de Jardim et al. (2018), que evidenciaram no OE comercial as substâncias (E)-cinamaldeído (83,3%), (E)-o-metoxicinamaldeído (7,1%), acetato de (E)-cinamila (2%) e benzaldeído (1,9%), dados estes coerentes com os encontrados neste trabalho, porém divergindo em relação a concentração dos compostos majoritários e ao eugenol que não foi encontrado por esses autores, revelando dessa forma uma variação na composição química do OE de *C. cassia*,

como pode ser observado através do estudo realizado por Geng et al. (2011) que comprovou que o óleo essencial de canela sofreu uma significativa variação em seus constituintes químicos majoritários e em suas concentrações de acordo com os estágios de crescimento da planta.

Já o óleo essencial de alfavaca foi obtido através da hidrodestilação em aparelho clevenger. Na análise da caracterização química observou-se um alto teor de eugenol (92,7%) seguido de α-Farneseno (6,08 %), caracterizando essas substâncias como majoritárias, o rendimento no processo de extração, foi de 0,81% (v/p).

Tabela 3. Composição química e concentração relativa do óleo essencial de alfavaca.

Índice Calculado	**Índice da literatura***	**Concentração %**	**Similaridade %**	**Composto**
900	-	0,22	-	NI
1097	1095	0,16	76	Linalool
1356	1356	92,7	96	Eugenol
1410	1408	0,56	97	(Z)-Cariofileno
1471	1484	0,5	91	Germancreno D
1502	1505	6,08	95	α-Farneseno

NI representam os valores não encontrados na literatura.

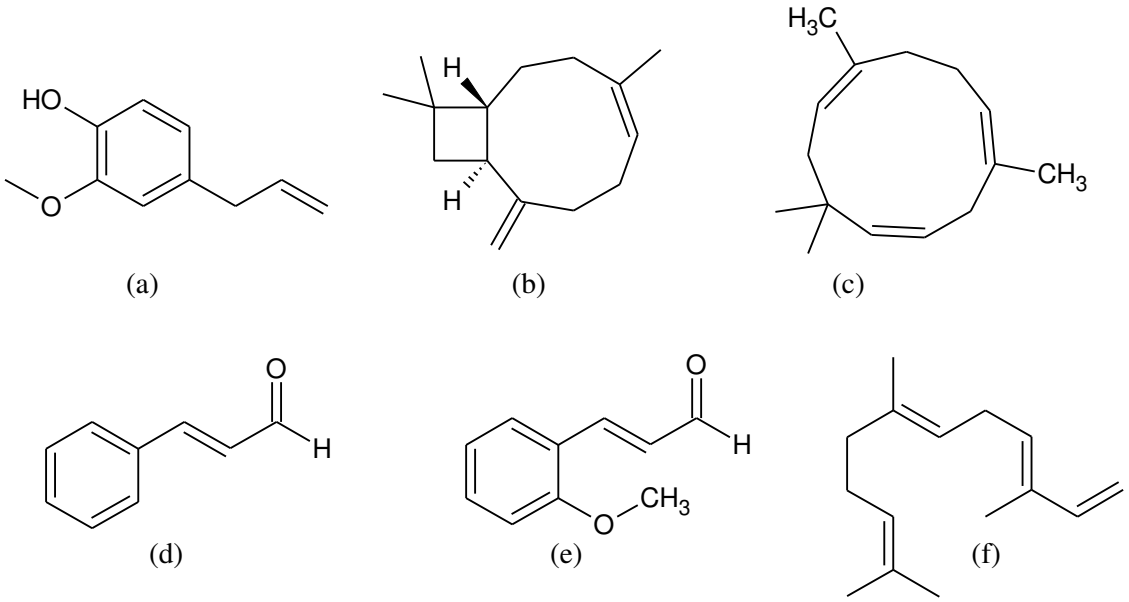
* (ADAMS, 2007)

Franco et al. (2007) analisando a composição do OE de alfavaca em folhas colhidas no Horto de Plantas Medicinais da FF/UFG observou um predomínio de eugenol (57,82%), γ-terpineno (13,06%) e α-bisaboleno (17,19%) e obteve como rendimento no processo de extração 0,69%. Já Sartoratto et al. (2004) encontraram em plantas coletadas no CPQBA/UNICAMP o eugenol (93,9%) e germacreno D (4,23%) como substâncias prioritárias, apresentando valor de rendimento de 0,74%. Silva et al. (2010), analisando as inflorescências da alfavaca na UFSM encontraram valor de rendimento de 0,6% e como principais substâncias o eugenol (82%) seguido de γ-Muuroleno (12,58%). Entretanto, Dubey et al. (2000) encontraram em um quimiotipo desta espécie cultivada na Índia, altos níveis de cinamato de etila (34%), linalol (30%), cineol (6,5%) e cânfora (3,8%), apresentando um rendimento de 0,65%. Os dados referenciados diferem aos

deste estudo em relação aos compostos majoritários e ao rendimento, Ozcan & Chalchat (2004) relaciona essa variação a fatores sazonais e de localidade.

As estruturas dos compostos majoritários encontrados nos OE's de cravo-da-índia, canela cassia e alfavaca estão representadas na figura 1, a seguir.

Figura 1- Representação das estruturas dos compostos majoritários dos óleos essenciais de cravo-da-índia, canela cássia e alfavaca. (a) Eugenol (b) (E)-cariofileno (c) α-humuleno (d) (E)-cinamaldeído (e) (E)-metoxicinamaldeído (f) α-Farneseno.



Fonte: Elaborado pelo autor**.** (ACD/Chemsketch, 2015)

As variações encontradas na caracterização química dos óleos essenciais podem ser explicadas por diversos fatores, e essa variação é determinada principalmente por fatores genéticos, porém outros também podem ser cruciais para a produção dos metabólitos secundários, como o ambiente no qual a planta se desenvolveu, a luminosidade, temperatura e umidade, que influenciam significativamente para a formação destes compostos, interferindo tanto na concentração quanto na caracterização (SILVA et al., 2005; MORAIS, 2009; BORSATO et al., 2007).

Outro fator importante para a variação na composição química em plantas de mesma espécie é o método de extração do óleo essencial adotado. Através da hidrodestilação já é conhecido que o tempo pode ser favorável para se obter determinadas substâncias, porém em altas temperaturas pode ocorrer a degradação de alguns compostos e assim interferir na composição química (PRINS et al., 2006; JESUS et al., 2016; MATTANA et al., 2015).

A substância eugenol foi encontrada nos três óleos deste trabalho, diferindo

apenas sua concentração, caracterizando-se como a substância majoritária para o cravo talo e a alfavaca. É um composto fenólico encontrado naturalmente em várias plantas, como no louro, noz-moscada e na pimenta Jamaica. Esta substância possui propriedades conhecidas, como a antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, anestésica, bactericida e inseticida (OGATA et al., 2000; APPARECIDO et al., 2009; SHAPIRO, 2012). Alguns trabalhos ainda associam a atividade antifúngica e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo e alfavaca devido à alta porcentagem do eugenol (COSTA et al., 2011a; MARIATH et al., 2006; ASCENSÃO et al., 2013; FRANCO et al., 2007).

O (E)-cariofileno, também presente no OE de cravo, é um sesquiterpeno encontrado em várias plantas medicinais como alecrim (*Rosmarinus officinalis*), erva baleeira (*Cordia verbenaceae*) e pau-santo (*Kielmeyera coriácea*), apresenta atividade antiinflamatória, antioxidante, anestésico e anticâncer (SHIMIZU et al., 1990; PASSOS et al., 2007; MEVY et al., 2007; GHELARDINI et al., 2001; LEGAULT; PICHETTE, 2007; MARTINS, 2012). Já o α-humuleno, um isômero do *trans*-cariofileno, é encontrado naturalmente nos óleos de erva baleeira (*Cordia verbenaceae*) e lixeira (*Aloysia virgata*), possuindo efeito anti-inflamatório e analgésico (PINO et al., 2004; CHAVES et al., 2008, PASSOS et al., 2007).

O (E)-cinamaldeído encontrado no OE da canela cássia, segundo a literatura, apresenta propriedades anti-inflamatória e antimicrobiana (FIGUEIREDO et al., 2017; GILL; HOLLEY, 2004; SANLA-EAD et al., 2012), é encontrado além da canela cássia em outras plantas do gênero *Cinnamomum*, como a cânfora (*Cinnamomum camphora*) e a canela verdadeira (*Cinnamomum verum)* (LIMA et al., 2005; ANDRADE et al., 2012*).* Já o *trans*-o-metoxicinamaldeído é conhecido por sua inibição de crescimento e produção de fungos, caracterizando atividade antibiótica, e possuindo também atividade transcricional (MOROZUMI, 1978; REDDY et al., 2004).

O α-farneseno é um sesquiterpeno encontrado no óleo essencial da camomila *(Matricaria chamomilla*), sudachi (*Citrus sudachi*) e milefólio (*Achillea millefolium) (*BORSATO et al., 2016; MOREIRA, 2016) é considerado como responsável pela atividade antigenotóxica e anti-inflamatória (HERNÀNDEZ-CERUELOS et al., 2002; AYOUGHI et al., 2011; PRESIBELLA et al., 2006).

5.2- Avaliação da fitotoxicidade *in vitro* dos óleos essenciais e substâncias em sementes de feijão

Os fungicidas em potencial foram aplicados nas sementes de feijão *P. vulgaris*

para realização do teste de germinação e vigor (*in vitro)*, solubilizando os óleos essenciais e suas substâncias majoritárias em óleo de soja. Esta escolha é devida a alta capacidade de solubilização do óleo de soja para os OE's, ser de fácil acesso e preço acessível, o que facilita seu uso pelo produtor rural. A dose de 40 mL/kg formou um filme aderido aos tegumentos com um recobrimento visualmente uniforme sobre as sementes.

Os resultados mensurados durante o experimento em relação à germinação e vigor das plantas de feijão na presença dos OE's e das substâncias foram avaliados pelo teste de agrupamento Scott-Kontt e os valores obtidos por meio deste teste encontram-se nas Tabelas 4 e 5 respectivamente.

Tabela 4. Valores médios dos parâmetros no teste de germinação e avaliação do vigor das sementes de feijão tratadas com os OE's de cravo, alfavaca e canela cássia.

Óleos	Trat. ($\mu g/mL^{-1}$)	Parâmetros Avaliados							
		G	PA	SM	IVG	CPA	CR	MU	MS
Cravo	0	99,5 A	0,5 A	0,0 B	24,8 A	4,8 B	12,65 B	10,11 B	2,51 A
	0*	97,5 A	1,5 A	1,0 A	24,84 A	8,26 A	13,06 B	12,0 A	2,36 A
	10	99,5 A	0,5 A	0,0 B	25,51 A	7,35 A	13,56 B	12,40 A	2,31 A
	100	98,0 A	2,0 A	0,0 B	24,52 A	7,32 A	14,10 B	12,98 A	2,41 A
	500	98,5 A	1,5 A	0,0 B	25,30 A	7,71 A	13,77 B	11,96 A	2,25 A
	2000	98,5 A	1,5 A	0,0 B	24,97 A	7,99 A	15,19 A	12,67 A	2,27 A
Alfavaca	0	96,0 A	1,0 A	3,0 A	32,57 B	4,83 B	12,23 B	12,08 A	1,66 A
	0*	94,0 A	1,5 A	3,5 A	33, 14 B	8,21 A	11,69 B	11,78 A	1,64 A
	10	96,5 A	0,0 B	3,5 A	42,86 A	8,09 A	12,15 B	13,02 A	1,70 A
	100	96,0 A	0,0 B	4,0 A	42,46 A	7,32 A	10,77 B	12,83 A	1,79 A
	500	97,0 A	0,0 B	3,0 A	45,86 A	7,25 A	13,63 A	11,53 A	1,57 A
	2000	94,5 A	0,0 B	5,5 A	42,29 A	7,95 A	14,24 A	12,27 A	1,75 A
Canela Cassia	0	95,5 A	3,0 A	1,5 A	40,91 A	6,81 A	11,38 B	11,14 A	1,99 A
	0*	95,0 A	1,5 A	3,5 A	28,12 C	5,72 B	11,74 B	10,19 B	1,85 A
	10	94,5 A	2,0 A	3,5 A	35,2 B	6,8 A	13,46 A	10,67 B	1,98 A
	100	96,0 A	1,5 A	2,5 A	29,43 C	7,2 A	14,09 A	10,88 A	2,14 A
	500	95,0 A	3,5 A	1,5 A	38,66 A	6,9 A	15,01 A	11,50 A	2,06 A
	2000	95,0 A	3,0 A	2,0 A	28,22 C	6,7 A	13,54 A	10,15 B	1,99 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 (%); CPA: Comprimento Parte Aérea (cm); CR: Comprimento de Raiz (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 Scott Knott (5%).

Verificou-se que não houve diferenças significativas para a porcentagem de

germinação de sementes de feijão *P. Vulgaris* tratadas com os OE's em todas as dosagens em relação aos controles, água e óleo de soja. As Plântulas anormais e sementes mortas também não diferiram dos controles, exceto para o OE de Alfavaca que teve diminuição no índice de sementes mortas a partir de sua aplicação.

Para o parâmetro de velocidade de germinação em comparação com os controles, observou-se que não houve diferenças entre os tratamentos com aplicação do OE de cravo-da-índia. Para o OE de canela observou-se um retardamento neste parâmetro, porém a dose de 500 μg/mL não diferiu dos controles. Em relação ao óleo de alfavaca observou-se uma diferenciação entre os tratamentos, sendo que todas as doses aceleraram a germinação em relação aos controles.

Quanto ao desenvolvimento da parte aérea para OE's de cravo e alfavaca, todas as concentrações provocaram um aumento de tamanho, quando comparadas com o controle com água, e não diferiram estatisticamente do controle com óleo de soja. Já para o OE de canela todas as doses testadas não diferiram do controle com água.

Para o parâmetro comprimento de raiz houve um aumento significativo utilizando o OE de cravo na dose de 2000 μg/mL, sendo que as demais doses não diferiram dos controles. Para o OE de alfavaca observa-se também uma melhora no crescimento nas dosagens de 500 e 2000 μg/mL. Já o OE de canela apresentou incremento no comprimento das raízes das plântulas em todas as dosagens testadas, um resultado promissor, pois um sistema radicular bem desenvolvido permite uma melhor absorção de nutrientes pela planta. De acordo com Chaib et al. (1984) um melhor desenvolvimento das raízes beneficia a captação de água das camadas mais profundas do solo e também proporciona o aproveitamento dos nutrientes. No que se refere à massa úmida e seca das plântulas não foi observado nenhuma diferença entre os tratamentos e os controles.

Assim pode-se inferir que os fungicidas formulados a partir dos OE's nas dosagens testadas proporcionaram um efeito positivo no vigor das sementes de feijão e não apresentaram efeito fitotóxico para a cultura do feijoeiro comum.

Tabela 5. Valores médios dos parâmetros no teste de germinação e avaliação do vigor das sementes de feijão tratadas com as substâncias de (E)-cinamaldeído e eugenol.

Óleos	Trat. (µg mL^{-1})	Parâmetros Avaliados							
		G	PA	SM	IVG	CPA	CR	UM	MS
E-Cinamaldeído	0	95,5 A	3,0 A	1,5 A	40,91 A	6,81 A	11,38 A	11,14 A	1,99 A
	0*	95,0 A	1,5 A	3,5 A	28,12 C	5,72 B	11,74 A	10,19 A	1,85 A
	8	95,5 A	1,5 A	3,0 A	29,74 C	7,26 A	12,18 A	10,89 A	1,96 A
	80	96,0 A	1,0 A	3,0 A	35,68 B	7,03 A	12,51 A	10,53 A	1,94 A
	400	95,5 A	1,5 A	3,0 A	27,71 C	6,26 B	12,27 A	9,82 A	1,92 A
	1600	96,0 A	3,5 A	0,5 A	33,31 B	7,86 A	13,5 A	10,99 A	1,91 A
Eugenol	0	89,5 A	7,5 A	3,0 B	42,25 A	7,99 A	12,25 A	10,64 B	1,75 B
	0*	90,0 A	6,0 A	4,0 B	31,25 A	6,88 A	12,77 A	11,16 A	2,05 A
	8	96,0 A	3,0 A	1,0 B	49,65 A	6,74 A	13,45 A	10,69 B	1,93 A
	80	92,0 A	4,0 A	3,0 B	31,97 A	7,21 A	14,53 A	11,37 A	1,88 A
	400	90,0 A	6,0 A	4,0 B	28,4 A	7,22 A	13,81 A	11,68 A	1,99 A
	1600	86,0 A	5,5 A	8,5 A	35,23 A	5,86 B	13,61 A	9,95 B	1,92 A

0: controle (sementes sem tratamento); 0*: controle com óleo de soja; G: Germinação (%); PA; Plântula Anormal (%); SM: Sementes Mortas (%); IVG: Índice de velocidade Germinação (%); CPA: Comprimento Parte Aérea (cm); CR: Comprimento de Raiz (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 Scott Knott (5%).

Os resultados com (E)-cinamaldeído e eugenol foram semelhantes aos obtidos com os OE's, onde a porcentagem de germinação, plântulas anormais e sementes mortas foram estatisticamente iguais aos controles. Entretanto, o eugenol na dosagem de 2000 µg/mL aumentou o índice de sementes mortas, ao contrário dos resultados obtidos com os OE's de cravo e alfavaca. No parâmetro do índice de velocidade de germinação o eugenol não diferiu dos controles, enquanto as sementes tratadas com o (E)-cinamaldeído apresentaram médias menores que o tratamento controle com água, efeito similar observa-se no OE de canela, comprovando que esse efeito é devido ao seu composto majoritário.

Quanto ao desenvolvimento de parte aérea e raiz para o (E)-cinamaldeído as doses testadas não diferiram dos controles, enquanto que o eugenol para o crescimento da parte

aérea na dose de 1600 µg/mL apresentou um efeito negativo, sendo que as demais doses não diferiram dos controles, esse resultado pode evidenciar que esta substância em dosagens acima de 1600 µg/mL para a cultura do feijoeiro comum pode ser toxica. Já o comprimento de raiz em todas as dosagens testadas com o eugenol não diferiram dos controles.

Diante dos resultados obtidos pode-se observar que as sementes tratadas com os OE's e suas substâncias exibiram porcentagens de germinação superiores a 85%. Para os padrões nacionais de produção e comercialização de sementes de feijão *P. vulgaris*, a porcentagem de germinação mínima deve ser de 80% para sementes certificadas de primeira e segunda geração, padrão mínimo exigido pelo ministério da agricultura para comercialização (MAPA, 2013).

Os constituintes dos OE's podem atuar nos processos metabólicos das sementes e das plantas, exibindo características aleloquímicas, que podem inibir ou estimular o seu funcionamento (MAGALHÃES et al., 2014), os efeitos dos aleloquímicos dependem de suas concentrações, podendo apresentar o chamado efeito alelopático, que pode ser associado pela capacidade de penetração de algumas substâncias presentes nestes óleos, que são capazes de inibir, retardar a multiplicação ou o crescimento das células, afetando a germinação das sementes (REIGOSA et al., 1999; GONZALEZ et al., 2002).

Pierre (2009) analisando o OE e o extrato do cravo sobre a germinação de sementes de café da cultivar Catuaí observou que este óleo nas concentrações de 0,5% e 1,0% e o extrato a 20%, promoveram um aumento na germinação das sementes em relação ao controle, já Moura et al. (2013) evidenciaram que os OE's de cravo-da-índia e alfavaca-cravo a 1,0% (v/v) inibiram completamente a germinação de sementes de pimentão (*Capsicum annuum*) e o desenvolvimento da parte aérea das sementes de picão (*Bidens pilosa*). Mazzafera (2003) avaliou o efeito do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol em sementes de algumas plantas, e concluíram que nas dosagens de 7,75; 31 e 62 mg/mL estes inibiram a germinação das sementes de tomate e rabanete, além de afetarem também a parte aérea.

Alguns autores afirmam que os OE's de plantas que possuem o composto fenólico eugenol em alta concentração podem causar toxicidade em sementes o que acarreta na inibição de sua germinação ou até mesmo em seu desenvolvimento (MIRANDA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2011).

Mas há vários estudos que evidenciam o potencial uso dos OE's para o tratamento de sementes. Rodrigues et al. (2006) verificaram que o OE de alfavaca, não afetou a

qualidade fisiológica das plantas de trigo quando suas sementes foram submetidas às dosagens que variaram de 10 e 500 mg/mL e sendo este resultado confirmado por Nobre et al. (2014) para a cultura de feijão fava na dosagem de 5,0 % (v/v), já Alves et al. (2004) constataram que este óleo favoreceu a germinação das sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) .) nas dosagens que variaram de 0,0 a 0,1 %.

O OE de canela cassia não é citado na literatura quanto aos efeitos para o tratamento de sementes, já a canela (*Cinnamomum zeylanicum*) que possui o mesmo princípio ativo foi citado por Brito et al. (2010), que avaliaram os efeitos deste OE na germinação de sementes de mandacaru (*Cereus jamacaru*) e observaram que este OE em todas as concentrações testadas (0,5, 1,0 e 2,0 % v/v), proporcionaram um aumento da germinação e vigor nas sementes.

Devido à produção agrícola em larga escala, é exigido, cada vez mais, sementes de alta qualidade afim de diminuir perdas por falta de germinação, plantas de baixa qualidade e até mesmo mais resistentes às doenças. Logo, se faz necessária a realização de um tratamento prévio das sementes. Os dados deste estudo se mostraram eficazes e satisfatórios, pois ficou evidente que os óleos essenciais e suas substâncias, nas doses avaliadas, não afetaram o processo germinativo e em algumas doses apresentaram efeitos positivos sobre o vigor das sementes, caracterizando um efeito bioestimulante, sendo, portanto, adequado o uso dos óleos essenciais de canela, cravo-da-índia e alfavaca e suas respectivas substâncias para o tratamento de sementes do feijoeiro comum (*P. vulgaris*).

5.3- Avaliação do potencial antifúngico *in vitro* dos óleos essenciais e as substâncias majoritárias sobre o fungo *Colletotrichum lindemuthianium*

A partir dos testes realizados *in vitro*, obtiveram-se os seguintes resultados explicitados na tabela a seguir.

Tabela 6. Concentrações inibitórias mínimas observadas para os OE's e substâncias sobre o *C. lindemuthianum.*

Tratamento	CIM (µg/mL)
Cravo-da-índia	125,0
Canela cassia	125,0
Alfavaca	125,0
Tiofanato Metílico	30,6
Óleo de soja comercial	*
Eugenol	62,6
(E)-Cinamaldeído	125,0

* houve crescimento fúngico em todas as concentrações testadas

Os resultados evidenciaram que os OE's possuem atividade antifúngica contra o fungo *C. lindemuthianum*, apresentando como valor da CIM de 125 µg/mL, se mostrando eficazes em baixas concentrações. Na literatura encontram-se pesquisas que avaliaram OE's no tratamento das mais variadas espécies de fungos, a exemplo o OE de cravo-da-índia tem sido reportado por diversos estudos, por sua potente atividade antifúngico.

Mariath et al. (2006) verificaram que este óleo foi excelente no controle de fungos pela presença dos compostos eugenol e (E)-cariofileno. Ranashinge et al. (2002), estudaram a atividade antifúngica do OE de cravo sobre fungos de pós colheita isolados da banana e constataram que este apresentou ação antifúngica sobre os patógenos *Lasiodiplodia theobromae*, *Colletotrichium musae* e *Fusarium proliferatum* com valores de CIM de 0,4, 0,45 e 0,50 µL/mL, respectivamente. Ainda sobre resultados de teste *in vitro* realizados com este óleo, Abreu (2006) verificou que o óleo inibiu completamente o crescimento micelial de *Alternaria solani*, na concentração de 750 µL/L. Em contrapartida, Araújo et al. (2018) constataram que o óleo de cravo-da-índia não apresentou eficiência para o controle do fitopatógeno *C. gloeosporioides* em todas as dosagens testadas, que variaram de 1 a 16 % (v/v).

Estudos evidenciaram que dentre as atividades biológicas do OE e do extrato da alfavaca, a atividade antifúngica se destaca (TREVISAN et al., 2006, NGUEFACK et al., 2004; LIMA et al., 1993). Pinto et al. (2010) observaram o efeito fungitóxico do extrato metanólico da alfavaca sobre o fitopatógeno *C. lindemuthianum* apresentando o valor de CIM de 1,45 µg/mL. Junior et al. (2009) avaliando a atividade fungicida da alfavaca dematiáceos constataram que este OE inibiu em 100% o crescimento micelial do

fitopatógeno *C. gloeosporioides* na concentração de 1 µL/mL. Este óleo apresenta também potente controle sobre os fitopatógenos *Botryosphaeria rhodina*, *Rhizoctonia sp*. e duas espécies de *Alternaria sp*. (FARIA et al., 2006).

O OE de canela foi avaliado quanto a sua atividade antifúngica por Mateus (2016), frente às cepas de fungos causadores de dermatomicoses das espécies *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes, Candida albicans*, *Candida parapsilosis* e *Fusarium* spp, este óleo apresentou como concentrações inibitorias mínimas (CIM) valores entre 15,62 e 125 µg/mL. Este óleo possui também potente atividade sobre os fungos *C. gloeosporioides* e *C. musae*, *Cladosporium cladosporioides*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Cercospora kikuchii*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum sp*. e *Phomopsis sp* (ARAÚJO et al., 2018; VENTUROSO et al., 2011).

Os óleos essenciais, por possuírem diversidade em sua composição química, podem apresentar discrepâncias nos resultados de trabalhos que testam os mesmos óleos sob os mesmos fitopatógenos e nas mesmas condições, uma vez que a disponibilidade dos princípios ativos destes óleos pode variar devido a fatores ambientais em que a planta foi submetida.

Ainda sobre os resultados, o óleo de soja não apresentou atividade sobre o fungo, apresentando crescimento fúngico em todas as concentrações testadas. O tiofanato metílico, por sua vez, conseguiu inibir o crescimento em uma baixa concentração, com CIM de 30,63 µg/mL evidenciando o quão eficaz é para o controle do fungo de *C. lindemuthianum*.

As substâncias eugenol e (E)-cinamaldeído se mostraram ativas contra o fungo *C. lindemuthianum*. O eugenol apresentou CIM de 62,5 µg/mL. Este composto possui também ação antifúngica contra *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus, Penicillium chrysogenume*, *Botrytis cinerea* e *Colletotrichum gloeosporioides* (GULATI; SINHA, 1990; FARIA et al., 2006; WANG et al. 2010; HONG et al. 2015).

O (E)-cinamaldeído teve inibição na concentração de 125 µg/mL, exibindo a mesma encontrada no OE de canela, evidenciando que esta substância, possivelmente, é a responsável pela atividade antifúngica deste OE. Segundo Meades et al. (2010) o (E)-cinamaldeído é o principal composto com atividade bactericida e fungicida presente no óleo de canela. Neri et al. (2006) investigando o efeito de algumas substâncias sobre o fungo *Penicillium expansum* observaram que, dentre os compostos voláteis, o (E)-cinamaldeído apresentou expressiva atividade antifúngica sobre o crescimento micelial, germinação e esporulação do fungo, apresentando valor de CIM de 147 µL/L.

Ainda não é totalmente elucidado a forma como os óleos essenciais agem nos fitopatógenos para a inibição ou redução de seus sintomas, entretanto, diversos trabalhos associam o potencial antifúngico dos óleos essenciais devido aos componentes encontrados na sua composição química e promovendo a inibição destes fitopatógenos. Os autores, em busca da compreensão do mecanismo de ação dos OE's e suas substâncias, associam como a principal causa de inibição dos fungos a característica lipofílica que eles apresentam. Estas substâncias podem atravessar a membrana celular e dessa forma atuar modificando ou destruindo a estrutura celular do fungo. Este comportamento é possível devido às substâncias que compõem os óleos possuírem como característica a hidrofobicidade, o que o torna permeável à membrana celular (COSTA et al., 2011a; BAKKALI et al., 2008; PEREIRA et al., 2011; SIKKEMA et al., 1995; ADAMS et al., 1996; COSTA et al., 2011a; HOYOS et al., 2012)

Fica evidente que os OE's de diversificadas espécies de plantas são eficazes contra diversos fitopatógenos, logo, os resultados do teste *in vitro* evidenciaram que os OE's e suas respectivas substâncias majoritárias possuem potencial para o desenvolvimento de um fungicida agroecológico, já que com a aplicação dos OE's em qualquer concentração testada entre 10 e 2000 µg/mL não apresentaram efeitos negativos na germinação das sementes de feijão e, além disso, a inibição fúngica ocorreu em baixas concentrações e de forma eficaz.

A partir dos resultados obtidos no teste *in vitro*, os OE's e suas substâncias foram utilizados para a realização do teste *in vivo*.

5.4- Avaliação do potencial antifúngico *in vivo* dos óleos essenciais e as substâncias no controle da antracnose

Para a avaliação da emergência e incidência da doença, as sementes de feijão foram tratadas com os fungicidas em potencial, solubilizadas em óleo de soja igualmente ao teste da fitotóxicidade *in vitro*.

Os resultados mensurados durante o experimento em relação à emergência e vigor das plantas de feijão na presença dos OE's e das substâncias foram avaliados pelo teste de agrupamento Scott-Knott e os valores obtidos por meio deste teste encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7. Valores médios dos parâmetros no teste de emergência e avaliação do vigor das plantas de feijão do tipo carioca, da cultivar BRSMG UAI, quando as sementes foram tratadas com os fungicidas formulados a partir dos óleos essenciais e suas respectivas substâncias majoritárias.

Tratamento	E	IVE	UM	MS
Água destilada	96,56 A	16,82 A	4,56 A	0,63 A
Óleo de soja	93,39 A	8,13 A	3,93 A	0,56 A
Cercobin	96,56 A	13,84 A	7,31 A	0,92 A
Cravo-da-índia	95,24 A	9,55 A	5,84 A	0,76 A
Alfavaca	94,97 A	8,73 A	8,19 A	1,03 A
Canela cassia	93,65 A	10,67 A	4,85 A	0,64 A
Eugenol	93,65 A	8,33 A	6,64 A	0,84 A
(E)-cinamaldeído	94,97 A	9,63 A	6,12 A	0,81 A

E: Emergência (%); IVE: Índice de velocidade Emergência (%); MU: Massa Úmida (g); MS: Massa Seca (g). Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si no teste de agrupamento de Scott-Knott (5%).

Nenhum efeito significativo foi constatado entre os tratamentos em relação à emergência, e índice de velocidade de emergência no teste realizado em casa de vegetação, o que indica que o patógeno *C. lindemuthianum* não teve efeito sobre a germinação das sementes, essa característica foi relatada também por Vechiato et al. (2001).

Os dados evidenciaram também que os OE's e as substâncias solubilizadas em óleo de soja não diferiram dos tratamentos controles em todos os parâmetros avaliados, demonstrando que não houve interferência no processo germinativo e vigor das sementes. Logo, não apresentaram efeitos negativos para a cultura de feijão da cultivar BRSMG UAI.

Para a incidência da doença, com base na análise de variância houve diferenças significativas para as fontes de variação Tratamentos, Tempo e a interação Tratamento x Tempo. Posteriormente o teste de agrupamento (Tabela 8) foi realizado e verificou-se que a incidência da doença até o 9º dia de avaliação não diferiu entre os controles e os demais tratamentos com os OE's e suas respectivas substâncias. A partir do 12º dia de avaliação diferenças entre os tratamentos e os controles já são perceptíveis, sendo que as sementes tratadas com água e óleo de soja apresentaram maior incidência.

Nos 18º e 21º dias de avaliação, o óleo essencial de alfavaca e cravo-da-índia

apresentaram resultados semelhantes com o eugenol, substância majoritária em ambos os OE's, promovendo intensa redução sobre a incidência da doença no decorrer das avaliações, sendo mais eficazes que o fungicida comercial utilizado, o tiofanato metílico. Os resultados em relação ao óleo essencial de canela e seu composto majoritário, o fenilpropanóide (E)-cinamaldeído, apresentaram também similaridades, não diferindo entre si, pertencendo ao mesmo agrupamento do fungicida comercial. É observada que para o controle com óleo de soja a incidência chega a 73,1%, já para as sementes que não tiveram qualquer tratamento a incidência é de 92,2 %. É evidente que o tratamento das sementes com os fungicidas formulados a partir dos OE's e suas substâncias foi eficiente para a redução da incidência da doença ao longo dos dias avaliados.

Tabela 8. Incidência da antracnose em plantas de feijão do tipo carioca, da cultivar BRSMG UAI oriundas de sementes tratadas com tratamentos controles e os fungicidas formulados a partir dos OE's e suas substâncias majoritárias.

Tratamento	**Dias avaliados**							
	0º	3º	6º	9º	12º	15º	18º	21º
Água	1,6 A	6,9 A	14,1 A	18,0 A	40,4 A	61,5 A	78,5 A	92,2 A
Óleo de soja	0,0 A	5,4 A	12,4 A	16,1 A	28,4 A	63,1 A	69,7 A	73,1 B
Cercobin	1,6 A	1,6 A	1,6 A	1,7 A	16,2 B	26,3 B	38,1 B	41,3 C
Cravo-da-índia	0,0 A	0,0 A	1,9 A	5,4 A	12,6 B	17,8 B	28,1 C	28,1 D
Alfavaca	0,0 A	0,0 A	0,0 A	2,0 A	3,9 B	11,8 B	17,6 C	21,6 D
Canela cassia	1,9 A	1,9 A	3,5 A	14,3 A	14,3 B	19,6 B	34,4 B	43,3 C
Eugenol	0,0 A	0,0 A	0,0 A	1,7 A	5,2 B	8,7 B	16,1 C	19,6 D
(E)-cinamaldeído	0,0 A	0,0 A	2,0 A	5,9 A	9,4 B	20,4 B	47,8 B	49,7 C

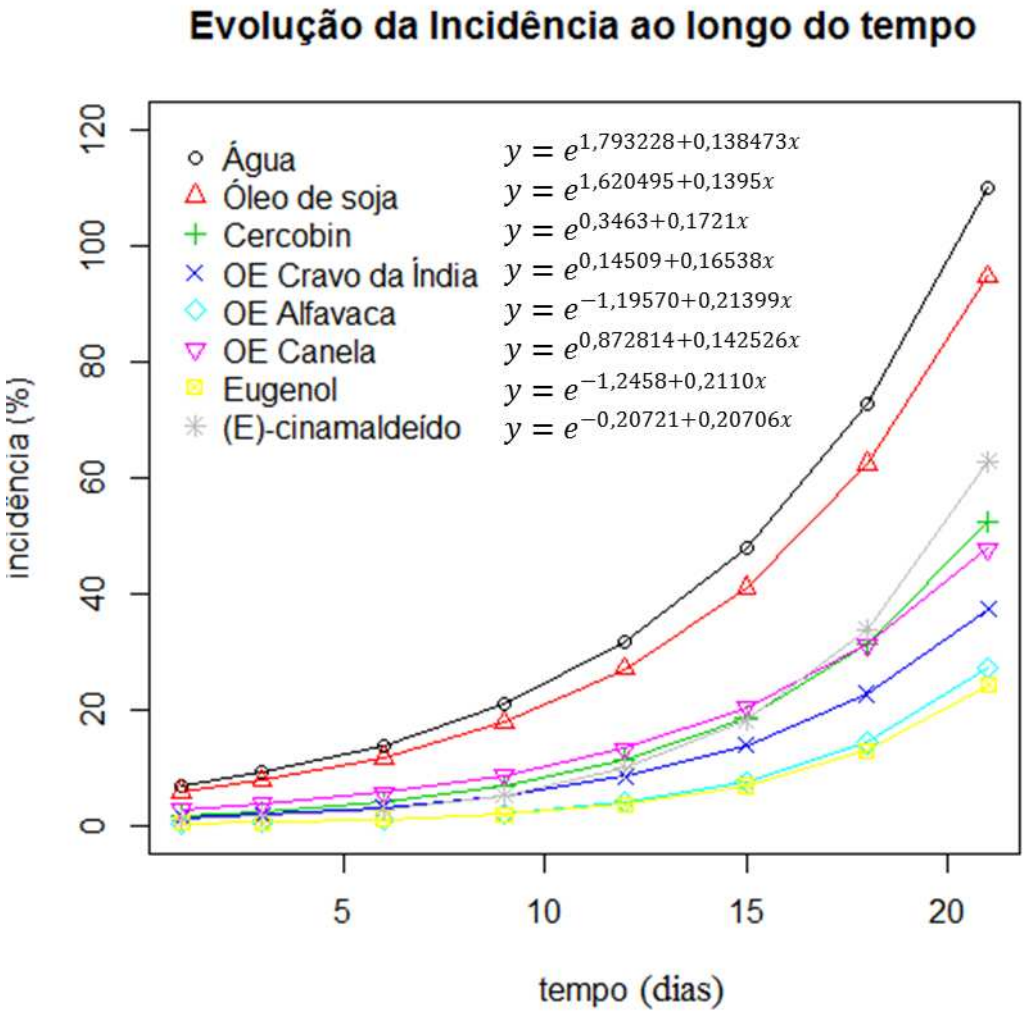
Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si no teste de agrupamento de Scott Knott (5%).

Através dos resultados obtidos, pode-se inferir que as sementes utilizadas para a realização deste teste apresentavam o patógeno, uma vez que as sementes foram coletadas em plantas que apresentavam sintomas da antracnose em suas vagens e folhas e a incidência no tratamento controle com água foi próxima a 100%. O fungo *C. lindemuthianum* pode se alojar internamente nas sementes, e quanto mais for à colonização deste nos tecidos internos, maior a probabilidade de ocorrer à transmissão para a planta (NEERGARD, 1979).

Em todos os tratamentos as plantas apresentaram sintomas da doença, havendo um aumento no decorrer dos dias de avaliação. Os dados submetidos à análise de

regressão utilizando o modelo de regressão de Poisson, ou modelo log-linear mostra a correlação entre a incidência e o tempo de avaliação (Gráfico 1).

Gráfico 1. Percentual da incidência da antracnose em plantas de feijão do tipo carioca, da cultivar BRSMG UAI oriundas de sementes tratadas com os controles e os fungicidas formulado.



Fonte: Elaborado pelo autor. (R Core Team, 2019)

Os OE's e as substâncias se mostraram ativas contra o fungo *C. lindemuthianum*, conseguindo controlar os sintomas da antracnose. A eficiência dos óleos essenciais na redução da incidência de doenças provocadas por fungos em sementes, conforme observado no presente estudo, está de acordo com os resultados encontrados por Nascimento et al. (2017) que constataram que o OE de cravo-da-índia conseguiu reduzir a incidência do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* em 92,5 % nas sementes de pimentão (*Capsicum annum* L.) na concentração de 0,25%. Enquanto que em sementes de milho, este óleo na concentração de 0,1 µL/mL conseguiu uma redução na incidência de *Stenocarpella maydis* que, quando comparado ao controle, foi de 59 para 37%

(TEIXEIRA et al., 2013).

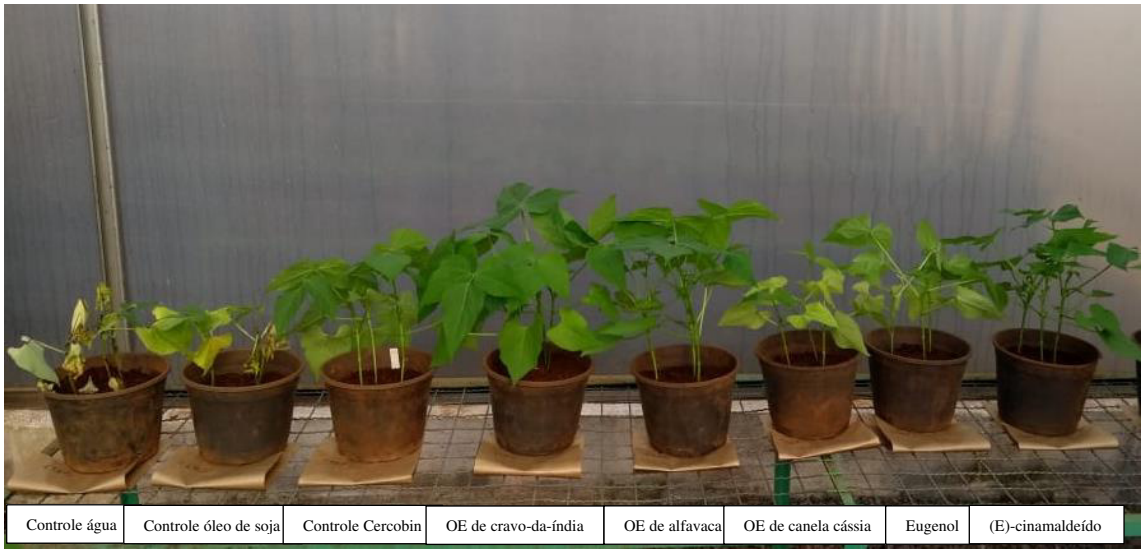
Gomes et al. (2016) evidenciaram que o OE de cravo foi eficiente para a redução da incidência dos fitopatógenos *Aspergillus* spp., *Cladosporium* sp. e *Penicillium* sp. em sementes de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) nas concentrações de 1,5 e 2 ml/L. O uso deste óleo no tratamento de sementes de café Catuaí, segundo Pierre (2009), diminuiu a incidência do fungo *C. gloeosporioides* nas concentrações 0,5 e 0,75 e 1% (v/v).

Cruz et al. (2009) constaram que o OE de alfavaca solubilizado em água destilada na concentração de 20 mg/mL foi efetivo para a redução da incidência de *Aspergillus* em sementes de amendoim e o OE de cravo-da-índia, na mesma concentração, foi efetivo para o controle dos fitopatógenos *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus*, apresentando redução destes nos grãos de amendoim e café respectivamente. Sousa (2010) pôde observar que o OE de alfavaca conseguiu controlar em 100% a incidência do fungo *Fusarium subglutinans* sobre os frutos de abacaxi em todas as concentrações testadas, 500 e 1500 μg/mL respectivamente.

Poucos estudos são encontrados na literatura sobre o efeito da canela cássia para o tratamento de sementes, porém em relação à canela conhecida como canela verdadeira (*Cinnamomum zeylanicum*), que contém o mesmo princípio ativo, são encontrados alguns trabalhos, como o de Teixeira et al. (2013) que comprovou que a incidência de *S. maydis* foi reduzida de 57 para 28 % com a utilização deste óleo em sementes de milho na concentração de 0,1 μL/mL. Leite et al. (2018) observaram que este óleo também foi potente para a diminuição da incidência do fungo *Penicillium spp*. em sementes de feijão *P. vulgaris* durante o armazenamento, utilizando a dose do OE de 2,3 mL/Kg de sementes.

É importante ressaltar que não houve desenvolvimento de sintomas de toxidez nas plantas em função da aplicação do óleo de cravo e alfavaca, assim como nas plantas que tiveram a aplicação do eugenol e (E)-cinamaldeído. Os resultados obtidos no decorrer do teste reforçam a potencialidade do uso destes óleos no tratamento de sementes de feijão. Conforme a figura 2 abaixo, é perceptível a diferença entre as plantas que receberam os tratamentos com OE's e as substâncias em comparação com os controles no último dia de avaliação. Com a aplicação do óleo essencial de canela cassia observou-se que muitas plantas apresentaram uma pequena descoloração das folhas, o que pode ser observado na figura 2, podendo ser um pequeno efeito fitotóxico.

Figura 2- Imagem representativa das plantas de feijão da cultivar BRSMG UAI (no último dia de avaliação) quando as sementes foram submetidas aos tratamentos controles e os fungicidas formulados.



Fonte: Arquivo pessoal.

O tratamento de sementes utilizando produtos de origem natural, como os OE's e suas substâncias, pode ser realizado da forma preventiva e curativa, que acarreta a proteção das plantas a ação de pragas e às doenças provocadas por fitopatógenos, proporcionando assim melhor estabelecimento da lavoura.

De acordo com os resultados obtidos no teste *in vitro* e *in vivo*, o controle de doenças com a utilização de óleos essenciais, com baixa ou nenhuma toxidez, foi de grande efetividade. Estes produtos, além de não apresentarem fitotoxicidade na cultura do feijoeiro, reduziram os sintomas causados pela antracnose podendo substituir facilmente fungicidas convencionais que causam grandes impactos ao meio ambiente.

6- CONCLUSÕES

A composição química dos óleos essenciais pôde ser determinada através da análise via CG/EM e houve a confirmação das substâncias majoritárias para cada óleo em estudo de acordo com a literatura.

Os OE's e as suas respectivas substâncias majoritárias não afetaram o processo de germinação das sementes, além de que proporcionaram melhoramento no vigor das plântulas, indicando que estes podem ser utilizados na cultura do feijão *P. vulgaris*. O óleo vegetal de soja, além de se mostrar um excelente produto para solubilização dos óleos e substâncias, também não apresentou efeitos negativos para a cultura do feijão *P. vulgaris*.

Em relação à atividade antifúngica *in vitro* todos os óleos e substâncias se mostraram ativas para o controle do fitopatógeno *C. lindemuthianum*, apresentando concentrações inibitórias mínimas baixas.

Através do teste *in vivo* fica evidente o controle da incidência da doença, provocada pelo fungo *C. lindemuthianum,* realizada pelos fungicidas formulados com os óleos essenciais e suas respectivas substâncias, sendo os óleos de cravo e alfavaca, juntamente com a substância majoritária para ambos os óleos, o eugenol, os tratamentos mais promissores, obtendo resultados mais eficientes que o fungicida comercial.

Logo todos os óleos essenciais testados e suas respectivas substâncias majoritárias são viáveis para a aplicação no controle do fungo *C. lindemuthianum* nas sementes de feijão, possuindo potencial para o desenvolvimento de um fungicida agroecológico, pois tanto no teste *in vitro* quanto no teste *in vivo,* em baixas concentrações apresentaram efeitos de inibição do fungo, sendo melhores que o fungicida comercial.

REFERÊNCIAS

ABDOLAHI, A.; HASSANI, A.; GHOSTA, Y.; JAVADI, T.; MESHKATALSADAT, M. H. Essential oils as control agents of postaharvest *Alternaria* and *Penicillium* rots on tomato fruits. **Journal of Food Safety**, v. 30, p. 341-352, 2010.

ABREU, C. L. M. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com óleos essenciais. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

ADAMS, S.; KUNZ, B.; WEIDENBORNER, M. Mycelial Deformations of *Cladosporium herbarum* due to the Application of Eugenol and Carvacrol. **Journal of Essent Oil Research**, v. 8, p. 535-540, 1996.

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

Advanced Chemistry Development, I. ACD/Chemsketch 2017.2.1 (Advanced Chemistry Development, Inc. ACD/Labs, 2015).

ALMA, M. H.; ERTAS, M.; NITZ, S.; KOLLMANNSBERGER, H. Chemical composition and content os essential oil from the bud of cultivated Turkish clove (*Syzygium aromaticum* L.). **BioResources**, v. 2, p. 265-269, 2007.

ALMEIDA, L. F. D.de.; CAVALCANTI, Y. W.;VIANA, W. P.; LIMA, E. O. *Screening* of Antifungal Activity of Essential Oils on *Candida Albicans*. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 14, p. 51-56, 2011.

ALMEIDA, M. M. B.; LOPES, M. F. G.; DE SOUSA, P. H. M.; NOGUEIRA, C. M. D.; MAGALHÃES, C. E. C. Determinaçäo de umidade, fibras, lipídios, cinzas e sílica em plantas medicinais**. Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos,** v. 21, p. 343-350, 2003.

ALVAREZ, A.S.; SANTOS, L.C.; ZOGHBI, M.G.B.; SILVA, R.J.F. Avaliação das estruturas secretoras de *Ocimum gratissimum* var. *macrophyllum* Briq. (Lamiaceae) após extração dos constituintes voláteis. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 15, p. 237-243, 2013.

ALVES, M. D. C. S.; FILHO, S. M.; INNECCO, R.; TORRES, S. B. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface**. Pesquisa agropecuária brasileira,** Brasília, v.39, p. 1083-1086, 2004.

ANDRADE, M. A.; CARDOSO, M. D. G.; BATISTA, L. R.; MALLET, A. C. T.; MACHADO, S. M. F. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus, Cinnamomum zeylanicum e Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, p. 399-408, 2012.

APPARECIDO, N. D.; SARTORETTO, S. M.; SCHMIDT, G.; CAPARROZ-ASSEF, S. M.; BERSANI-AMADO, C. A.; CUMAN, R. K. N. Anti-inflammatory and antinociceptive activities A of eugenol essential oil in experimental animal models. **Revista brasileira de farmacognosia,** v.19, p. 212-217, 2009.

ARAÚJO, A. C.; TOLEDO, E. D.; SOARES, W. R. O. Produtos Alternativos No Controle DE *Colletotrichum spp*. Isolados De Manga E Banana. **Científic@ Multidisciplinary Journal**, v.5, p.104-112, 2018.

ASCENÇÃO, V. L.; FILHO, V. E. M. Extração, caracterização química e atividade antifúngica de óleo essencial *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia). **Cadernos de Pesquisa**, v. 20, p. 137-144, 2013.

AYOUGHI, F.; MARZEGAR, M.; SAHARI, M. A.; NAGHDIBADI, H. Chemical Compositions of Essential Oils of *Artemisia dracunculus* L. and Endemic *Matricaria chamomilla* L. and an Evaluation of their Antioxidative Effects. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 13, p. 79-88, 2011.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.

BARBOSA, F. R.; GONZAGA, A. C. de O. Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região Central-Brasileiro: 2012-2014. Santo Antônio de Goiás, EMBRAPA Arroz e feijão, 247p., 2012.

BARROS, E. S. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de feijão comum do grupo carioca procedente da região centro sul do estado de Sergipe. Dissertação (Mestrado em agroecossistemas) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2011.

BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, S. B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle

em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 555-557, 2004.

BERNARDES, T. G.; DA SILVEIRA, P. M.; MESQUITA, M. A. M. Regulador de crescimento e *Trichoderma harzianum* aplicados em sementes de feijoeiro cultivado em sucessão a culturas de cobertura. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 40, p. 439-446, 2010.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A. C.; CARNEIRO, S. M. P. G. Doenças do feijoeiro (*Phaseoluls vulgaris* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. Agronômica Ceres,v. 2, p. 333-349, 1997.

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

BONETT, L.P., SCHEWE, I.; SILVA, L. I. Variabilidade de *Colletotrichum lindemuthianum* em feijoeiro comum no Oeste do Estado do Paraná. **Scientia Agraria**, v. 9, p. 207-210, 2008.

BORSATO, A. V. et al. Rendimento e composição química do óleo essencial da camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert] submetida à secagem à 70º C. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, p. 635-644, 2007.

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

BRITO, N. M.; NASCIMENTO, L. C.; COELHO, M. S. E.; FÉLIIX, L. P. Efeitos de óleos essenciais na germinação de sementes de *Cereus jamacaru*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias,** Recife, v. 5, p. 207-211, 2010.

BUFFON, R. B.; DE SÁ, L. V.; SHALDERS, G.; TAVARES, D. F.; CRUZ, T. P.; RABELLO, L. K. C. Efeito de extratos de cravo da índia e pimenta malagueta no controle in "vintro" do *Colletotrichum gloeosporioides.* II Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IX Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba, 2010.

CAMARGO JUNIOR, O. A. Identificação de recombinantes de *Glomerella cingulata* f. sp. phaseoli por meio de marcadores RAPD. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas), Universidade Federal de Lavras- Lavras, 60 p., 2004.

CÁRDENAS, F.; ADAMS, M. W.; ANDERSEN, A. The genetic system for reaction of field beans (Phaseolus vulgaris L.) to infection by three physiologic races of *Colletotrichum lindemuthianum.* **Euphytica**, v. 13, p. 178-186, 1964.

CARNELOSSI, P. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira Plantas Medicinais**, v. 11, p. 399-406, 2009.

CERQUEIRA, M. D.; MARQUES, E. J.; MARTINS, D.; ROQUE, N. F.; CRUZ, F. G. Variação sazonal da composição do óleo essencial de *Myrcia salzmannii* Berg. (Myrtaceae). **Química Nova**, v. 32, p. 1544-1548, 2009.

CHAIB, S. L.; BULIZANI, E. A.; CASTRO, L. H. S. M. Crescimento e produção do feijoeiro em resposta a profundidade de aplicações de adubo fosfatado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 19, p. 817-822, 1984.

CHANG, S. T.; CHEN, P. F.; SC CHANG, S. C. Antibacterial activity of essential oils of leaves and their constituents of *Cinnamomum osmophloeum*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 77, p. 123-127, 2001.

CHAVES, G. Anthracnose. In: SCHWARTZ, H. F.; GALVES, G. E. **Bean production problems**: disease, insect, soil and climatic of *Phaseolus vulgaris*. Cali: CIAT, p. 37-54, 1980.

CHAVES, J. S.; LEAL, P. C.; PIANOWISKY, L.; CALIXTO, J. B. Pharmacokinetics and tissue distribution of the sesquiterpene alpha-humulene in mice. **Planta Medica**, v. 74, p. 1678-1683, 2008.

COÊLHO, M.; GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; DE SOUSA, L. L.; NUNES, M. P. B. A.; AZEVEDO, R. F.; GALVÁN, M. Z. Characterization of race 65 of *Colletotrichum lindemuthianum* by sequencing ITS regions. **Acta Scientiarum**, v. 38, p. 429-438, 2016.

COMISSÃO ESTADUAL DE PESQUISA DE FEIJÃO. **Recomendações técnicas para cultivo no Rio Grande do Sul**. Santa Maria: UFSM, 2000. 80 p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (C0NAB). Acompanhamento da safra brasileira de grãos - v. 6- Safra 2018/19 – Décimo levantamento, Brasília: Conab, p. 1-113, 2019.

COSTA, A. R. T. et al., Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais,** 2011, v. 13, p. 240-245, 2011a.

COSTA, L. C. Controle genético da resistência do feijoeiro a diferentes isolados da raça 65 de *Colletotrichum lindemuthianum*. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, 2015.

COSTA, V. P.; MAYWORM, M. A. S. Plantas medicinais utilizadas pela comunidade do bairro dos Tenentes - município de extrema, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.13, p. 282-292, 2011b.

CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, D. C. Óleos essenciais e química fina. **Química Nova**, v. 16, p.224-228, 1993.

CROUS, P. W.; LIEBENBERG, M. M., BRAUN U.; GROENEWALD J. Z. Re-evaluating the taxonomic status of *Phaeoisariopsis griseola*, the causal agent of angular leaf spot of bean. **Studies in Mycology,** v. 55, p.163–173, 2006.

CRUZ, M. E. S.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. J. S.; RUPP, M. M. M.; FIORE, B. V. Controle Natural de Patógenos em Grãos de Amendoim e Café. **Revista Brasileira de Agroecologia.** v. 4, p. 3137-3142, 2009.

CRUZ, M. F. A.; ARAUJO, L.; POLANCO, L. R.; RODRIGUES, F. A. Aspectos microscópicos da interação feijoeiro *Colletotrichum lindemuthianum* mediados pelo silício. **Bragantia**, Campinas, v. 73, p. 284-291, 2014.

CUNHA, R. P.; CORRÊA, M. F.; SCHUCHL, O. B.; OLIVEIRA, R. C.; JUNIOR, J. S. A.; SILVA, J. D. G.; ALMEIDA, T. L. Diferentes tratamentos de sementes sobre o desenvolvimento de plantas de soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, p. 1761-1767, 2015.

DA COSTA, J. G. C; RAVA, C. A.; FONSECA, J. R.; SALGADO, A. L. Fontes de resistência à antracnose em coletas de feijoeiro-comum. **Revista Ceres**, v. 50, p. 273-277, 2003.

DALLA PRIA, M.; AMORIM, L.; FILHO, A. B. Quantificação de componentes monocíclicos da mancha angular do feijoeiro. **Fitopatologia brasileira**, v. 28, p. 394-400, 2003.

DAMASCENO e SILVA, K. J.; SOUZA, E. A.; ISHIKAWA, F. H. Characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from the State of Minas Gerais, Brazil**. Journal of Phytopathology**, v. 155, p. 241-247, 2007.

DA SILVA, M. G.; POZZA, E. A. Influência dos restos culturais na incidência de antracnose no feijoeiro. **Revista Cultivar,** 2016**.** Acesso em: <www.grupocultivar.com.br/artigos/palhada-nociva>.

DA SILVA, M. G. Influencia de restos de cultura na antracnose do feijoeiro a partir de sementes com diferentes níveis de inóculo. Dissertação (Mestrado em fitopatologia), Universidade Federal de Lavras- Lavras, 2011.

DE MORAIS, L. A. S. Óleos essenciais no controle fitossanitário. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas.** Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 1ª edição, p. 139-152, 2009.

DUBEY, N. K.; TIWARI, T. N.; MANDIN, D.; ANDRIAMBOAVONJY, H.; CHAUMONT, J-P. Antifungal properties of Ocimum gratissimum essential oil (ethyl cinnamate chemotype). **Fitoterapia**, v. 71, p. 567-569, 2000.

FARIA, T. J.; FERREIRA, R. S.; YASSUMOTO, L.; SOUZA, J. R. P.; ISHIKAWA, N. K.; BARBOSA, A. M. Antifungal activity of essential oil isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against phytopathogenic fungi. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, p. 867-871, 2006.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G. O controle de fitonematoides por plantas antagonistas e produtos naturais. Departamento de Fitopatologia-UFV, p. 1-17, 2008.

FERREIRA, C. M.; DEL PELOSO, M. J.; FARIA, L. C. Feijão de Arranca. Embrapa Arroz e Feijão, Sistemas de Produção, 2 p., 2003.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia,** v. 35, p. 1039-1042, 2011.

FIGUEIREDO, C. S. S. S. et al., Óleo essencial da Canela (Cinamaldeído) e suas aplicações biológicas. **Revista de Investigação Biomédica**, São Luís, v. 9, p. 192-197, 2017.

FRANCO, A. L. P.; OLIVEIRA, T. B.; FERRI, P. H.; BARA, M. T. F.; DE PAULA, J. R. Avaliação da composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Aloysia gratíssima* (Gillies & Hook) Tronc. (Alfazema), *Ocimum gratissimum* L. (ALFAVACA-CRAVO) E *Curcuma longa* L. (AÇAFRÃO). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, p. 208-220, 2007.

FONSECA, M. C. M.; LEHNER, M. S.; GONÇALVES, M. G.; PAULA JUNIOR, T. J.; SILVA, A. F.; BONFIM, F. P. G.; PRADO, A. L. Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatógenos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, p. 45-50, 2015.

GADAGA, S. J. C. Fosfitos na proteção do feijoeiro *(Phaseolus vulgaris* L.*)* contra a antracnose. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

GADAGA. S. J. C. Interação de *Colletotrichum lindemuthianum* com o feijoeiro e a detecção do patógeno em sementes por PCR. Tese (doutorado em fitopatologia), Universidade Federal de Lavras - Lavras, 2017.

GARCIA, L. C.; JUSTINO, A.; RAMOS, H. H. Análise da pulverização de um fungicida na cultura do feijão, em função do tipo de ponta e do volume aplicado. **Bragantia**, v. 61, p. 291-295, 2002.

GARCIA, A.; DE SOUZA, P. E.; POZZA, E. A.; SANTOS, F. da S. Influence of the environmental variables in the progress of anthracnose of bean and efficiency of thiophanate methyl + chlorothalonil in the control of the disease. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 1709-1715, 2007.

GENG, S.; CUI, Z.; HUANG, X.; CHEN, Y.; XU, D.; XIONG, P. Variations in essential oil yield and composition during *Cinnamomum cassia* bark growth**. Industrial Crops and Products**, v. 33, p. 248-252, 2011.

GHELARDINI, C.; GALEOTTI, N.; Di CESARE MANNELLI, L.; MAZZANTI, G.; BARTOLINI, A. Local anaesthetic activity of β-caryophyllene**. Il Farmaco**, v. 56, p. 387-389, 2001.

GHINI, R.; KIMATI, H. Resistência de fungos a fungicidas. 1ª edição. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 78, 2000.

GILL, A. O.; HOLLEY, R. A. Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde

against *Listeria monocytogenes* and of eugenol against L. *monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 5750-5755, 2004.

GIORDANI, R.; REGLI, P.; KALOUSTIAN, J.; PORTUGAL, H. Potentiation of Antifungal Activity of Amphotericin B by Essential Oil from *Cinnamomum cassia*. **Phytotherapy Research**, v. 20, p. 58-61, 2006.

GOMES, R. S. S.; NUNES, M. C.; NASCIMENTO, L. C.; SOUZA, J. O.; PORCINO, M. M. Eficiência de óleos essenciais na qualidade sanitária e fisiológica em sementes de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Campinas, v. 18, p. 279-287, 2016.

GOMES, P. R. B.; MOUCHREK, V. E. F.; RABELO, W. F.; DO NASCIMENTO, A. A.; LOUZEIRO, H. C.; LYRA, W. S.; FONTENELE, M. A. Caracterização química e citotoxicidade do óleo essencial do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*). **Revista Colombiana de Ciências Químico-Farmacêuticas**, v. 47, p. 37-52, 2018.

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 laboratório. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, Havana, v. 7, n. 2, p. 67-72, 2002. Disponível em: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962002000200002&lng=es&nrm=iso.

GRANDI, T. S. M.; TRINDADE, J. A.; PINTO, M. J. F.; FERREIRA, L. L.; CATELLA, A. C. Plantas medicinais de minas gerais, Brasil. **Acta botanica brasilica**, v. 3, p. 185-224, 1989.

HEMALATHA, R.; NIVETHA, P.; MOHANAPRIYA, C.; SHARMILA, G.; MUTHUKUMARAN, C.; GOPINATH, M. Phytochemical composition, GC-MS analysis, in vitro antioxidant and antibacterial potential of clove flower bud (*Eugenia caryophyllus*) methanolic extract. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, p. 1189-1198, 2016.

HERNÁNDEZ-CERUELOS, A.; MADRIGAL-BUJAIDAR, E.; DE LA CRUZ, C. Inhibitory effect of chamomile essencial oil on the sister chromatid exchanges induced by daunorubicin and methyl methanesulfonate in mouse bone marrow. **Toxicology Letter**, p. 135, p. 103-110, 2002.

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 Medicinais**, v. 14, p. 439-445, 2012.

HONG, J. K.; YANG, H. J.; JUNG, H.; YOON, D. J.; SANG, M. K.; JEUN, Y-C. Application of Volatile Antifungal Plant Essential Oils for Controlling Pepper Fruit Anthracnose by *Colletotrichum gloeosporioides*. **The Plant Pathology Journal**, v. 31, p. 269-277, 2015.

HOYOS, J. M. Á. Alterações ultraestruturais e atividade antifúngica em *Pseudocercospora griseola* e *Colletotrichum lindemuthianum* tratados com óleos essenciais e controle alternativo da antracnose do feijoeiro. (mestrado em fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras 2012.

JARDIM, I. N.; OLIVEIRA, D. F.; SILVA, G. H.; CAMPOS, V. P.; DE SOUZA, P. E. E- cinnamaldehyde from the essential oil of *Cinnamomum cassia* controls Meloidogyne incognita in soybean plants. **Journal of Pest Science**, v. 91, p. 479-487, 2018.

JANTAN, I. B.; MOHARAM, B. A. K.; SANTHANAM, J.; JAMAL, J. A. Correlation between chemical composition and antifungal activity of the essential oils of eight *Cinnamomum* Species. **Pharmaceutical Biology**, v. 46, p. 406-412, 2008.

JESUS, A. S.; BLANK, A. F.; ALVES, M. F.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; LIMA, R. N.; ALVES, P. B. Influence of storage time and temperature on the chemical composition of the essential oil of *Hyptis pectinata* L. Poit. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Campinas, v. 18, p. 336-340, 2016.

JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; STOILOVA, I.; STOYANOVA, A.; KRASTANOV, A.; SCHMIDT, E. Chemical Composition and Antioxidant Properties of Clove Leaf Essential Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 6303-6307, 2006.

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

JURADO, F. R.; et al. Essential Oils: Antimicrobial Activies, Extraction Methods, and Their Modeling, **Food Engineering Reviews**, v. 7, p. 275-297, 2015.

KASHYAP, R.; THAKUR, A.; THAKUR, H. K.; DHARMANI, T.; SHARMA, D. K. Determination of methylisothiocyanate in its commercial formulation and different soils by a simple spectrophotometric method. **Asian Journal of Advanced Basic Sciences**, v. 2, p. 33-38, 2014.

KHAN, A. et al. *Cinnamon* improves glucose and lipids of people with type 2 diabetes. **Diabetes Care**, New York, v. 26, p. 3215-3218, 2003.

KIMATI, H. et al. **Manual de fitopatologia**: doenças das plantas cultivadas. 2. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, 385 p., 1997.

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

activity of a-humulene, isocaryophyllene and paclitaxel. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 59, p. 1643-1647, 2007.

LEITE, K.; BONOME, L. T. S.; MOURA, G. S.; FRANZENER, G. Óleos essenciais no tratamento de sementes de *Phaseolus vulgaris* L. durante o armazenamento. **Revista**

Verde, v. 13, p. 186-199, 2018.

LI, Y-Q.; KONG, D-X.; HUANG, R-S.; LIANG, H-L, XU, C-G.; WU, H. Variations in essential oil yields and compositions of *Cinnamomum cassia* leaves at different developmental stages. **Industrial Crops and Products**, v. 47, p. 92-101, 2013b.

LI, Y-Q.; KONG, D-X.; WU, H. Analysis and evaluation of essential oil components of *cinnamon* barks using GC–MS and FTIR spectroscopy. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 269-278, 2013a.

LIMA, E. O.; GOMPERTZ, O. F.; PAULO, M. Q.; GIESBRECHT, A. M. *In vitro* antifungal activity of essential oils against clinical isolates of dermatophytes. **Mycoses**, v. 36, p. 333-336, 1993.

LIMA, M. D. P.; ZOGHBI, M. D. G. B.; ANDRADE, E. H. A.; SILVA, T. M. D.; FERNANDES, C. S. Constituintes voláteis das folhas e dos galhos de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). **Acta Amazonica**, v. 35, p. 363-366, 2005.

LOPES, C.V.A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde Debate**, v. 42, p. 518-534, 2018.

LUCAS, G. C.; ALVES, E.; PEREIRA, R. B.; ZACARONI, A. B.; PERINA, F. J.; SOUZA, R. M. Indian clove essential oil in the control of tomato bacterial spot**.** **Journal of Plant Pathology**, v. 94, p. 45-51, 2012.

MAEDA, J. A.; BOVI, M. L. A.; BOVI, O. A.; DO LAGO, A. A. Craveiro-da-índia: características físicas das sementes e seus efeitos na germinação e desenvolvimento vegetativo. **Bragantia**, v. 49, p. 23-36, 1990.

MAGALHÃES, C. R. I.; BRITO, S. S. S.; MAGALHÃES, T. A.; FERRAZ, M. S. S.; OLIVEIRA, C. R. F. O. Óleos essenciais na emergência de grãos de milho *(Zea mays* L.). **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v. 10, p. 338-349, 2014.

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

MAIA, T. F.; DONATO, A.; FRAGA, M. E. Atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 17, p. 105-116, 2015.

MANON, IAHEL. Canela-da-índia e cravo-da índia. **Revista Educação Ambiental em Ação**, v.2, 1 p., 2002. Acesso em < http://www.revistaea.org/artigo.php?idartigo=53>
MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 45, de 21 de setembro de 2013. Anexo XXIII - Padrões para produção e comercialização de sementes de feijão. (*Phaseolus vulgaris L.*).

MARIATH, I. R., LIMA, I.O.; LIMA, E.O.; BATISTA, L.M. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Eugenia aromática* B. contra fungos dematiáceos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 87, p. 81-84, 2006.

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. Mestrado em química- Universidade Federal de Uberlândia, 2012.

MARTINS, J. R.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M.; SILVA, A. P.; ALVES, E. Pigments content and Alfavaca-cravo chloroplast structure cultivate under colored nets. **Ciência Rural**, v. 40, p. 64-69, 2010.

MARTINS, J. R.; NEVES, C. L. P.; PEREIRA, W. V. S.; TONETTI, O. A. O.; ALVARENGA, A. A. Armazenamento de sementes de Alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.)**. Revista Brasileira de Plantas medicinais,** v. 16, p. 789-793, 2014.

MATTANA, R. S.; MAIA E ALMEIDA, C. I.; OLIVEIRA, P. F. C.; LIMA, L. P.; HABER, L. L.; MING, L. C.; MARQUES, M. O. M. Efeitos de diferentes tempos de extração no teor e composição química do óleo essencial de folhas de pariparoba [*Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.]. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Campinas, v. 17, p. 150-156, 2015.

MATEUS, W. S. Avaliação dos efeitos fungistáticos e fungicidas de óleos essenciais em microrganismos causadores de dermatomicoses. Mestrado profissional em Inovação Tecnologica- Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba-2016.

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

MEVY, J. P.; BESSIEREB, J. M.; DHERBOMEZ, M.; MILLOGO, J.; VIANO, J. Chemical composition and some biological activities of the volatileoils of a chemotype of *Lippia chevalieri Moldenke*. **Food Chemistry**, v. 101, p. 682-685, 2007.

MEADES, G. Jr.; HENKEN, R. L.; WALDROP, G. L.; RAHMAN, M. M.; GILMAN, S. D.; KAMATOU, G. P.; VILJOEN, A. M.; GIBBONS, S. Constituents of *Cinnamon* Inhibit Bacterial Acetyl CoA Carboxylase. **Planta medica**, v. 76, p. 1570-1575, 2010.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 45, de 17 de setembro de 2013. Acesso em: http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/copy_of_INN45de17desetembrode2013.pdf.

MIORANZA, C. Caracterização morfoagronômica de variedades locais de feijoeiro comum. Tcc (Monografia para obtenção do título de bacharel em Agronomia), Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2018.

MIRANDA, C. A. S. F. et al. Atividade alelopática de óleos essenciais de plantas medicinais na germinação e vigor de aquênios de alface. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, p. 1783-1798, 2015.

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

MORAIS, S. M.; DANTAS, J. D. P.; SILVA, A. R. A.; MAGALHÃES, E. F. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 169-177, 2005.

MOREIRA, J. D. R. Caracterização fisiológica e produção de metabólitos secundários em *Achillea millefolium L.* após aplicação de quitosana. (Mestrado em fisiologia vegetal)- Universidade Federal de Lavras, Lavras 2016.

MOROZUMI, S. Isolation, Purification, and Antibiotic Activity of o-Methoxycinnamaldehyde from *Cinnamon*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 36, p. 577-583, 1978.

MOURA, G. S, et al. Potencial alelopático do óleo essencial de plantas medicinais sobre a germinação e desenvolvimento inicial de picão-preto e pimentão. **Ensaios e Ciências: Ciências Biológicas, Ágrárias e da Saúde**, v. 17, p. 51-62, 2013.

NASCIMENTO, D. M. 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, Botucatu, 2017.

NEERGARD, P. **Seed Pathology**. 2 ed. London, The MacMillan Press. V. 1, 839 p., 1979.

NETO, G. F. G.; DE ANDRADE, M. J. B.; POZZA, E. A.; MARTINS, F. A. D.; SOARES, B. L.; BELAN, L. L.; DA SILVEIRA CARDILLO, B. E. Controle da antracnose e da mancha angular do feijoeiro comum com indutores de resistência. **Nucleus**, v. 13, p. 57-66, 2016.

NERI, F.; MARI, M.; BRIGATI, S. Control of *Penicillium expansum* by plant volatile compounds. **Plant Pathology**, v. 55, p. 100-105, 2006.

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

NOBRE, D. A. C.; MENDES, R. B.; PORTO, B. B. A.; AZEVEDO, D. M. Q.; BRANDÃO JUNIOR, D. S. Bioatividade de extratos aquosos de plantas medicinais em sementes de feijão-fava. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Campinas, v. 16, p. 467- 472, 2014.

OGATA, M.; HOSHI, M.; URANO, S.; ENDO, T. Antioxidant activity of eugenol and related monomeric and dimeric compounds. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 48, p. 1467-1469, 2000.

OKA, Y.; SHUKER, S.; TKACHI, N. Nematicidal activity of allyl bromide and dibromo(nitro)methane under laboratory conditions. **Pest Management Science**, v. 72, p. 57- 66, 2015.

OLIVEIRA, A. C. S.; MARTINS, G. N.; SILVA, R. F.; VIEIRA, H. D. Testes de vigor

em sementes baseados no desempenho de plântulas**. Revista Científica Internacional**, v. 1, p. 1-21, 2009.

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, p. 699-710, 2011.

OLIVEIRA, M. L. et al. Black root rot caused by *Rosellinia pepo*, a new disease of the clove tree in Brazil. **Tropical plant pathology**, v. 33, p. 90-95, 2008.

OOTANI, M. A. Atividade inseticida, antifúngica e herbitóxica dos óleos essenciais de *Eucalyiptus citriodora* e *Cymbopogon nardus*. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2010.

OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W.; RAMOS, A. A. C.; BRITO, D. R.; SILVA, J. B.; CAJAZEIRA, J. P. J. Use of Essential Oils in Agriculture. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, p. 162-174, 2013.

OZCAN, M.; CHALCHAT, J. Aroma profile of Thymus vulgaris L. growing wild in Turkey Bulg. **Journal Plant Physiology**, v. 30, p. 68-73, 2004.

PANDEY, A. K.; et al. Essential Oils: Sources of Antimicrobials and Food Preservatives, **Frontiers in Microbiology**, v. 17, p. 14, 2017.

PASSOS, G. F, FERNANDES, E. S.; DA CUNHA, F. M.; FERREIRA, J.; PIANOWSKI, L. F.; CAMPOS, M. M.; CALIXTO, J. B. 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.

PASTOR-CORRALES, M. A.; TU, J. C. Antracnose. In: SCHWARTZ AND CORRALES. Bean production problems in the tropics.Cali: CIAT, 1989. p. 77-93.

PAULA JUNIOR, T. J.; PINTO, C. M. F.; DA SILVA, M. B.; NIETSCHE, S; DE CARVALHO, G. A.; FALEIRO, F. G. Resistência de cultivares e linhagens de feijao-vagem à antracnose mancha-angular e ferrugem. **Revista Ceres**, v. 45, p. 171-181, 1998.

PAULA JÚNIOR, T. J.; MORANDI, M. A. B.; ZAMBOLIM, L.; SILVA, M. B. Controle Alternativo de Doenças de Plantas – Histórico. In: VENEZON, M; PAULA JÚNIOR, T. J. de; PALLINI, A. (Eds.). Controle Alternativo de Pragas e Doenças. Viçosa: EPAMIG/CTZM, p. 135-162, 2005.

PEREIRA, R.; MOREIRA, A. L. M. **Manjericão: cultivo e utilização**. Embrapa Agroindústria Tropical-Documentos 136, 31 p., 2011.

PEREIRA, R. B.; LUCAS, G. C.; PERINA, F. J.; RESENDE, M. L. V.; ALVES, E. Potential of essential oils for the control of brown eye spot in coffee plants. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 115-123, 2011.

PIERRE, R. O. Óleo essencial e extratos de cravo-da-índia no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente da mancha manteigosa, em sementes e mudas

de café. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, p. 79, 2009.

PINO, J. A.; MARBOT, R., FUENTES, V., Essential oil of Aloysia virgata Juss. from Cuba. **Journal of Essential Oil Reserach**, v. 16, p. 44 - 45, 2004.

PINTO, J. M. A.; SOUZA, E. A.; OLIVEIRA, D. F. Use of plant extracts in the control of common bean anthracnose. **Crop Protection**, v. 29, p. 838-842, 2010.

PRESIBELLA, M. M., et al. Comparison of chemical constituents of *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert essential oil and its anti-chemotactic activity. **Brazilian Archives of Biological and Technology**, Curitiba, v. 49, p. 717- 724, 2006.

PRINS, C. L.; LEMOS, C. S. L.; FREITAS, S. P. Efeito do tempo de extração sobre a composição e o rendimento do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinnus officinalis*). **Rev. Bras. Pl. Med**, v. 8, p. 92-95, 2006.

QIAO, K.; WANG, Z.; WEI, M.; WANG, H.; WANG, Y.; WANG, K. Evaluation of chemical alternatives to methyl bromide in tomato crops in China. **Crop Protection**, v. 67, p. 223-227, 2015

R: R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: https://www.R-project.org/.

RABELO, A. C. R; RIBEIRO, D. F; REZENDE, R. M; ALCANTRA, E; FREITAS, A. S. Adubação nitrogenada na cultura do feijoeiro. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 15, p. 825-841, 2017.

RABELO, M.; SOUZA, E. P.; SOARES, P. M.; MIRANDA, A. V.; MATOS, F. J.; CRIDDLE, D. D. Antinociceptive properties of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. (Labiatae) in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, p. 521-524, 2003.

RANASINGHE, L.; JAYAWARDENA, B.; ABEYWICKRAMA, K. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M.Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. **Letters in Applied Microbiology**, v. 35, p. 20811, 2002.

RAVA, C. A.; SARTORATO, A. **Antracnose**. In: SARTORATO, A.; RAVA, C. A. (Ed.). Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, p. 17-39, 1994.

REDDY, A. M.; SEO,J. H.; RYU, S. Y.; KIM, Y. S.; KIM, Y. S.; MIN, K. R.; KIM, Y. Cinnamaldehyde and 2-methoxycinnamaldehyde as NF-kappaB inhibitors from Cinnamomum cassia. **Planta Medica**, v. 70, p. 823-827, 2004.

REIGOSA, M. J.; SÁNCHEZ-MOREIRAS, A.; GONZÁLEZ, L. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 18, p. 577-608, 1999.

RODRIGUES, E. A.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.;

SCAPIM, C. A.; FIORITUTIDA, A. C. G. Potencial da planta medicinal *Ocimum gratissimum* no controle de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de trigo. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 28, p. 213-220, 2006.

ROMERO, A. L.; SPECIAN, V.; OLIVEIRA, R. C.; DINIZ, S. P. S. Atividade do Óleo Essencial de Tomilho (*Thymus vulgaris* L.) Contra Fungos Fitopatogênicos. Diniz SPSS, Specian V, Oliveira RC, Romero AL / UNOPAR Cient., **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 11, p. 15-18, 2009.

SANLA-EAD, N.; JANGCHUD, A.; CHONCHENCHOB, V.; SUPPAKUL, P. Antimicrobial Activity of Cinnamaldehyde and Eugenol and TheirActivity after Incorporation into Cellulose-based Packaging Films. **Packaging Technology and Science**, v. 25, p. 17, 2012.

SANTINI, A.; ITO, M. F.; DE CASTRO, J. L.; ITO, M. A.; GOTO, J. C Ação fungicida do acaricida azocyclotin sobre a antracnose do feijoeiro comum. **Bragantia**, Campinas, v. 64, p. 241-248, 2005.

SARMENTO-BRUM, R. B. C.; CASTRO, H. G.; SILVA, M. L.; SARMENTO R. A; NASCIMENTO, I. R.; SANTOS, G. R. Effect of plant oils in inhibiting the mycelial growth of pathogenic fungi. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 5, p. 63-70, 2014.

SARTORATTO, A. et al. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 275-280, 2004.

SARTORATO, A.; RAVA, C. A. **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle.** Brasília-DF: Embrapa Arroz e Feijão, 1994.

SCHERER, R.; WAGNER, R.; DUARTE, M. C. T.; GODOY, H. T. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais decravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 11, p. 442-449, 2009.

SHAPIRO, R. Prevention Of Vector Transmitted Diseases With Clove Oil Insect Repellent. **Journal of Pediatric Nursing**, v. 27, p. 346-349, 2012.

SHIMIZU, M.; SHOGAWA, H.; MATSUZAWA, T.; YONEZAWAS, S.; HAYASHI, T.; ARISAWA, M.; SUZUKI, S.; YOSHIZAKI, M.; MORITA, N. Anti-inflammatory constituents of topically applied crude drugs. IV. Constituents and anti-inflammatory effect of Paraguayan crude drug "alhucema" (*Lavandula latifolia Vill*.). **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 38, p. 2283, 1990.

SIKKEMA, J.; DE BONT, J. A. M.; POOLMAN, B. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. **Microbiology Reviews**, v. 59, p. 201-222, 1995.

SILVA, F.; SANTOS, R. H. S.; ANDRADE, N. J.; BARBOSA, L. C. A.; CASALI, V. W. D.; LIMA, R. R.; PASSARINHO, R. V. M. Basil conservation affected by cropping season, harvest time and storage period. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.

40, p. 323-328, 2005.

SILVA, L. L.; HELDWEIN, C. G.; REETZ, L. G. B.; HORNER, R.; MALLMANN, C. A.; HEINZMANN, B. M. Composição química, atividade antibacteriana in vitro e toxicidade em Artemia salina do óleo essencial das inflorescências de *Ocimum gratissimum* L., Lamiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 700-705, 2010.

SILVA, M.; SOUZA, H. R. T.; DAVID, H. M. S. S.; SANTOS, L. M.; SILVA, R. F.; AMARO, H. T. R. Qualidade fisiológica e armazenamento de sementes de feijão-comum produzidas no norte de Minas Gerais. **Revista Agro Ambiente**, v. 8, p. 97-103, 2014.

SILVA, M. I. G.; GONDIM, A. P. S.; NUNES, I. F.; SOUSA, F. C. F. Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família no município de Maracanaú (CE). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, p. 455-462, 2006.

SILVA, O. F.; WANDER, A. E. **O Feijão-Comum no Brasil** - Passado, Presente e Futuro. Santo Antônio de Goiás-GO: Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 287, 2013.

SILVESTRI, J. D. F.; PAROUL, N.; CZYEWSKI, E.; LERIN, L.; ROTAVA, I.; CANSIAN, R. L.; MOSSI, A.; TONIAZZO, G.; DE OLIVEIRA, D.; TREICHEL, H. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Revista Ceres**, v. 57, p. 589-594, 2010.

SINHA, G. K.; GULATI, B. C. Antibacterial and antifungal study of some essential oils and some of their constituents. **Indian Perfumer**, v. 34, p 126-129, 1990.

SOUZA, A. A.; DIAS, N. A. A.; PICCOLI, R. H.; BERTOLUCCI, S. K. V. Composição química e concentração mínima bactericida de dezesseis óleos essenciais sobre *Escherichia coli* enterotoxigênica. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Campinas, v. 18, p. 105-112, 2016.

SOUSA, A. E. D. Atividade antifúngica de óleos vegetais no controle de podridão-por-*fusarium* em melão e *fusariose* em abacaxi. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do SemiÁrido (UFERSA). Mossoró-RN, 2010.

SOUZA, A. E. F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L. C. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho. **Fitopatologia brasileira**, v. 32, p. 465-471, 2007.

SHAPIRO, R. B. S. N. Prevention of Vector Transmitted Diseases With Clove Oil Insect Repellent. **Journal of Pediatric Nursing**, v. 27, p. 346-349, 2012.

SUTTON, B. C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Ed.). ***Colletotrichum*: biology, pathology and control**. Wallingford: **CAB International**, p. 1-26, 1992.

(*Cympopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens.

Innovative Food Science and Emerging Technologies, v. 8, p. 253-258, 2007.

TEIXEIRA, G. A.; ALVES, E.; AMARAL, D. C.; MACHADO, J. D.; PERINA, F. J. Essential oils on the control of stem and ear rot in maize. **Ciência Rural**, v. 43, p. 1945-1951, 2013.

TREVISAN, M. T. S.; SILVA, M. G. V.; PFUNDSTEIN, B.; SPIEGELHALDER, B.; OWEN, R. W. Characterization of the Volatile Pattern and Antioxidant Capacity of Essential Oils from Different Species of the Genus *Ocimum*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 4378- 4382, 2006.

VECHIATO, M. H.; LASCA, C. C.; KOHARA, E. Y.; CHIBA, S. Antracnose do feijoeiro: tratamento de sementes e correlação entre incidência em plantas e infecção de sementes. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 68, p. 83-87, 2001.

VENTUROSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**. v. 37, p. 18-23, 2011.

VIDIGAL FILHO, P. S.; GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; KELLY, J. D.; KIRK, W. W. Sources of Resistance to Anthracnose in Traditional Common Bean Cultivars from Paraná,Brazil. **Journal of Phytopathology**, v. 155, p. 108-113, 2007.

VIÉGAS, A. P. Alguns fungos do Brasil: XII-Fungi imperfecti-Melanconiales (com 11 estampas e 2 figuras no texto). **Bragantia**, v. 6, p. 1-37, 1946.

VIEIRA, R. F.; GRAYER, R. J.; PATONB, A. e SIMON, J. E. Uso de marcadores químicos no estudo da diversidade genética de *Ocimum gratissimum* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 126-129, 2002.

WANG, C.; ZHANG, J.; CHEN, Y.; FAN, Y.; SHI, Z. Antifungal activity of eugenol against *Botrytis cinerea*. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, p. 137-143, 2010.

YANG, C. H.; Li, R. X.; CHUANG, L. Y. Antioxidant activity of various parts of *Cinnamomum cassia* extracted with different extraction methods. **Molecules**, v. 17, p. 7294-7304, 2012.

ZAMBOLIM, L. & CHAVES, G. M. Doenças do feijoeiro e seu controle. Informe Agropecuário v. 4, p. 50-63, 1978.

ZANARDO, V. P. S. Eficácia da ingestão de canela (*Cinnamomum* sp) na síndrome metabólica e seus componentes em idosos. Doutorado em Gerontologia Biomédica-Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 175 p., 2015.

ZANARDO, V. P. S.; RAMBO, D. F.; SCHWANKE, C. H. A. *Cinnamon* (*Cinnamomum sp)* and its effect on the components of metabolic syndrome. **Perspectiva**, v. 38, p. 39-48, 2014.