



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**EFICIÊNCIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS PARA O CONTROLE DE
Colletotrichum gloeosporioides f. sp. *cepae* EM SEMENTES DE
CEBOLA E SEU EFEITO NA QUALIDADE FISIOLÓGICA**

MARIA ISABEL ORDOÑEZ LOZADA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

**BRASÍLIA/DF
MAIO/2016**



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

EFICIÊNCIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS PARA O CONTROLE DE
***Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* EM SEMENTES DE**
CEBOLA E SEU EFEITO NA QUALIDADE FISIOLÓGICA.

MARIA ISABEL ORDOÑEZ LOZADA

ORIENTADOR: Prof. Dr. WARLEY MARCOS NASCIMENTO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

PUBLICAÇÃO: 117/2016

BRASÍLIA/DF
MAIO/2016



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Eficiência de óleos essenciais para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* em sementes de cebola e seu efeito na qualidade fisiológica

MARIA ISABEL ORDOÑEZ LOZADA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE. ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: SISTEMAS DE PRODUÇÃO AGRÍCOLAS SUSTENTÁVEIS.

APROVADA POR:

**WARLEY MARCOS NASCIMENTO, Pesquisador Embrapa Hortaliças
(Orientador) /CPF: 329.264.056-34/e-mail: warley.nascimento@embrapa.br**

**RICARDO CARMONA
(Examinador Interno) /CPF: 183.492.181-34/ e-mail: rcarmona@cespe.unb.br**

**RICARDO BORGES PEREIRA
(Examinador Externo)/CPF:056.262.766-96/e-mail:ricardo-borges.pereira@embrapa.br**

BRASÍLIA/DF,30 DE MAIO DE 2016

FICHA CATALOGRÁFICA

ORDONEZ L., Maria Isabel.

Eficiência de óleos essenciais para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* em sementes de cebola e seu efeito na qualidade fisiológica. Orientação de Warley Marcos Nascimento. - Brasília, 2016.

86 p. : il

Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2016.

1. Cebola. 2. *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *Cepae*. 3. Óleos essenciais. 4. Qualidade fisiológica. 5. Inoculação

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ORDOÑEZ L., MARIA ISABEL. (2016). **Eficiência de óleos essenciais para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* em sementes de cebola e seu efeito na qualidade fisiológica.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2016, 86 p. Dissertação de Mestrado.

CESSÃO DE DIREITOS

AUTOR: Maria Isabel Ordoñez Lozada.

TÍTULO: Eficiência de óleos essenciais para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* em sementes de cebola e seu efeito na qualidade fisiológica.

GRAU: Mestre ANO: 2016.

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva outros direitos de publicação e nenhuma parte dessa dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada à fonte.

Maria Isabel Ordoñez Lozada.

CPF: 705718201-58

Endereço: Campus Universitario Darcy Ribeiro, Colina, Bloco K.

Tel: (61) 98170-8192

Email: misabell1223@gmail.com

*Dedico este trabalho a minha mãe **Maria Eugenia**
Lozada, exemplo de perseverança, e de amor
incondicional*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me brindar saúde e sabedoria, por me dar força interior nos momentos difíceis para superar minhas dificuldades.

A minha mãe Maria Eugenia, por tudo que você me deu e me ensinou, pelo apoio incondicional na minha vida, por ser minha inspiração e por me acompanhar em meus sonhos. Amo você!

A meus avós, Lida e Pedro, a minha tia Luz e meus primos Juan David e Patricia. Meu infinito agradecimento. Obrigada por acreditar em mim. Vocês são minha fortaleza. Obrigada por estarem sempre comigo, me ensinando, me apoiando, me amando incondicionalmente e acreditando em meu potencial.

A meu pai pelo apoio, incentivo e por acreditar em mim, obrigada por me apoiar em meus sonhos.

A meu namorado Brunno Lo Sicuto, por se tornar uma peça fundamental na minha vida, por me apoiar e me cuidar incondicionalmente. Obrigada por estar a meu lado especialmente nos momentos difíceis, e me fazer acreditar em mim. Te amo!

A minhas amigas Dagma Lizeth e Catalina, por só querer o meu bem e sempre me escutar nos momentos difíceis. Ainda na distância vocês são a mostra da amizade verdadeira.

Sou muito grata a todos os meus familiares pelo incentivo recebido ao longo destes dois anos.

A meu orientador, professor Doutor Warley Marcos Nascimento, pela orientação, apoio incondicional, compreensão, incentivo e disponibilidade para a concretização deste trabalho. O seu apoio foi determinante na elaboração deste trabalho.

A meus amigos Cristhian Alfonso Gonzales, Beatriz Alejandra e Shara, por ter me ajudado nos momentos de mais necessidade e por sempre estarem à disposição para tudo que eu precisei.

À Dr Patricia Silva pela dedicação e disponibilidade na colaboração sempre que por mim foi solicitada. Muito obrigada pelo profissionalismo, e pela total disponibilidade que sempre revelou para comigo.

Ao Dr Ricardo Borgues Pereira, agradeço pela boa disposição em todos os momentos. O seu conhecimento foi essencial para que chegasse ao fim deste trabalho com um enorme sentimento de satisfação.

Gostaria de agradecer à Embrapa e seus funcionários, por abrirem as portas para que eu pudesse realizar este sonho, por permitir a minha integração em um centro de pesquisa de tão elevada qualidade e exigência.

Finalmente, à Universidade de Brasília, Faculdade de Veterinária e Agronomia, aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade da realização do meu mestrado.

RESUMO

A antracnose é uma doença causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae*, uma das principais doenças na cultura da cebola. A principal estratégia de controle deste fungo é o controle químico com fungicida sendo esta técnica utilizada na maior parte dos cultivos. Atualmente vem sendo estudados métodos de controle de doenças que sejam menos agressivos ao ambiente, mostrando-se como uma boa alternativa o uso de óleos essenciais. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito direto dos óleos essenciais de manjerição, capim-limão, sálvia, tomilho e citronela como uma alternativa no controle do fungo *C. gloeosporioides* f. sp. *Cepae*, além de determinar seu efeito sobre a qualidade fisiológica de sementes de cebola. Os óleos essenciais de capim-limão e sálvia não afetaram a qualidade fisiológica das sementes de cebola e todos os óleos essenciais utilizados promoveram a inibição da germinação de esporos de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*. Os óleos essenciais de tomilho, capim-limão e citronela, na concentração de 2.000 ppm, inibiram totalmente o crescimento micelial do fungo. O óleo essencial de capim-limão foi o tratamento que mais protegeu as sementes do patógeno refletido em sua emergência em solo infestado com o patógeno, apresentando uma eficiência igual ao fungicida utilizado. Para a inoculação das sementes com o patógeno, o potencial osmótico de -1,0 MPa não afetou a germinação das sementes, sendo a contaminação com o patógeno maior que a testemunha. Finalmente, o tratamento com o óleo essencial de capim-limão a 1.000 ppm, proporcionou uma maior proteção nas sementes contra o fungo.

Palavras chaves: *Allium cepa* L, *Colletotrichum*, óleos essenciais, qualidade fisiológica das sementes, controle fúngico.

ABSTRACT

The antracnoses is a disease caused by the fungus *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepa*, one of the major diseases in the culture of onion (*Allium cepa* L). The main control strategy of this fungus is the chemical fungicide control with this technique used in most crops. It is currently being studied disease control methods that are less harmful to the environment, showing up as a good alternative, the use of essential oils. Given the above, the objectives of this study were to evaluate the direct effect of essential oils of basil, lemongrass, sage, thyme and citronella as an alternative in the fungus control *C. gloeosporioides* and determine its effect on the physiological quality of onion seeds; evaluate the effect of these on conidial germination and mycelial growth of *C. gloeosporioides*; determine the effectiveness of essential oils in soil infested by the pathogen; determine, through the use of water restriction, the best osmotic potential for inoculation of onion seeds with the pathogen; and finally the effect of these essential oils in onion seed inoculated with *C. gloeosporioides*. The essential oils of lemongrass and sage not affected the physiological quality of onion seeds, all essential oils promoted inhibition of germination of *C. gloeosporioides* spores. The essential oils of thyme, lemongrass and citronella, at a concentration of 2,000 ppm, completely inhibited the mycelial growth of the fungus. The essential lemongrass oil and fungicide treatments were more protected seeds of the pathogen reflected in its emergence in soil infested with the pathogen. For seed inoculation with the pathogen, the osmotic potential of -1.0 MPa did not affect seed germination, and contamination with the pathogen greater than the witness. Finally, treatment with the essential oil of lemongrass to 1,000 ppm, generated greater protection in the seeds against the fungus.

Key words: *Allium cepa* L, *Colletotrichum*, essential oils, physiological seed quality, fungal control

SUMÁRIO

| | |
|--|------|
| RESUMO | Viii |
| ABSTRACT | Ix |
| CAPITULO 1. Óleos essenciais no controle de patógenos | 1 |
| INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 3 |
| 2.1 Considerações gerais sobre o hospedeiro | 3 |
| 2.2 Agente etiológico do <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> | 5 |
| 2.3 Tratamentos alternativos com óleos essenciais | 7 |
| 2.3.1 Óleo essencial de Manjericão (<i>Ocimum basilicum</i> L.) | 9 |
| 2.3.2 Óleo essencial de Capim-limão (<i>Cymbopogon citratus</i> Staph.) | 10 |
| 2.3.3 Óleo essencial de Citronela (<i>Cymbopogon nardus</i> (L.) Rendle.) | 11 |
| 2.3.4 Óleo essencial de Tomilho (<i>Thymus vulgaris</i> L.) | 12 |
| 2.3.5 Óleo essencial de Sálvia (<i>Salvia officinalis</i> L.) | 13 |
| 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 15 |
| CAPITULO 2. Efeito de óleos essenciais na qualidade fisiológica de sementes de cebola (<i>Allium cepa</i> L.) | 28 |
| RESUMO | 28 |
| ABSTRACT | 29 |
| 1. INTRODUÇÃO | 30 |
| 2. METODOLOGIA | 32 |
| 2.1 Obtenção de óleos essenciais | 32 |
| 2.2 Tratamento de sementes com óleos essenciais | 33 |
| 2.3 Determinação da influência dos óleos essenciais na qualidade fisiológica da semente de cebola | 33 |
| 2.3.1 Determinação do grau de umidade | 33 |

| | | |
|--|---|-----------|
| 2.3.2 | Germinação | 34 |
| 2.3.3 | Índice de velocidade de germinação | 34 |
| 2.3.4 | Envelhecimento acelerado | 35 |
| 2.3.5 | Emergência em casa de vegetação | 35 |
| 2.4 | Delineamento e análise estatística | 35 |
| 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 36 |
| 3.1 | Avaliação preliminar do tratamento de sementes de cebola com os óleos essenciais | 36 |
| 3.2 | Avaliação de tratamento de sementes de cebola com os óleos essenciais nas concentrações de 1.000 ppm e 2.000 ppm | 39 |
| 4 | CONCLUSÕES | 42 |
| 5 | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 43 |
| | | |
| CAPITULO 3. A utilização de óleos essenciais no controle de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> em sementes de cebola | | 49 |
| RESUMO | | 49 |
| ABSTRACT | | 50 |
| 1. INTRODUÇÃO | | 51 |
| 2. METODOLOGIA | | 53 |
| 2.1 | Obtenção de óleos essenciais | 53 |
| 2.2 | Tratamento de sementes com óleos essenciais | 54 |
| 2.3 | Obtenção do inóculo de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> | 54 |
| 2.4 | Efeito direto <i>in vitro</i> dos óleos essenciais sobre a germinação de conídios e crescimento micelial de <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> | 54 |
| 2.5 | Efeito dos óleos essenciais em solo infestado com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> f. sp. <i>Cepae</i> | 56 |
| 2.6 | Avaliação da eficiência da restrição hídrica na contaminação de sementes de cebola com <i>Colletotrichum</i> f. sp. <i>Cepae</i> | 56 |
| 2.6.1 | Germinação. | 58 |
| 2.6.2 | Teste de sanidade | 58 |

| | |
|---|-----------|
| 2.7 Efeito dos óleos essenciais em sementes de cebola inoculadas com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> f. sp. <i>Cepae</i> | 59 |
| 2.7.1 Germinação | 59 |
| 2.7.2 Teste de sanidade | 60 |
| 2.7.3 Emergência em casa de vegetação | 60 |
| 2.8 Delineamento e análise estatística | 61 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 62 |
| 3.1 Efeito direto <i>in vitro</i> dos óleos essenciais sobre a germinação de conídios e crescimento micelial de <i>C. gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> | 62 |
| 3.2 Efeito dos óleos essenciais em solo infestado com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> f. sp. <i>Cepae</i> | 67 |
| 3.3 Avaliação da eficiência da restrição hídrica na contaminação de sementes de cebola com <i>Colletotrichum</i> f. sp. <i>cepae</i> | 69 |
| 3.4 Efeito dos óleos essenciais em sementes de cebola inoculadas com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> f. sp. <i>cepae</i> . | 71 |
| 4. CONCLUSÕES | 75 |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 76 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 84 |
| ANEXO | 85 |

CAPITULO 1

ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE PATÓGENOS

1. INTRODUÇÃO

A cebola é classificada botanicamente como *Allium cepa* L., originária da região compreendida pelo Afeganistão, Irã e partes do sul da antiga União Soviética, pertence à família Alliaceae, juntamente com outras espécies de utilização condimentar. Sua semente é lisa e irregular, de coloração clara no início da sua formação e à medida que vai amadurecendo adquire uma coloração escura (COSTA; ANDREOTTI, 2002).

A cebola é utilizada principalmente como condimento, sendo também um eficiente bactericida e anti-inflamatório, possuindo na sua composição a vitamina K (naftoquinona), além de cálcio, ferro, iodo e flúor (COSTA, 1996).

É cultivada no Brasil desde a região Sul até o Nordeste, destacando-se como principais produtores os estados de Santa Catarina, Rio Grande do Sul, São Paulo, Paraná e Pernambuco (ARAUJO; CORREIRA, 2007). De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2013), a produção de cebola no Brasil na safra de 2013 foi de 1.398.487 toneladas, totalizando uma área de 60 mil hectares com um consumo médio de sementes de 2,0 Kg ha⁻¹; assim, a necessidade de sementes de cebola no Brasil pode ser estimada em 120 toneladas por ano.

Para garantir um adequado estabelecimento de plantas no campo, é de extrema importância a utilização de sementes de alta qualidade sanitária e fisiológica, sendo isto um importante insumo responsável pelo sucesso do empreendimento. A qualidade sanitária da semente interfere em seu poder germinativo e na formação de mudas. Sua deterioração, as anormalidades, lesões, e a morte de plântulas podem ser causadas por micro-organismos presentes na semente (FAIAD et al., 2003). Dentre os principais problemas fitossanitários da cultura destaca-se a antracnose ou mal de sete voltas, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. e Sacc. in Penz. sp. *cepae*.

A antracnose é uma doença de distribuição mundial, e ocorre em todas as regiões produtoras de cebola do Brasil. O fungo *C. gloeosporioides* ataca plantas em mais de 50 famílias, durante todas as fases do cultivo (GAVA; TAVARES, 2007). Estes fungos têm a capacidade de persistir no solo durante longos períodos, até encontrar as condições favoráveis para desenvolver-se (OLIVEIRA, 2010). A partir da fonte de inóculo, representadas por restos de cultura e matéria orgânica, pode ocorrer à disseminação das estruturas fúngicas, realizada pela água, do movimento do solo e do transporte de material infectado como mudas e sementes (OLIVEIRA, 2010). A disseminação dos esporos de *C. gloeosporioides* ocorre principalmente pelo vento e períodos chuvosos com elevada umidade relativa (90%) (TAVARES, 1995).

A principal estratégia de controle deste fungo é por meio de fungicida, sendo esta técnica utilizada na maior parte dos cultivos (HADDAD, 2003). Isto tende a aumentar os custos de produção e, em algumas ocasiões, pode afetar a saúde humana especialmente do agricultor, além de contribuir com a contaminação ambiental (CARVALHO; PIVOTO, 2011).

Atualmente, métodos de controle de doenças que sejam menos agressivos com o ambiente vêm sendo estudados, mostrando-se como uma boa alternativa, o uso de óleos essenciais extraídos de plantas medicinais e aromáticas; estas, por sua vez, apresentam compostos químicos que causam algum tipo de toxicidade direta, ou geram um fortalecimento nas estruturais da planta, incrementado assim sua resistência à penetração dos micélios dos fungos (OLANDA, 2011).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito direto de óleos essenciais como uma alternativa no controle do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* e determinar seu efeito sobre a qualidade fisiológica de sementes de cebola.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Considerações gerais sobre a cebola

De acordo com Kill et al. (2007), a primeira classificação da cebola foi feita por Carl Van Lineus em seu livro “Species Plantarum” como pertencente à família Liliaceae e ao gênero *Allium*, sendo a espécie *A. cepa* L. Os mesmos autores propuseram em seu trabalho a seguinte classificação adotada: “Sub-divisão – Angiospermae; Classe – Monocotyledoneae; Sub-classe – Liliidae; Ordem – Liliales; Família – Alliaceae; Gênero – *Allium* e Espécie - *Allium cepa* L”. Além da cebola, o gênero *Allium* inclui outras espécies de importância econômica como o alho (*A. sativum* L.), o alho porró (*A. ampeloprasum* L. var. *porrum* (L.) J. Gay), a cebolinha (*A. fistulosum* L.), entre outros (KILL et al., 2007).

De acordo com a FAO (2010), a produção mundial de cebola no ano de 2010 foi de 78.53 milhões de toneladas, sendo os maiores produtores a China, Índia, Estados Unidos, Egito, Iran e Brasil; esses países produziram o equivalente a 61% da produção mundial. O Brasil produz cerca de 1,75 milhão de toneladas representando 2% da produção mundial, sendo o sétimo maior produtor de cebola (NUNES et al., 2014).

A cebola é considerada a terceira espécie oleácea de importância no país, sendo superada apenas pela batata (*Solanum tuberosum* L.) e o tomate (*Solanum lycopersicum* L.), em volume produzido e pela renda gerada (BETTONI, 2011; MENEZES JÚNIOR et al., 2013). O agronegócio da cebolicultura teve um crescimento geométrico durante os anos de 1990 e 2012, o qual pode atribuir-se pelo uso de novos sistemas de irrigação, da maior utilização de híbridos, da adaptação da cultura a diferentes climas e solos, passando inclusive de uma atividade desenvolvida por pequenos produtores a aquela realizada por produtores com técnicas de cultivo mais modernas (MOTA et al., 2014).

No Brasil, o consumo de cebola nos últimos anos permaneceu praticamente estável, com um consumo entre 750.000 e 850.000 toneladas por ano; para atender este consumo, o país importa aproximadamente entre 330.000 a 750.000 toneladas anuais, sendo que esta variação irá depender da produção interna e das condições climáticas (FARIA et al., 2012).

No ano de 2014 a safra da cebola foi de 57.321 hectares, no ano de 2015 foram produzidos 56.756 hectares, com uma produção de 1.601.767 e 1.462.582 toneladas respectivamente, apresentando uma variação de -9% na produção. Neste ano de 2015, as regiões com maior produção foi a região Sul com uma produção de 710.056 toneladas, onde o maior produtor foi Santa Catarina com 426.916 toneladas, seguido do Rio Grande do Sul com 147.439 e finalmente o Paraná com 128.980 toneladas (SEAB, 2016).

A comercialização da cebola produzida no Brasil geralmente durante os meses de novembro até abril é ofertada pelo estado de Paraná, os outros meses do ano a cebola é oriunda de outros estados como: Santa Catarina, Rio Grande do Sul e São Paulo, entre outros (SEAB, 2013).

A época considerada ideal para o cultivo da cebola em nossas condições é de fevereiro a novembro. O cultivo de verão (semeio no final da primavera a início do verão) tem como principal inconveniente a bulbificação sobre altas temperaturas e maior incidência de doenças, pragas e plantas daninhas. Seu ciclo é completado em 125 a 140 dias, dependendo da cultivar, do sistema de cultivo (semeadura direta ou transplante de mudas) e das condições climáticas (MICHEREFF FILHO et al., 2012).

Segundo RESENDE et al. (2003), a cebola é uma hortaliça cuja adaptação em determinada localidade é condicionada por fatores do meio ambiente, como fotoperíodo e temperatura, o que limita a recomendação de uma mesma cultivar para uma faixa ampla de latitudes. O fotoperíodo e a temperatura se alteram em função da época do ano, e a produção em condições quando não adequadas podem ocasionar perdas na produção, reduzindo a bulbificação, emissão precoce do pendão floral e a ocorrência de plantas improdutivas. O estabelecimento adequado do estande também depende da germinação rápida e uniformidade das sementes, ou seja, da qualidade fisiologia das sementes utilizadas (RODO; MARCOS FILHO, 2003).

A cebola pode estar sujeita a uma série de doenças que podem afetar a produção significativamente em todas as regiões produtoras. A maior parte das áreas sob cultivo tem adotado sistema de produção convencional; este sistema apresenta uso excessivo de fertilizantes e tratamento químicos, gerando impactos negativos para o meio ambiente e para o homem (EPAGRI, 2000; EPAMIG, 2002; GONÇALVES et al., 2008).

A produção de cebola orgânica no Brasil ainda não possui cultivares desenvolvidos especificamente para este fim, pelo qual é utilizado cultivares desenvolvidos no sistema convencional. A produção orgânica de cebola é feita em pequena escala, sendo a maior parte das propriedades pequenas e de origem familiar. Nos últimos anos, o cultivo da cebola em sistema orgânico vem ganhando espaço nas regiões produtoras; um exemplo disto é Santa Catarina, onde segundo Camargo Filho e Alves (2005) a produção orgânica de cebola aparece nos estudos de mercado, com rendimento de 10 t ha, a um custo de R\$ 3.256,00.

Em testes realizados por dois anos seguidos, especialistas conseguiram com o manejo orgânico obter cerca de 38 ton ha de bulbos comerciais de cebola, uma quantidade superior à média registrada com os métodos tradicionais de cultivo na região (20 ton ha). Este resultado abre aos agricultores da região de São Francisco as portas para um mercado em franca expansão no Brasil de produtos orgânicos. (COSTA et al., 2008)

A elevação do preço dos fertilizantes minerais nos últimos anos e a procura por fontes alternativas de controle é uma das limitações para tornar o sistema de produção orgânico de cebola viável, devido à carência de tratamentos alternativos para o controle sanitário.

2.2 Agente etiológico *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae*

A cebola está sujeita a uma série de doenças que podem afetar diversas partes da planta. Algumas destas doenças podem causar grandes perdas, limitando o cultivo se não tomadas às medidas de controle adequadas (GAVA; TAVARES, 2007), sendo uma delas conhecida como antracnose ou mal de sete voltas. Esta doença é causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae*, que ataca toda a parte aérea da planta e os bulbos, levando à formação de bulbos “charutos”, e na fase de armazenamento, causando a podridão de bulbos (NUNES; KIMATI, 1997; REIS; OLIVEIRA et al., 2011).

Segundo Zambolim e Jaccoud Filho (2000), a doença ocorre em quase todas as regiões produtoras de cebola no Brasil, provocando perdas de até 100% em campos de produção. De acordo com Gava e Tavares (2007), a doença é caracterizada pelas lesões marrons alongadas, deprimidas e em círculos concêntricos nas folhas, como consequência da formação de grandes áreas necrosadas, as

folhas tornam-se cloróticas, retorcidas e enroladas, e com terminações secas e quebradiças, o qual origina seu nome popular conhecido como o mal de sete voltas. Nas bainhas das folhas e lâmina foliar podem-se observar lesões deprimidas, ovais e brancas. Outro sintoma da doença é a formação de manchas escuras nas escamas externas dos bulbos com estromas verdes-escuros a negros embaixo da cutícula das escamas. O fungo pode causar perdas também no estágio de plântulas ainda nas sementeiras. Neste caso, pode causar morte ou estiolamento, mela ou tombamento das mudas, seguindo de apodrecimento e formação de massa rosada de esporos do fungo.

No ano de 1961, o agente etiológico causal desta doença foi identificado como *Collectotrichum chardonianum* Nolla, que segundo Van (1957) é sinônimo de *Collectotrichum gloeosporioides*. No ano 1979 após descobrir que o fungo que infetava cebola tinha especificidade no hospedeiro, foi sugerido o nome de *Collectotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* para se referir aos isolados patogênicos da cebola.

Collectotrichum gloeosporioides f. sp. *cepae* é um fungo mitospórico que produz conídios hialinos e unicelulares (ZAMBOLIM; JACCOUD FILHO, 2000). Os conídios são unicelulares e cilíndricos, com as listras obtusas e asseptados (KIMATI et al., 1997).

O fungo sobrevive no solo em restos de cultura deixados no campo e também nas sementes. Os conídios são disseminados dentro do campo pelo vento, respingos da água da chuva ou da irrigação por aspersão, e pelos implementos agrícolas. A longa distância, sua disseminação ocorre através de bulbos e sementes infectadas ou contaminadas. Temperaturas entre 23°C e 30°C e umidade relativa alta por um período prolongado são condições que favorecem o desenvolvimento da doença (GAVA; TAVARES, 2007).

Os conídios germinam e afetam a cultura, geralmente a uma temperatura de 23°C a 30°C, penetrando nos estômatos da planta, e durante a infecção são produzidas fitotoxinas como metabolitos secundários e enzimas que degradam a parede celular.

Seu controle é realizado mediante a aplicação de fungicidas sistemáticos onde os mais usados são Tiofanato metílico (benzimidazol), Folpete (dicarboximida) e Quintozeno (cloroaromático) (GAVA; TAVARES, 2007). Como medida preventiva,

devem-se utilizar sementes saudáveis e evitar o movimento de pessoas entre as lavouras, e o monitoramento das lavouras para determinar possíveis focos de contaminação e evitar o progresso da doença (EPAGRI, 2006).

2.3 Tratamentos alternativos com óleos essenciais

O controle das doenças na agricultura é feito geralmente com tratamento convencional com agrotóxicos, sendo que esses produtos podem gerar perdas na produtividade e gerar resistência nos patógenos favorecendo o aparecimento de pragas secundárias, se não são utilizados adequadamente (MARQUES et al., 2004; DINIZ et al., 2008). Muitos dos contaminantes químicos presentes nas águas superficiais e subterrâneas estão relacionados com fontes de agrotóxicos devido a seu alto potencial dispersivo (ARIAS et al., 2007). Os processos de irrigação podem gerar um problema ambiental devido os componentes minerais dos fertilizantes que são facilmente lixiviados; por isso, uma grande quantidade de fertilizantes termina em rios e lagos onde podem gerar processos de eutrofização e contaminação das águas que são utilizadas para consumo potável (GLIESSMAN, 2002).

O interesse pela produção orgânica tem aumentado nos últimos anos, onde atualmente a sociedade tem mais consciência ambiental, o que leva a procura de alimentos mais saudáveis, livres de agrotóxicos levando a procura por tratamentos alternativos para o controle de pragas e doenças.

Na agricultura convencional, as sementes geralmente são tratadas com produtos químicos os quais geram muitos problemas ambientais. Com a demanda por um ambiente ecologicamente mais saudável, os óleos essenciais vêm mostrando resultados promissores no tratamento alternativo de sementes. Segundo SANTOS et al. (2012), a ação fúngica dos óleos essenciais pode estar relacionada com a diminuição do diâmetro e parede da hifa, desorganização da estrutura mitocondrial e a desorganização da estrutura da parede celular determinando a liberação do conteúdo celular.

Segundo Biasi e Deschamps (2009), o tratamento alternativo com óleos essenciais tem sido pesquisado para o controle de pragas e doenças, repelentes de insetos e indução de resistência nas plantas. Os óleos essenciais são os principais produtos do metabolismo secundário das plantas medicinais e aromáticas, apresentando diversos componentes químicos responsáveis pelo aroma e atividade

biológica. Uma interface química entre as plantas e o ambiente gera a síntese de metabolitos ligados a funções necessárias à sobrevivência da espécie. Os estímulos decorrentes do ambiente, no qual a planta se encontra, podem redirecionar a rota metabólica, ocasionando a biossíntese dos diferentes compostos (MORAIS, 2009; OLIVEIRA et al., 2011).

Segundo Morais (2009), os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, com peso molecular baixo, lipofílica, e em muitas ocasiões, odoríferas e líquidas, constituídos, na maioria das vezes, por moléculas de natureza terpênica, o qual caracteriza seu odor agradável. Podem ser extraídos por diferentes métodos como arraste com vapor d'água, hidrodestilação, solventes orgânicos ou expressão de pericarpo de frutos cítricos.

Os óleos essenciais são considerados fontes naturais para o desenvolvimento de novos produtos. Nos últimos tempos vem sendo descoberto novos compostos químicos de diferentes plantas, capazes de controlar o desenvolvimento de fitopatógenos (SILVA et al., 2009).

Alguns estudos mostram diversos resultados satisfatórios, como por exemplo, Pansera et al. (2012) avaliaram o efeito do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, *Salvia officinalis* e *Baccharis trimera* no controle do Mofo-branco ou Podridão de Esclerotinia. Estes autores verificaram a inibição total do crescimento micelial do fungo nas concentrações de 0,15% e 0,20%. Santos et al. (2010) observaram que o óleo essencial de *Schinus terebinthifolius*, gerou uma redução significativa do diâmetro micelial dos fungos *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *Colletotrichum* spp. e *Fusarium* sp.

Anaruma et al. (2010) observaram total inibição do crescimento micelial do fungo *C. gloeosporioides*, quando foram utilizadas 0,3 mg ml⁻¹ do óleo essencial de erva-cidreira (*Melissa officinalis*). Pimentel et al. (2010) avaliaram o efeito fúngico do óleo essencial de *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. e K. Shum sobre *Aspergillus flavus* Link, isolado da castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa* Humb. e Bonpl.). Estes autores verificaram a inibição total do crescimento micelial do fungo a partir da concentração de 500 ppm. Da mesma maneira, Martins et al. (2011) avaliaram o potencial do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, sobre os fungos *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Alternaria alternata*, constatando a inibição do crescimento micelial dos patógenos nas concentrações de 0,2%.

Segundo Salgado et al. (2003), o óleo essencial extraído de diferentes espécies de eucalipto como *Eucalyptus urophylla* S.T Blake e *E. camaldulensis* Dehn em uma concentração de 200 µg mL⁻¹ apresentaram uma inibição total do fitopatógeno *Bipolaris sorokiniana* Shoemaker. Enquanto para *Fusarium oxysporum* Schlelecht, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Saccardo, esta inibição ocorreu na concentração de 1000 µg mL⁻¹.

Abaixo segue uma descrição sobre alguns óleos utilizados no tratamento de sementes e no controle de patogenos:

2.3.1 Oleo essencial de Manjeriçãõ (*Ocimum basilicum* L.)

O manjeriçãõ (*Ocimum basilicum* L.) é uma planta aromática e medicinal pertencente à família Lamiaceae, originária da Índia que se adaptou bem às condições climáticas brasileiras, o qual permite que seja cultivado o ano todo. Tem grande valor econômico, sendo utilizada como planta ornamental, condimentar, medicinal, aromática na indústria farmacêutica, de cosméticos, perfumaria e na produção de óleo essencial (VELOSO, 2012). Esta planta possui inúmeros compostos químicos como linalol, estragol, farnesene, eugenol e cineol, sendo que todos estes são possuidores de propriedades repelentes (MARTINEZ-VELAZQUEZ et al., 2011). Apresenta uma importância econômica no Brasil pelo consumo de seu óleo in natura, na culinária e no processamento industrial como na aromatização, alimentos e bebidas (FERNANDES, 2004). O linalol, pelo seu composto maioritário, é utilizado como síntese de diversos compostos, como a do acetato de linalila, testado como acaricida, bactericida e fungicida (RADÜNZ, 2004).

Pereira et al. (2006), em seu trabalho de inibição do desenvolvimento de *Aspergillus niger* Van. através da utilização do óleo essencial de manjeriçãõ (*Ocimum basilicum* L.) nas concentrações de 500 mg mL⁻¹; 1000 mg mL⁻¹; 1500 mg mL⁻¹ e 2000 mg mL⁻¹, observaram que o óleo essencial de manjeriçãõ teve um efeito inibitório no desenvolvimento micelial do fungo a partir da concentração de 1500 mg mL⁻¹. Segundo Camatti-sartori et al. (2011), o óleo essencial de manjeriçãõ a 50% proporcionou uma inibição acima de 40% para *Fusarium oxysporum* Schltdl.

Estudos desenvolvidos por Costa et al. (2009) demonstraram que o óleo essencial de manjeriçãõ inibiu consideravelmente o crescimento da bactéria *Pectobacterium carotovorum* e sua CIM (Concentração Inibitória Mínima) foi eficaz

na concentração de 2%. Segundo Brito et al. (2010), em seus estudos realizados com o óleo essencial de manjeriço nas concentrações de 0,5%; 1,0% e 2,0%, observaram efeitos desfavoráveis sobre a germinação e vigor de sementes de *Cereus jamacaru* DC., diminuindo o número de sementes germinadas.

Estudos realizados por Rosado et al. (2009) demonstraram que a qualidade fisiológica de sementes de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) tratadas com o óleo essencial de manjeriço apresentou efeito inibitório apenas para o índice de velocidade de germinação. Este mesmo estudo demonstrou que o óleo essencial de manjeriço apresenta potencialidades alelopáticas inibitórias em sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) e melissa (*Melissa officinalis* L.) na germinação, no índice de velocidade de germinação e no comprimento das raízes.

2.3.2 Oleo essencial de Capim-limão (*Cymbopogon citratus* Staph)

O capim-limão (*Cymbopogon citratus*), pertencente à família Poaceae, é uma planta aromática cultivada para produção comercial de óleo essencial, conhecido internacionalmente como óleo de “Lemongrass” (CARVALHO et al., 2005). Trata-se de uma planta herbácea, cespitosa, estolonífera, perene, que cresce cerca de 1,0 m de altura, forma touceiras de perfilhos ao nível do solo, de folhas longas, linear lanceoladas, ásperas nas duas faces, paralelinérveas, bordo liso, cortante, nervura central grossa e caniculada, recobertas por uma fina camada de cera (CASTRO; RAMOS, 2003; GUIMARÃES, 2007).

O componente majoritário do *C. citratus* é o citral, o qual pode ser responsável de sua atividade como germicida, repelente de inseto, e atividade microbiana; além disso, é de muito interesse para a indústria. A aplicação do óleo essencial de capim-limão vem sendo estudada por diferentes autores como Nguetack et al. (2004), os quais avaliaram o efeito do óleo essencial na redução do desenvolvimento micelial de *Fusarium moniliforme* Sheldon, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus fumigatus* Fresenius, sendo esta redução observada em concentrações entre 800 ppm e 2500 ppm.

O óleo essencial de capim-limão em cinco concentrações (5 $\mu\text{g L}^{-1}$, 10 $\mu\text{g L}^{-1}$; 25 $\mu\text{g L}^{-1}$; 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$) causou inibições miceliais de *Alternaria alternata* (Fr.) Kiessler, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Saccardo, *Fusarium*

oxysporum cubense (Foc.) e *Bipolaris sorokiniana* Shoemaker (GUIMARÃES et al., 2011).

Silva e Pasin (2006) avaliaram o efeito do óleo essencial de capim-limão em uma concentração de 30% sobre os fungos *Fusarium* sp., *Rhizopus* sp. e *Aspergillus ochraceus* na redução da incidência em sementes de *Helianthus annuus* L. (girassol). Segundo Ribeiro et al. (2013), o óleo essencial do capim-limão reduziu 63,86% a severidade do fungo *Oidiopsis taurica* em plantas de pimentão (*Capsicum annum* L.).

Souza et al (2007) detetaram ação do capim-limão no aumento da germinação das sementes de milho de 24% com relação a testemunha na concentração de 0,5%.

2.3.3 Oleo essencial de Citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle.)

A citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle.) é uma planta perene, pertence à família Poaceae, é cultivada em regiões tropicais e é reconhecida por suas propriedades aromáticas. O cultivo no Brasil é muito importante para o mercado de produtos naturais, sendo este óleo muito utilizado na exportação, e muito utilizado como repelente, na indústria cosmética e farmacêutica (ROCHA et al., 2000). O óleo essencial de citronela contém componentes como citronelal, geraniol e limoneno (PEREIRA, 2008).

Mata et al. (2009) realizaram estudos para o controle alternativo de patógenos em sementes de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.) com o óleo essencial de citronela, e constataram que o emprego do óleo essencial nas maiores concentrações reduziu a incidência de fungos e aumentou a germinação das sementes de mandacaru quando comparadas com a testemunha.

Estudos vêm apresentando resultados satisfatórios de efeitos antifúngicos como, por exemplo, efeito direto na germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* Syd. e P. Syd. em sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) utilizando concentrações de 1%, 0,5%, e 0,3% do óleo essencial de citronela (MEDICE et al., 2007). Segundo Seixas et al. (2011), o óleo essencial de citronela apresentou 100% de inibição do crescimento micelial do patógeno *Fusarium subglutinans*, nas alíquotas de 15 µL, 20 µL e 25 µL aos 2 e 4 dias após a repicagem.

Perini et al. (2011), em sua pesquisa de avaliação do efeito curativo e preventivo do óleo essencial de citronela no controle de *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc., verificou que com a aplicação do fungicida e do óleo essencial diluído na concentração de 2%, as plantas não apresentaram sintomas de brusone em 50% das seis repetições utilizadas no experimento.

Em experimentos realizados por Marco et al. (2004), os quais avaliaram o efeito dos óleos essenciais de citronela em quatro concentrações (0 ml L⁻¹; 0,25 ml L⁻¹; 0,5 ml L⁻¹ e 1,0 ml L⁻¹) na germinação de sementes de *Chloris barbata* (L.) Sw., observaram que o óleo essencial inibiu totalmente a germinação das sementes. Alves et al. (2004) observaram o efeito antifúngico do óleo essencial de citronela em cinco concentrações (0,0%, 0,001%, 0,01%, 0,1% e 1,0%), este óleo essencial evidenciou potencialidades alelopáticas na germinação e comprimento das raízes de plântulas de alface, efeitos que variaram de acordo com a concentração do óleo.

2.3.4 Oleo essencial de Tomilho (*Thymus vulgaris* L.)

O tomilho (*Thymus vulgaris* L.) é considerado uma planta medicinal, pertence à família Lamiaceae, e no Brasil é cultivado no sul e no sudeste. A atividade antifúngica do óleo essencial de tomilho é resultante da presença de timol e carvacrol que possuem atividade antimicrobiana contra amplo espectro de microrganismos (ROMERO et al., 2011). O carvacrol tem sido estudado por seus efeitos bactericidas, por outro lado o timol tem efeitos antibacterianos, antifúngicos e antihelmínticos (DAFERERA et al., 2000).

Estudos de Pereira et al. (2011) mostram que o óleo essencial de tomilho sobre *Oidiopsis taurica* na cultura do pimentão, reduziu a severidade do fungo em 60,78%. Pereira et al. (2008) avaliaram o óleo essencial de tomilho e observaram que as concentrações crescentes de óleo diminuem a germinação de conídios e o crescimento micelial de *Cercospora coffeicola* Berk e Cooke. Segundo Tagami et al. (2009), a utilização do óleo essencial de tomilho apresenta resultado promissório demonstrando sua ação fungitóxica sobre o crescimento micelial dos fungos *Alternaria alternata* (Fr.) Kiessler, *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils., *Rhizoctonia solane* Kuhn e *Sclerotium rolfsii* Sacc. Os estudos realizados por Romero et al. (2011) apresentam resultados que sugerem a potencialidade de aplicação do óleo essencial de tomilho para o controle de doenças fúngicas

ocasionados por *Corynespora cassiicola* Berk e Curt., *Erwinia psidii*, *Sclerotinia minor* Jagger, *Colletotrichum musae* Berk e Curt., *Fusarium moniliforme* Sheldon e *Myrothecium verrucaria* (Albertini e Schwein) Ditmar.

Souza et al. (2004) avaliaram os óleos essenciais de condimentos sobre o desenvolvimento micelial de fungos associados a produtos de panificação; neste estudo, o óleo de tomilho foi testado nas concentrações de 500 mg mL⁻¹; 1000 mg mL⁻¹; 1500 mg mL⁻¹ e 2000 mg mL⁻¹, sendo que os autores observaram que o óleo inibiu o crescimento micelial dos fungos testados em todas as concentrações.

Forte et al. (2008) utilizaram o óleo essencial de tomilho em sete concentrações (0%, 0,01%, 0,025%, 0,05%, 0,075%, 0,1%, 0,5% e 1,0%) sobre a germinação da alface (*Lactuca sativa*), demonstrando que o óleo essencial afeta a germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes nas concentrações de 0,5% e 1,0 %.

Segundo Teixeira (2010), o óleo essencial de tomilho foi eficiente no controle de *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton na concentração de 0,1% em sementes de milho (*Zea Mays* (L.)) inoculadas artificialmente.

2.3.5 Oleo essencial de Sálvia (*Salvia officinalis* L.)

A sálvia (*Salvia officinalis* L.) pertencente à família Lamiaceae, é uma planta originária do Mediterrâneo e aclimatado na região Sul do Brasil. Vem sendo utilizada para fins medicinais e alimentícios. O óleo essencial de sálvia é obtido das folhas e das unidades florais, tradicionalmente extraídos por arraste de vapor com rendimento variando de 0,5% a 1,1%. Estudos demonstram que o óleo essencial de sálvia contém tujona e a cânfora como maiores componentes (POVH; ONO, 2006). Esses compostos são biologicamente ativos e possuem ação tóxica e farmacológica (DUKE, 2002).

Segundo Ribeiro et al. (2013), o óleo essencial de sálvia tem eficiência sobre a severidade do fungo *Oidiopsis taurica* em pimentão reduzindo sua severidade em um 53,47%. Outros estudos também demonstram a eficiência do óleo essencial de sálvia em estudos *in vitro* contra vários patógenos, tais como *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp. e *Fusarium* sp. (PINTO et al., 2007).

Estudos realizados por Dagostin et al. (2010) mostram a capacidade do óleo essencial de sálvia no controle do míldio da videira (*Plasmopara vitícola* (Berk. e

Curt.) Berl.) em condições de casa de vegetação e campo, onde houve uma redução de 94% na incidência da doença.

Simoneto e Silva (2010) testaram o efeito alelopático do óleo essencial de sálvia nas concentrações de 0%; 7.5%; 15%; 22.5% e 30%. Estes autores verificaram que o óleo essencial estimulou a germinação das sementes de girassol comparado ao controle. Entretanto, inibiu o desenvolvimento da raiz das plântulas de milho e girassol na concentração mais alta (30%) e de tomate, na concentração de 7,5%.

Diante o exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito direto de óleos essenciais de capim-limão, citronela, manjeriço, sálvia e tomilho na qualidade fisiológica de sementes de cebola (*Allium cepa* L) e sua utilização no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* em sementes de cebola.

3.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, M.S.; MADEIROS FILHO, S.; 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, n. 11, p. 1083-1086, nov. 2004.

ANARUMA, N. D.; SCHMIDT, F. L.; DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; DELARMELINA, C.; BENATO, E. A.; SATORATTO, A. Control of Colletotrichum gloeosporioides (penz.) Sacc. in yellow passion fruit using *Cymbopogon citratus* essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 66-73, 2010.

ARAUJO, J.L.; CORREIRA, L.C. **Cultivo da cebola no nordeste: Custos**. Petronila: Embrapa Semi-Arido. Sistemas de Produção, nov. 2007. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Cebola/CultivoCebolaNordeste/custos.htm>>. Acesso em: 21 oct. 2014.

ARIAS, A.L., BUSS, D.F.; ALBUERQUERQUE, C.; INACIO, A.F.; FREIRE, M.M.; EGLER, M.; MUGNAI, R.; BAPTISTA, D.F. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Ciência e saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v.12, n.1, p. 61-72, jan./mar. 2007.

BETTONI, M. M. **Desempenho de cultivares de cebola em sistema orgânico na região metropolitana de Curitiba**. 2011.17 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Paraná.

BIASI, L. A.; DESCHAMPS, C. **Plantas aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial**. Curitiba: Layer Graf, 2009. 160 p.

BRITO, N.; NASCIMENTO, L.C.; COELHO, M.; FELIX, L.P. Efeitos de óleos essenciais na germinação de sementes de *Cereus jamacaru*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Pernambuco, v. 5, n. 2, p. 207-211, abr./jun. 2010.

CAMARGO FILHO, WP., ALVES, H.S. Produção de cebola no Mercosul: aspectos tecnológicos e integração de mercado no Brasil e na Argentina. **Informações Econômicas**. São Paulo, v. 35, n. 5, p.7-17, maio. 2005.

CAMATTI-SARTORI, V.; MAGRINI, F.E.; CRIPPA, L.B.; MARCHETT, C.; VENTURIN, L.; SILVA-RIBEIRO, R.T. Avaliação *in vitro* de extratos vegetais para o controle de fungos patogênicos de flores. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Caixas do sul, p. 117-122. 2011.

CARVALHO, C.M.; COSTA, C.P.; SOUSA, J.S.; SILVA, R.D.; PAIXÃO, F.R. Rendimento da produção de óleo essencial de Capim-santo submetido a diferentes tipos de adubação. **Revista da Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v. 5, n. 2, p. 1-8, 2005.

CARVALHO, N.; PIVOTO, T. Ecotoxicologia: conceitos, abrangência e importância agrônômica. **Monografias ambientais**, v.2, n.2, p.176 –192. 2011.

CASTRO, L. O.; RAMOS, R. L. D. **Principais Gramíneas Produtoras de Óleos Essenciais**: capim-cidrón, *Cymbopogon martinii* (Rox.), palma-rosa, *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle, citronela, *Elyonurus candidus* (Trin.) Hack., capim-limão, *Vetiveria zizanioides* (L.). Porto alegre: FEPAGRO, 2003. 23p

COSTA, C. L. **Viva Melhor Com a Medicina Natural**. 1. ed. 1996. 410p.

COSTA, N. D.; ANDREOTTI, C. M. **A cultura da cebola**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica: Petrolina: Embrapa Semi-Arido, 2002. 107p.

COSTA, N.D.; ARAÚJO, J.F.; SANTOS, C.A.; RESENDE, G.M.; LIMA, M.C. Desempenho de cultivares de cebola em cultivo orgânico e tipos de solo no Vale do São Francisco. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 4, p. 476-480, out./dez. 2008.

COSTA, C.G.; SANTOS, M.S.; BARROS, H.M.; AGRA, P.M; FARIAS, M.A. Efeito inibitório do óleo essencial de manjeriço sobre o crescimento in vitro de *Erwinia carotovora*. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.3, n.3, p.35-38, set. 2009.

DAFERERA, D.J.; ZIOGAS, B.N.; POLISSIOU, M.G. analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. **Journal Agricultura and Food Chemistry**, p. 2576-2581. 2000

DAGOSTIN, S.; FORMOLO, T.; GIOVANNINI, O.; PERTOT, L. *Salvia officinalis* extract can protect grapevine against *Plasmopara viticola*. **Plant Disease**, v. 94, p. 575-580. 2010.

DINIZ, S. P. S. S.; COELHO, J. S.; ROSA, G. S.; SPECIAN, V.; OLIVEIRA, R. C.; OLIVEIRA, R. R. Bioatividade do óleo essencial de *Mentha arvensis* L. no controle de fungos fitopatogénos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.10, n.4, p.9-11. 2008.

DUKE, J.A. Biologically: active compounds importante spices. In: CHARALAMBOUS, G. **Spices, herbs and edible fungi**. Amsterdam: Elsevier Publishers, 1994. Egypt. J. Hortic, 2002. p. 459-478

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA- EPAGRI. **Sistema de produção para cebola para o estado de Santa Catarina**. Florianópolis, 2000. 91p.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA- EPAGRI. **Manejo fitossanitário na cultura da cebola**, Florianópolis, 2006, p.55-59.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUARIA DE MINAS GERAIS- EPAMIG. Cultura da cebola. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 218, p. 1-4. 2002.

FAIAD, M.R.; SALOMÃO, A.N.; PADILHA, L.S.; MUNDIM, R.C. **Sobrevivência de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc em sementes de feijão (*Acca sellowiana* Burr.) durante o armazenamento.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1p. 2003.

FARIA, M. V.; MORALES R.F.; RESENDE, J.V.; ZANIN, D.S.; MENEZES, C.B.; KOBORI, R.F. Desempenho agronômico e heterose de genótipos de cebola. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 220-225. 2012.

FERNANDES, P.C.; FACANALI, R.; TEIXEIRA, J.F.; FURLANI, P.R.; MARQUES, M. M. Cultivo de manjeriço em hidroponia e em diferentes substratos sob ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, vol.22, n.2, abr./jun. 2004.

FORTE, F.; PAULETTI, G.F. **Efeito alelopático do óleo essencial de *Thymus mastichina* sobre sementes de alface.** In. XVI ENCONTRO DE JOVENS PESQUISADORES. Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa Universidade de Caxias do Sul, Universidade de Caxias do Sul. 2008

KILL, L.H.; RESENDE, G.M.; SOUZA, R.J. **Cultivo da cebola no nordeste: Botânica.** Petrolina: Embrapa Semi-Arido. Sistemas de Produção, nov. 2007. Disponível em: < <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Cebola/CultivoCebolaNordeste/doencas.htm>>. Acesso em: 21 oct. 2014.

GAVA, C.T.; TAVARES, S.H. **Cultivo da cebola no nordeste: Doenças.** Petrolina: Embrapa Semi-Árido. Sistemas de Produção, nov. 2007. Disponível em: < <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Cebola/CultivoCebolaNordeste/doencas.htm>>. Acesso em: 21 oct. 2014.

GLIESSMAN, S.P. **Agroecología: procesos ecológicos en agricultura sostenible.** Costa rica, 2002. 350 p. ISBN; 9977-57-385-9

GONÇALVES P.; BOFF P.; ROWE E. 2008. **Referenciais tecnológicos para a produção de cebola em sistemas orgânicos.** Florianópolis: EPAGRI, 21p.

GUIMARÃES, L.L. **Tudo da estabilidade e do efeito fungitóxico do óleo essencial de Capim-limão (*cymbopogon citratus* (DC.) stapf.)**. 2007. 72p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Lavras Universidade, Mina Gerais.

GUIMARÃES, L.L.; CARDOSO, M.G.; ZACARONI, L.M.; LIMA, R.K. Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (*cymbopogon citratus* (DC.) Stapf). **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 6, p. 1476-1480. 2008.

GUIMARÃES, L.L.; CARDOSO, M.G.; SOUSA, P.E.; ANDRADE J.; VIEIRA, S.S. Atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral. **Revista Ciência Agronômica**, Gurupi, v. 42, n. 2, p. 464-472, abr./jun. 2011.

HADDAD, F.; MAFFIA, E.; MIZUBUTI, E. Avaliação de fungicidas para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em cebola. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, vol.28, n.4, jul./ago. 2003.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA- IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 1-88, mar. 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA- IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 8, p. 1-84, ago. 2013

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA- IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 12, p. 1-88, dez. 2015

KIMATI, H.; AMORIN,L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas**. 3. ed. São Paulo: agronômica Ceres, 1997. 705p.

MARCO, C.A.; BORGES, N.S.; CORREA, M.P.; INNECCO, R.; MATTOS, S.H.; NASCIMENTO, A.B. Óleos essenciais de capim citronela e de alecrim pimenta na germinação de sementes de *Chloris barbata*, Sw. **Associação brasileira de horticultura**. 2004. Disponível em: http://www.abhorticultura.com.br/biblioteca/arquivos/Download/Biblioteca/44_579.pdf. Acesso em: 21 oct. 2015.

MARQUES, R.P.; MONTEIRO, A.C.; PEREIRA, G.T. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogenicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 6, p. 1675-80. 2004.

MARTINS, J.A.S.; SAGATA, E.; SANTOS, V.A. Avaliação do efeito do óleo de melaleuca sobre o crescimento micelial invitro de fungos fitopatogenicos. **Bioscience journal**, v. 27, n. 1. 2011

MARTINEZ-VELAZQUEZ, G. A.; CASTILLOHERRERA, R.; ROSARIO-CRUZ, J. M.; FLORESFERNANDEZ, J.; LOPEZ-RAMIREZ, R.; HERNANDEZ-GUTIERREZ, E.; LUGO-CERVANTES, C. Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, Pimenta dioica and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, Berlim, v. 108, n. 2, p. 481-487. 2011.

MEDICE, R. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. e P. Syd. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 31.n. 1, p. 83-90, jan./feb. 2007.

MICHEREFF FILHO, M.; GUIMARAES, J.A.; MOURA, A. P.; OLIVEIRA, V.R.; LIZ, R.S. **Reconhecimento e controle de pragas da cebola**. Brasília, oct. 2012. Disponível em: < http://www.cnph.embrapa.br/paginas/serie_documento/publicacoes2012/ct_110.pdf>. Aceso em: 23 oct. 2014.

MENEZES JÚNIOR, F. GONÇALVES P.S.; KURTZ C. Biomassa e extração de nutrientes da cebola sob adubação orgânica e biofertilizante. **Horticultura Brasileira**, Vitoria da Conquista, v. 31, n. 4, p. 642-648, Oct./Dec. 2013.

MOTA, J.H.; CHOUPINA, A.R.; SILVA, A.C.; YURI, J.E.; RESENDE, G.M. Dinâmica da produção brasileira de cebola entre 1990 e 2012. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 2, p. S0270-S0275, 2014. jul. 2014.

MATA, M.F.; ARAUJO, E.; NASCIMENTO, L.C.; SOUZA, A.F.; VIANA, S. Incidência e controle alternativo de patógenos em sementes de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC, *Cactaceae*). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 7, n. 4, p. 327-334, out./dez. 2009.

MORAIS, L.A.S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v.27, n.2, p. S4050-S4063. 2009.

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

NUNES, M.E.T.; KIMATI, H. Doenças do alho e da cebola (*Allium sativum* L. e *Allium cepa* L.). In: KIMATI, H., AMORIM, L., BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A., REZENDE, J.A.M. **Manual de fitopatologia**. 3 ed. São Paulo: Ceres, 1997. p 58-69.

NUNES, R.C.; OLIVEIRA, A.B.; DUTRA, A.S. Desempenho agrônômico de híbridos de cebola na região semiárida em Baraúna-RN. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 3. jul./sep. 2014.

OLANDA, J.F. **Estudo da composição química e atividade biológica do óleo essencial de ruta *graveolens linneau* (rutaceae)**. 2011. 122 p. Tese (Doutorado). Universidade Federal da Paraíba. Programa de pós-graduação em química.

OLIVEIRA, M.M.M.; BRUGNERA, D.F.; CARDOSO, M.G.; GUIMARÃES, L.G.L.; PICCOLI, R.H. Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de *Cymbopogon*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.13, n.1, p. 8–16. 2011.

OLIVEIRA, M.N. **Antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)) incidente em manga (*Mangifera indica* L.)**. Dezembro. 2010. Disponível em <<http://fitopatologia1.blogspot.com.br/2010/12/antracnose-colletotrichum.html>> Acesso: em 22 oct. 2014.

PANSERA, M. R.; VICENÇO, C. B.; PRANCUTTI, A.; SARTORI, V. C.; RIBEIRO, R.T. Controle alternativo do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (LIB.) De Bary causador da podridão de sclerotinia, com óleos essenciais e extratos vegetais. **Revista Brasileira de Agroecologia**, p. 126-133, Ago. 2012

PEREIRA, M.C.; VILELA, G.R.; COSTA, L.M.S.; FERREIRA, R.; FERNANDES, A.F.; NASCIMENTO, E.W.; PICCOLI R.H. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, vol. 30, n.4, jul./Aug. 2006.

PEREIRA, R.B. **Potencial de óleos essenciais no manejo de ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro**. 2008. 119 p.Tese (Doutorado). Universidade Federal de Lavras. Minas Gerais.

PEREIRA, R.B. Extrato de casca de café, óleo essencial de tomilho e acibenzolar-S-metil no manejo da cercosporiose-do-cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n.10, Oct. 2008.

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**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 115-123. 2011.

PERINI, V.B.M.; CASTRO, H.G.; SANTOS, G.R.; AGUIAR, R.W. S.; LEÃO, E.U.; SEIXAS, P.T. Avaliação do efeito curativo e preventivo do óleo essencial do capim citronela no controle de *Pyricularia grisea*. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, Gurupi, v. 2, n. 2, p. 23-27. 2011.

PIMENTEL, F.A.; CARDOSO, M.G.; BATISTA, L.R.; GUIMARÃES, L.G.L.; SILVA, D.M. Ação fungitóxica do óleo essencial de *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. e K. Shum sobre o *Aspergillus flavus* isolado da castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*). **Acta Amazônica**, Belém, v. 40, n. 1, p. 213-220. 2010.

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

POVH, J.A.; ONO, E.O. Rendimento de óleo essencial de *Salvia officinalis* L. sob ação de reguladores vegetais. **Acta scientiarum**, Maringá, v. 28, n. 3, p. 189-193, jul./sep. 2006.

RADÜNZ, L.L. **Efeito da temperatura do ar de secagem no teor e na composição dos óleos essenciais de guaco (*Mikania glomerata Sprengel*) e hortelã-comum (*Mentha x villosa Huds*)**. 2004. 90 p. Tese (doutorado). Universidade de Viçosa. Minas Gerais.

REIS, A.; OLIVEIRA, V.R. **Agressividade de Isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* em Cebola**. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, Brasília, DF, 2009. Disponível em: < http://www.cnph.embrapa.br/paginas/serie_documentos/publicacoes2009/bpd_53.pdf >. Acesso em: 23 oct 2014.

RESENDE, G.M.; CHAGAS S.R.; PEREIRA LV. Características produtivas de cultivares de cebola no sul de Minas Gerais. **Horticultura Brasileira**, Minas gerais, p. 722-725. 2003.

RIBEIRO, M.V.; PEREIRA, T.S.; PEREIRA, R.B.; VIDAL, M.C.; PINHEIRO, J.B. Óleos essenciais no controle do oídio em pimentão. In: JORNADA CIENTÍFICA DA EMBRAPA HORTALIÇAS, 3. 2013, Brasília. **Resumo...**Brasília: Embrapa Hortaliças, 2013.

ROCHA, S R.; MING, L.C.; MARQUES, M.M. Influencia de cinco temperaturas de secagem no rendimento e composição do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus Jowwitt*). **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botacatu, v. 3, n. 1, p. 73-78. 2000.

RODO, A.B.; MARCOS FILHO, J. Onion seed vigor in relation to plant growth and yield. **Horticultura Brasileira**, v.21, n.2, p.220-226. 2003.

ROMERO, A.L.; ROMERO, R.B.; OLIVEIRA, A.L.; OLIVEIRA, R.R.; VIDA, J.B. Efeito do óleo essencial de *Thymus vulgaris* no crescimento micelial e na germinação de esporos de *Corynespora cassiicola*. In: CONGRESSO CIENTIFICO DA REGIÃO CENTRO- OCIDETAL DO PARANA. 4. 2011, Campo Mourão. **Anais...** Campo Mourão: IV CONCCEPAR, 2011.

ROSADO, L.D.S.; RODRIGUES, H.C.A.; PINTO, J.E.B.P.; CUSTÓDIO, T.N.; PINTO, L.B.B.; BERTOLUCCI, S.K.V. Alelopatia do extrato aquoso e do óleo essencial de folhas do manjericão “Maria Bonita” na germinação de alface, tomate e melissa. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.11, n.4, p.422-428. 2009.

SALGADO, A.P.; CARDOSO, M.G.; SOUZA, P.E.; SOUZA, J.A.; ABREU, C.M.P.; PINTO, J.E.B.P. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolares sorokiniana*. **Ciência e Agrotecnologia**, Manaus, v. 27, n. 1, p. 249-254. 2003.

SANTOS, F.C.; VOGEL, F.F.; MONTEIRO, S.G. Efeito do óleo essencial de manjericão (*Ocimum basilicum L.*) sobre o carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em ensaios *in vitro*. In: **Seminário Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 3, p. 1133-1140, maio/jun. 2012.

SANTOS, A. C. A.; ROSSATO, M.; SERAFINI, L. A.; BUENO, M.; CRIPPA, L. B.; SARTORI, V. C.; DELLACASSA, E.; MOYANA, P. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Anacardiaceae*, do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 154-159, 2010

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO- SEAB. **Olericultura - Análise da Conjuntura Agropecuária**. Salvador, 2013. Disponível em:< http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/olericultura_2013_14.pdf >. Acesso em: 22 oct. 2015.

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO- SEAB. **Olericultura - Análise da Conjuntura Agropecuária**, Salvador, 2016. Disponível em: < http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2016/Olericultura_2015_16.pdf >. Acesso em: 24 abril. 2016.

SEIXAS, P.L; CASTRO, H.C.; SANTOS, G.R.; CARDOSO, D.P. Controle fitopatológico do *Fusarium subglutinans* pelo óleo essencial do capim citronela (*Cymbopogon nardus* L.) e do composto citronelal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, p.523-526. 2011.

SILVA, P.V; PASIN, L.P. Efeito de extrato aquoso de *Cymbopogon citratus* Stapf (capim- limão), *Ocimum basilicum* L. (manjeriçã), *Vernonia scorpioides* (piracá) na incidência fúngica nas sementes de *Helianthus annuus* L. (girassol). In: X Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação. 2006. São Paulo. **Resumo**...São Paulo: Universidade do Vale do Paraíba. 2006. p. 167-170.

SILVA, A. C.; SALES, N.P.; ARAÚJO, A.V.; CALDEIRA, C.F. Efeito in vitro de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Isolado do maracujazeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, p. 1853 -1860. 2009.

SIMONETO, E.L.; CRUZ, C.L. Alelopatia de sálvia sobre a germinação e o desenvolvimento do milho, tomate e girassol. **Cultivando o saber**, Cascavel, v. 3, n. 3, p. 48-56. 2010.

SOUZA, S.C.; PEREIRA, M; ANGÉLICO, C.L.; PIMENTA, C. Avaliação de óleos essenciais de condimentos sobre o desenvolvimento micelial de fungos associados a produtos de panificação. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v.28, n.3, may./jun. 2004.

SOUZA, A.E.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTOZ, L.C. Atividade Antifúngica de Extratos silvade Alho e Capim-Santo sobre o Desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* Isolado de Grãos de Milho. **Fitopatologia Brasileira**, Paraíba, p. 465-471. Nov./Dez. 2007.

TAGAMI, O.K.; GASPARIN, M.D.G.; SCHWAN-STRADA, K.R.; CRUZ, M.E.S.; ITAKO, A.T.; TOLENTINO JÚNIOR, J.B.; MORAES, L.M.; STANGARLIN, J.R. Fungitoxidade de *Bidens pilosa*, *Thymus vulgaris*, *Lippia alba* e *Rosmarinus officinalis* no desenvolvimento *in vitro* de fungos fitopatogênicos. In: Seminario Ciências Agrárias, 2009, Londrina. **Anais...Londrina: Universidade Estadual de Londrina**, 2009, v. 30, p. 285-294.

TAVARES, S.C.C. **Principais doenças e alternativas de controle. Cultivo de Mangueira. Petronila: Embrapa Semi-Arido Brasileiro. Informação tecnológica**, 1995. Disponível em: < <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Manga/CultivodaMangueira/doencas.htm>>. Acesso em: 21 oct. 2015.

TEIXEIRA, G.A. **Potencialidades do tratamento de sementes com óleos essenciais, no patossistema *stenocarpella maydis* milho**. 2010. 49 p. Tese (Mestrado). Universidade Federal de Lavras. Minas Gerais.

VAN ARX. **Die Arten der gattung *Colletotrichum cda* (in german)**. *Phytopathol*, v 29, 1957,220-203p.

VELOSO, A.V. **Divergência genética, análise do óleo essencial e bioatividade de acessos de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) no estado do Tocantins.** 2012. 93 p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Tocantins. Tocantins.

ZAMBOLIM, L.; JACCOUD FILHO, D.S. Doenças causadas por fungos em alho e cebola. IN: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; COSTA H. **Controle de doenças de Plantas Hortaliças**, Viçosa, v. 1, p. 1-26. 2000.

CAPITULO 2

Óleos essenciais e a qualidade fisiológica de sementes de cebola (*Allium cepa* L.)

RESUMO

Para garantir um adequado estabelecimento do campo, é de extrema importância à utilização de sementes de alta qualidade fisiológica e sanitária. Atualmente, com a crescente demanda por produtos livres de contaminação por resíduos químicos, tem-se incentivado a busca por métodos alternativos de controle, como por exemplo, o emprego de substâncias vegetais pelo seu baixo impacto ambiental e seu efeito alelopático. Essas substâncias, podem interferir negativa ou positivamente na planta ou nos micro-organismos por meio da liberação de compostos químicos, além de também afetar a qualidade fisiologia das sementes. Diante o exposto, o objetivo deste trabalho foi de avaliar o efeito dos óleos essenciais de manjeriço, capim-limão, citronela, sálvia e tomilho na qualidade fisiológica nas sementes de cebola. As sementes tratadas com o óleo essencial de tomilho a 1.000 ppm e 2.000 ppm, citronela e manjeriço a 2.000 ppm, apresentaram menores valores de germinação da semente. Já os tratamentos com os óleos essenciais de sálvia e capim-limão não afetaram a qualidade fisiológica das sementes de cebola.

Palavras chaves: *Allium cepa* L, germinação, vigor, emergência,

Essential oils and physiological quality of onion seeds (*Allium cepa* L.)

ABSTRACT

To ensure proper establishment of the field is of utmost importance to the use of high physiological and sanitary quality seeds. Today, with the growing demand for free from contamination by chemical waste products, it has encouraged the search for alternative methods of control, such as the use of plant substances for its low environmental impact and its allelopathic effect. These substances than can interfere negatively or positively in the plant or in microorganisms by releasing chemical compounds, can also affect the quality of the seed physiology. Faced with the above, the objective of this study was to evaluate the effect of the essential oils of basil, lemongrass, citronella, sage and thyme on the physiological quality in onion seeds. The seeds treated with the thyme essential oil to 1,000 ppm and 2,000 ppm, citronella and basil to 2,000 ppm had lower germination values. Treatments with essential oils of sage and lemongrass did not affect the physiological quality of onion seeds.

Key words: *Allium cepa* L, germination, vigor, emergence.

1. INTRODUÇÃO

A cultura da cebola está sujeita a uma série de doenças que podem comprometer tanto a produção de bulbos com a de sementes. Geralmente, o controle destas doenças é feito por meio do manejo químico, gerando aumento nos custos de produção e contribuindo com a contaminação ambiental. Atualmente, a crescente demanda por produtos livres de resíduos químicos tem incentivado a busca por métodos alternativos de controle de doenças, como o emprego de substâncias vegetais pelo seu baixo impacto ambiental e seu efeito alelopático (SHAAYA et al., 1997; XAVIER et al., 2012).

Os óleos essenciais de diferentes plantas apresentam características alelopáticas, ou seja, tem a capacidade de interferir direta ou indiretamente, prejudicialmente ou beneficiando a planta ou os micro-organismos por meio da liberação de compostos químicos (HERNÁNDES-TERRONES et al., 2007; SIMONETO; SILVA, 2010). Estes compostos são produzidos através do metabolismo secundário e atuam como aleloquímicos, os quais podem variar na composição e na concentração dependendo do extrato vegetal; podem ainda interferir na qualidade fisiologia das sementes e no desenvolvimento normal da planta (MEDEIROS, 1990; BELINELO et al., 2008).

Os produtos secundários pertencem a diversos grupos químicos, podendo ser terpenoides, esteroides, alcaloides, taninos, fenóis, cumarinas, flavonoides, entre outros. Estes compostos podem ocasionar efeito alelopático e têm sido uma alternativa (ROCHA et al., 2000), de substituição aos agroquímicos sintéticos, promovendo um manejo mais sustentável e ecológico (CHUNG et al., 2001; SOUZA FILHO et al., 2009; TAIZ; ZEIGER, 2009; GUSMAN et al., 2011).

Por exemplo, o óleo essencial de citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle.) apresenta como compostos citronelal, geraniol e limoneno (Rocha et al., 2000), enquanto o componente majoritário do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* Staph.) é o citral, o qual pode ser considerado como o responsável por sua atividade alelopática nas plantas (GUIMARÃES et al., 2008). O óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) é composto por linalol, estragol, farnesene, eugenol e cineol, os quais apresentam propriedades repelentes (MARTINEZ-VELAZQUEZ et al., 2011).

Várias pesquisas comprovam que diferentes óleos essenciais apresentam efeito alelopático na qualidade fisiológica de sementes. Estudos realizados por Steffen et al. (2010) demonstraram que o óleo essencial de *Eucalyptus glandris*, na concentração de 25 e 50 $\mu\text{L L}^{-1}$, proporcionou maior germinação das sementes e, nas concentrações de 30 $\mu\text{L L}^{-1}$ e 40 $\mu\text{L L}^{-1}$ favoreceu maior desenvolvimento das raízes e da parte aérea das mudas de eucalipto.

Marco et al. (2004), mostraram que o óleo essencial de citronela nas concentrações de 0,25% ,0,5% e 1% inibiu totalmente a germinação das sementes de *Chloris barbata* (L.) Sw. Estudos realizados por Simoneto e Silva (2010) demonstraram o efeito alelopático do óleo essencial de sálvia (*Salvia officinalis* L.) nas concentrações de 0%, 7,5%, 15%, 22,5% e 30%, observando que o óleo essencial estimulou a germinação das sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.) comparado com o controle.

Souza et al (2007) detectaram ação do capim-limão no aumento da germinação das sementes de milho de 24% com relação a testemunha na concentração de 0,5%. Segundo Alvez et al. (2004), o óleo essencial de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf. ex Holm.) possui efeito alelopático benéfico, pois estimula o crescimento da radícula e não provoca inibição da germinação de sementes de alface.

Segundo Teixeira (2010), sementes inoculadas artificialmente com *Stenocarpella maydis* e tratadas com tomilho (*Thymus vulgaris* L.) apresentaram efeito alelopático, pois reduziu a germinação em comparação com as sementes não tratadas. Trabalhos realizados por Viecelli e Silva (2009) demonstraram o efeito do óleo essencial de sálvia sobre o desenvolvimento de sementes e plântulas de alface, mostrando que a germinação destas variam em função das concentrações testadas (0%, 7,5%, 15%, 22,5% e 30%), das formas de obtenção do óleo essencial e da época de colheita das folhas.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi de avaliar o efeito dos óleos essenciais de manjeriço, capim-limão, citronela, sálvia e tomilho na qualidade fisiológica das sementes de cebola.

2. METODOLOGIA

O trabalho foi realizado no Laboratório de Sementes da Embrapa Hortaliças, Brasília, DF, no período de agosto de 2014 a março de 2016. Foram utilizadas sementes de cebola da cultivar Conquista, produzidas no ano de 2014 na área experimental da Embrapa Hortaliças.

2.1 Obtenção dos óleos essenciais

As plantas utilizadas na obtenção dos óleos essenciais foram cultivadas na área de pesquisa em produção orgânica de hortaliças (APPOH) da Embrapa Hortaliças. A escolha das plantas utilizadas neste trabalho foi baseada no potencial de controle que os óleos essenciais apresentaram em outros patossistemas (Tabela 1).

Tabela 1. Nome comum e científico das plantas utilizadas para a extração dos óleos essenciais.

| Nome comum | Nome científico |
|-------------|--------------------------------------|
| Manjericão | <i>Ocimum basilicum</i> L. |
| Capim-limão | <i>Cymbopogon citratus</i> Staph |
| Sálvia | <i>Salvia officinalis</i> L. |
| Tomilho | <i>Thymus vulgaris</i> L. |
| Citronela | <i>Cymbopogon nardus</i> (L.) Rendle |

Para a extração dos óleos essenciais, foi utilizado material foliar fresco de cada espécie. As plantas foram coletadas por volta das 10:00 h da manhã e submetidas à secagem em estufa a uma temperatura de 50 °C por 84 horas. Para cada extração, foram utilizados 200 g de material foliar seco e 2,0 L de água, posteriormente submetidos ao processo de hidrodestilação, em aparelho graduado de Clevenger durante 2 horas. Os óleos essenciais obtidos foram identificados, protegidos da luz e armazenados em freezer a -20 °C até sua utilização.

2.2 Tratamentos das sementes com óleos essenciais

Foi realizado um ensaio preliminar com o objetivo de selecionar as melhores concentrações para o tratamento de sementes. Neste teste as sementes foram tratadas separadamente com cada óleo nas diluições de 1.000 ppm, 2.000 ppm, 4.000 ppm e 8.000 ppm. Cada porção de 50 sementes foi disposta em um saco plástico, e posteriormente foi depositado 0,5 mL de óleo; após 15 minutos, as sementes foram secas em temperatura ambiente por 24 horas. Uma porção foi tratada apenas com água destilada (testemunha).

As sementes foram submetidas ao teste de germinação, no qual foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por tratamento. As sementes foram semeadas em papel de germinação, umedecidos com água destilada na proporção de 2,5 o peso do papel seco e colocadas em caixas de plástico tipo “gerbox” (11 x 11 x 3,5 cm). Em seguida, as sementes foram incubadas em germinador tipo BOD a 20°C, sob luz constante. As avaliações da porcentagem de germinação e protrusão da raiz primária foram feitas aos 6 e aos 12 dias após a instalação do teste (BRASIL, 2009).

O experimento foi realizado em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 5 x 4 (cinco óleos x quatro concentrações) mais uma testemunha.

2.3. Determinação da influência dos óleos essenciais na qualidade fisiológica da semente de cebola

Após a avaliação preliminar da germinação e determinação das doses menos prejudiciais no ensaio anterior, no caso 1.000 ppm e 2.000 ppm para a maioria dos óleos, procedeu-se com a avaliação dos óleos na qualidade fisiológica de sementes de cebola. Para realização dos testes seguintes, as sementes foram tratadas separadamente com os óleos essenciais nas concentrações de 1.000 ppm e 2.000 ppm, conforme metodologia anterior. A testemunha foi tratada somente com água destilada.

2.3.1 Grau de umidade

A determinação do grau de umidade foi realizada pelo método de estufa a 105 °C (BRASIL, 2009), onde 1,0 g de sementes foi pesado em uma balança com

sensibilidade de 0,001g. As sementes foram dispostas em um recipiente de alumínio e colocadas na estufa durante 24 horas; após esse período, as sementes foram pesadas novamente, e foi calculada a porcentagem de umidade com base no peso úmido, aplicando-se a seguinte fórmula:

$$\% \text{ de Umidade (U)} = \frac{100 (P-p)}{P-t}$$

Em que:

P = peso inicial, peso do recipiente e sua tampa mais o peso da semente úmida;

p = peso final, peso do recipiente e sua tampa mais o peso da semente seca;

t = tara, peso do recipiente com sua tampa.

2.3.2 Germinação

Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por tratamento. As sementes foram semeadas em papel de germinação, umedecidos com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco, e colocadas em caixas de plástico tipo “gerbox” (11 x 11 x 3,5 cm). Em seguida, as sementes foram incubadas em germinador tipo BOD a 20°C, sob luz constante. As avaliações da porcentagem de germinação e protrusão da raiz primária foram realizadas aos 6 e aos 12 dias após a instalação do teste (BRASIL, 2009).

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 5 x 2 (cinco óleos x duas concentrações) mais uma testemunha.

2.3.3 Índice de velocidade de germinação (IVG)

Foi avaliado conforme Maguire (1962). Durante os 12 dias da realização do teste de germinação foram realizados a contagem diária das sementes germinadas, dividido pelo respectivo número de dias transcorridos a partir da montagem do teste, utilizando a seguinte fórmula.

$$\text{IVG: } \frac{G_1+G_2+\dots+G_n}{N_1 \quad N_2 \quad N_n}$$

Em que:

G1, G2 Gn= número de sementes germinadas;

N1, N2 Nn = número de dias de semeadura.

2.3.4 Envelhecimento acelerado

As sementes de cada tratamento foram uniformemente distribuídas sobre uma tela de alumínio, fixada em caixas de plástico tipo “gerbox” (11 x 11 x 3,5 cm), contendo ao fundo, 40 ml de solução saturada de NaCl (40 g de NaCl / 100 mL de água). As caixas contendo as sementes foram fechadas e mantidas a 41 °C, por 48 horas em câmara de envelhecimento. Após esse período, as sementes foram submetidas ao teste de germinação. A avaliação do número de sementes germinadas foi realizada aos 6 dias após a instalação do teste.

O delineamento estatístico empregado foi inteiramente casualizado (DIC) com 4 repetições por tratamento, sendo cada parcela constituída por 50 sementes.

2.3.5 Emergência em casa de vegetação

Cinquenta sementes por tratamento foram distribuídas em bandejas de poliestireno expandido (isopor) de 200 células, contendo substrato comercial Rohrbache® à base de cascas de pinus compostadas. As bandejas foram irrigadas duas vezes ao dia. O número de plântulas emergidas foi avaliado após 20 dias da semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem de emergência das plântulas. O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados (DBC), com 4 repetições, sendo cada parcela composta por 50 sementes.

2.4 Análises estatísticas

Para a análise estatística dos dados foi utilizado o programa estatístico Sisvar v.5.6 (FERREIRA, 2008). As médias foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Para as médias quantitativas, foram gerados gráficos de regressão utilizando o programa Excel.

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grau de umidade expressa à quantidade de água contida nas sementes, e é considerado de extrema importância por exercer influência na qualidade da semente em fatores como: conservação, sensibilidade a danos mecânicos, na qualidade sanitária das sementes, dentre outros (CAMPOS; TILLMAN, 1996; CASEIRO et al., 2005). As sementes de cebola apresentaram um teor de água de 5%, sendo este considerado como um grau de umidade ótimo para sua embalagem impermeável, conservação e baixa atividade dos micro-organismos, permitindo assim manter sua qualidade fisiológica.

3.1 Avaliação preliminar de tratamento de sementes de cebola com os óleos essenciais

A germinação das sementes na concentração 0 ppm (testemunha) foi de 96%, permitindo observar que todos os tratamentos com os óleos essenciais reduziram a germinação das sementes de cebola de forma quadrática com o aumento das concentrações (Figura 1). Pode-se observar que os tratamentos com os óleos essenciais de capim-limão e manjerição na concentração de 8.000 ppm afetaram drasticamente a germinação em comparação com os outros tratamentos.

O óleo essencial de capim-limão apresentou valores de germinação satisfatórios quando as sementes foram submetidas a concentrações até 2.000 ppm; a partir desta concentração ocorreu redução significativa na germinação. Isto pode se dever à presença do composto citral no óleo essencial, o qual pode ser considerado como o responsável por sua atividade aleloptica nas plantas e por ser capaz de reduzir a germinação das sementes (PICCOLO et al., 2007; GUIMARÃES et al., 2008).

Sementes tratadas com o óleo essencial de manjerição nas concentrações de 1.000 ppm e 2.000 ppm apresentaram germinações de 68% e 59%, respectivamente. Foi observado que quando as sementes foram submetidas a concentrações superiores de 2.000 ppm, a germinação foi reduzida significativamente, chegando a 14%. Estudos realizados por Rosado et al. (2009) apresentam resultados semelhantes, os quais podem ser explicados pela presença de produtos secundários como linalol presente no óleo essencial de manjerição; por ser o componente majoritário, pode

ser o responsável pelos efeitos fitotóxicos nas sementes e no crescimento inicial conforme observado em plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) e melissa (*Melissa officinalis* L.). Estes mesmos autores verificaram que à medida que se aumentou a concentração ocorreu diminuição na porcentagem de germinação.

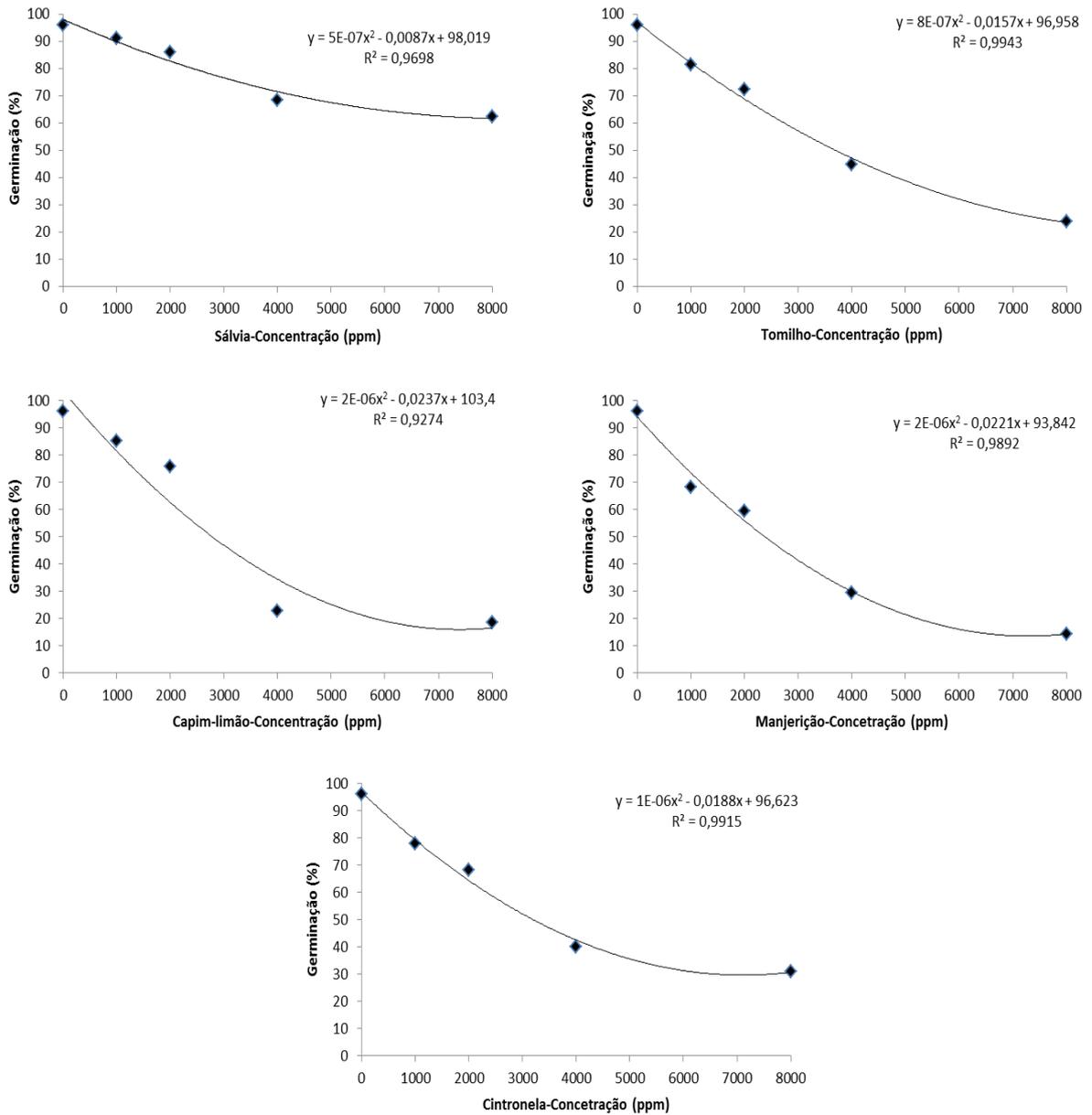


Figura 1. Germinação de sementes de cebola ‘Conquista’ submetidas a diferentes concentrações (0 ppm, 1.000 ppm, 2.000 pmm, 4.000 ppm e 8.000 ppm) de óleos essenciais de sálvia, tomilho, capim-limão, manjeriço e citronela.

O tratamento com o óleo essencial de sálvia pode ser considerado o tratamento menos prejudicial à germinação das sementes com o aumento das concentrações. Na concentração mais alta de 8.000 ppm a germinação foi de 62% e em 1.000 ppm foi de 91%.

O óleo essencial de tomilho apresentou valores de 80% de germinação para a concentração de 1.000 ppm, na concentração de 4.000 ppm a germinação foi praticamente reduzida a valores de 40%.

O tratamento com o óleo essencial de citronela também permite notar a diminuição da germinação com o aumento das concentrações, isto se pode observar quando são comparadas as sementes tratadas na concentração de 1.000 ppm e 8.000 ppm, as quais apresentaram germinações de 77% e 31%, respectivamente. Este resultado pode ter ocorrido devido a presença dos compostos majoritários timol e citronelal, possivelmente responsáveis pela inibição da germinação, já que se apresentaram em maior quantidade pelo aumento das concentrações do óleo essencial (CRAVEIRO, 1981; MATOS, 2000).

Os resultados obtidos nos testes com todos os óleos essenciais corroboram com os obtidos por Lorenzi e Matos (2002), no qual a germinação das sementes pode ser influenciada pelas concentrações dos compostos químicos presente nos óleos essenciais, compostos como timol, eugenol, citronelal e cineol, os quais podem afetar diretamente o potencial germinativo das sementes. Segundo Brito et al. (2010) o aumento das concentrações do óleo essencial de manjerição (0,5%, 1,0% e 2,0%) diminuíram a germinação das sementes de *Cereus jamacaru* DC. Coelho et al. (2007) avaliaram o efeito do óleo essencial de manjerição nas concentrações de 0,5%; 1,0% e 2,0% sobre sementes de *Cereus jamacaru*, constatando redução da germinação à medida que se aumentou a concentração. Segundo Reigosa et al. (1999), os efeitos dos aleloquímicos nos diferentes processos fisiológicos de uma planta dependem das concentrações utilizadas.

Pode-se constatar que as concentrações que afetaram pouco a germinação das sementes foram as menores, ou seja, de 1.000 ppm e 2000 ppm, que permitiram obter germinações maiores em comparação às demais concentrações.

3.2 Avaliação de tratamento de sementes de cebola com os óleos essenciais nas concentrações de 1.000 ppm e 2.000 ppm

Na Tabela 2, observou-se diferença significativa em alguns dos tratamentos na primeira contagem de germinação. Este teste mostrou-se mais sensível que o teste de germinação. As sementes não tratadas apresentaram uma primeira contagem de 87%. As sementes tratadas com os óleos essenciais de tomilho nas duas concentrações (1.000 ppm e 2.000 ppm), citronela e manjerição na concentração de 2.000 ppm apresentaram 82%, 81%, 78% e 78% sementes germinadas na primeira leitura, respetivamente, sem diferir entre si, mas apresentaram diferença estatística em relação à testemunha. Apresentando menor número de sementes germinadas na primeira contagem.

Tabela 2. Valores médios da primeira contagem (PC), germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), emergência em casa de vegetação (EM) e envelhecimento acelerado (EA).

| Óleos essenciais | Concentrações (ppm) | PC (%) | G (%) | IVG (días) | EM (%) | EA (%) |
|-------------------------|----------------------------|---------------|--------------|-------------------|---------------|---------------|
| Sálvia | 1.000 | 92 a | 96 a | 10,1 a | 89 a | 92 a |
| Sálvia | 2.000 | 87 a | 94 a | 9,6 a | 88 a | 91 a |
| Tomilho | 1.000 | 82 b | 93 b | 9,2 a | 88 a | 95 a |
| Tomilho | 2.000 | 71 b | 90 b | 9,3 a | 81 a | 94 a |
| Capim-limão | 1.000 | 92 a | 95 a | 9,9 a | 87 a | 99 a |
| Capim-limão | 2.000 | 90 a | 97 a | 9,1 a | 94 a | 95 a |
| Manjerição | 1.000 | 84 a | 94 a | 9,8 a | 84 a | 96 a |
| Manjerição | 2.000 | 78 b | 95 a | 9,4 a | 65 b | 92 a |
| Citronela | 1.000 | 92 a | 96 a | 10,6 a | 85 a | 96 a |
| Citronela | 2.000 | 78 b | 90 b | 9,1 a | 79 a | 90 a |
| Testemunha | - | 87 a | 96 a | 9,7 a | 93 a | 98 a |
| CV (%) | | 6,86 | 2,90 | 6,99 | 8,71 | 4,34 |

*Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Segundo Reigosa et al. (1999), os processos fisiológicos de uma planta podem ser afetados pela concentração dos diferentes compostos dos óleos essenciais. Os resultados obtidos nesse estudo com o óleo essencial de citronela a 2.000 ppm divergiu dos resultados obtidos por Araujo et al. (2012), que observaram que o tratamento com óleo essencial de citronela na concentração de 2,5% aumentou o percentual de sementes de erva-doce (*Foeniculum vulgare* Mill.) germinadas na primeira contagem.

Em relação ao teste de germinação a testemunha apresentou uma germinação de 96%. O óleo essencial de tomilho nas concentrações de 1.000 ppm e 2.000 ppm e o óleo essencial de citronela na concentração de 2.000 ppm, apresentaram germinações de 93%, 90% e 90%, respectivamente. Estes tratamentos diferiram significativamente da testemunha, apresentando germinações menores. Nota-se que o óleo essencial de citronela apresentou diminuição da germinação à medida que sua concentração aumentou. Isto pode ter ocorrido devido à presença de compostos como citronelal e geraniol no óleo essencial de citronela, possivelmente compostos inibitórios da germinação das sementes (DUDAI et al., 1999; XAVIER et al., 2012).

Resultados semelhantes foram observados por Jardimetti et al. (2011), no qual os óleos essenciais de hortelã e tomilho reduziram a germinação de sementes de milho.

Considerando os valores da germinação, observou-se que as sementes apresentaram germinação superior a mínima de 70% estabelecida para a distribuição, transporte e comércio de sementes fiscalizadas (BRASIL, 1986).

Em relação ao teste de IVG não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos e a testemunha. Estudos realizados por Araújo et al. (2012) mostraram também que o tratamento com óleo essencial de citronela não influenciou na velocidade de germinação de sementes de erva-doce. Por outro lado, resultados observados por Coelho et al. (2007) discordam com os obtidos neste trabalho, no qual os óleos essenciais de manjerição e canela nas concentrações de 0,5%, 1,0%; 1,5% e 2 %, afetaram a velocidade de germinação das sementes de *Cereus jamacaru*.

Pode se observar para o teste de envelhecimento acelerado que todos os tratamentos não diferem entre si e em relação a testemunha pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Este teste nos permite avaliar o potencial de

vigor das sementes e o potencial de armazenamento de sementes. Isto mostra que a germinação das sementes tratadas com os óleos essenciais não foi afetada por condições extremas, podendo ser consideradas como sementes vigorosas (COPELAND; MCDONALD, 2001).

Com relação ao teste de emergência em casa de vegetação, as sementes não tratadas apresentaram uma emergência de 93%. Neste teste o óleo essencial de manjerição na concentração de 2.000 ppm apresentou diferença estatística com a testemunha, evidenciando menor número de sementes emergidas (65%). Os demais tratamentos não diferem estatisticamente entre si e em relação com a testemunha. Estudos realizados por Blank et al. (2004) demonstrou que o óleo essencial de manjerição possui grande potencial agrônômico para extração do linalol, pelo teor de óleo apresentado e também por ser uma planta de ciclo curto. Este composto químico pode afetar o potencial de germinação das sementes tratadas com este óleo, concordando com os resultados obtidos neste trabalho. Outros estudos foram realizados por Magalhães et al. (2014) os quais verificaram que o óleo essencial de manjerição afeta o padrão de emergência das sementes de milho (*Zea mays* L.) na medida que a concentração aumentava (0 $\mu\text{L L}^{-1}$; 5 $\mu\text{L L}^{-1}$, 10 $\mu\text{L L}^{-1}$, 15 $\mu\text{L L}^{-1}$ e 20 $\mu\text{L L}^{-1}$).

Os tratamentos com sálvia e capim-limão não diferiram estatisticamente da testemunha nos diferentes testes realizados, não apresentando nenhum efeito sobre a qualidade fisiológica de sementes de cebola. Estes resultados concordam com estudos realizados pelo Simonetto e Silva (2010) os quais verificaram que diferentes concentrações (0%, 7,5%, 15%, 22,5% e 30%) do óleo essencial de sálvia não apresentaram interação estatística na germinação de sementes de milho e tomate comparadas com o controle.

4.CONCLUSÕES

Os óleos essenciais de sálvia e capim-limão não afetam a qualidade fisiológica (primeira contagem, germinação, emergência, envelhecimento acelerado e Índice de velocidade de germinação) de sementes de cebola nas concentrações de 1.000 ppm e 2.000 ppm.

O óleo essencial de citronela não afeta a qualidade fisiológica de sementes de cebola nas concentrações de 1.000 ppm e 2.000 ppm, exceto na primeira contagem e no teste de germinação na concentração de 2.000 ppm.

O óleo essencial de manjeriço não afeta a qualidade fisiológica de sementes de cebola nas concentrações de 1.000 ppm e 2.000 ppm, exceto a primeira contagem e no teste de emergência na concentração de 2.000 ppm.

O óleo essencial de tomilho não afeta a qualidade fisiológica de sementes de cebola nas concentrações de 1.000 ppm e 2.000 ppm, exceto na primeira contagem no teste de germinação.

5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVEZ, M.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, n. 11, p. 1083-1086, nov. 2004.

ARAUJO, A.N.; COSTA, P.A.; SOUZA,W.; MEDEIROS.J.; SANTOS,S. Atividade antifúngica do óleo essencial de citronela em sementes de Erva-doce (*Foeniculum vulgare* Mill.). **Revista Verde**, Mossoró, v.7, n.1, p. 189–195, jan./mar. 2012.

BELINELO, V.; CZEPAK, M.; VIEIRA FILHO, S.; MENEZES, L.; JAMAL,C. Alelopatia de *Arctium minus bernh* (asteraceae) na germinação e crescimento radicular de sorgo e pepino. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 4, p.12-16, out/dez. 2008.

BLANK, A. F.; CARVALHO FILHO, J. L. S.; SANTOS NETO, A. L.; ALVES, P. B.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; SILVA-MANN, R.; MENDONÇA, M. C. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjerição e alfavaca. **Horticultura Brasileira**, São Cristóbal, v. 22, p.113-116. 2004.

BRASIL, Ministério de Agricultura , Gabinete do Ministério. In: portaria nº 457, de 18 de dezembro de 1986. (nº 245, Seção 1, pág. 19.653). Disponível em: <http://www.editoramagister.com/doc_5511234_PORTARIA_N_457_DE_18_DE_DEZEMBRO_D E_1986.aspx>. Acesso em: 24 abril. 2016.

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

BRITO, N.M.; NASCIMENTO, L.; COELHO, M.; FÉLIX, L.P . Efeitos de óleos essenciais na germinação de sementes de *Cereus jamacaru*. **Revista Brasileira Ciência Agrária**, Recife, v. 5, n. 2, p. 207-211. 2010

CAMPOS, V.C.; TILLMAN, M.A. Comparação entre os métodos oficiais de estufa para a determinação do grau de umidade de sementes. **Revista Brasileira de sementes**, Capão do Leão, v.18, n. 1, p. 134-137.1996.

CASEIRO, R.F.; MARCOS FILHO, J. Métodos para a secagem de sementes de cebola submetidas ao condicionamento fisiológico. **Horticultura brasileira**, Brasília, v. 23, n. 4, p. 887-892out./dez. 2005.

CHUNG, I.M.; AHN, L.K.; YUN, S.J. 2001. Assesment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-gall*) on rice (*Oriza sativa* L.) cultivars. **Crop Protection**, v. 20, p. 921-928. 2001.

COELHO, M. S. E.; BRITO, N. M.; NASCIMENTO, L. C.; ALVES, E.U. Efeito de óleos essenciais sobre a germinação de sementes de mandacaru. In: JORNADA UNIVERSITÁRIA DA UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS, 1., 2007, Garanhuns. **Anais...** Garanhuns: Universidade Federal Rural de Pernambuco/ Unidade Acadêmica de Garanhuns. 2007

COPELAND, L.O.; Mc DONALD, M.B. **Principles of seed science and technology**. Kluwer Massachusets: Academic Publishers, 4.ed. p.165-192. 2001.

CRAVEIRO, A.A. **Óleos de plantas do Nordeste**. Fortaleza: Edições UFC, 1981. 210p.

DUDAI, N.; POLJAKOFF-MAYBER, A.; MAYER, M.A.; PUTIEVSKY, E., LERNER. H.R. Essential oils as allelochemicals and their potential use as bioherbicides. **Journal of Chemical Ecology**, Israel, v.25, p.1079-89. 1999.

FERREIRA, D. F. SISVAR: Um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v. 6, p. 36-41. 2008.

GUIMARÃES, L.L.; CARDOSO, M.G.; ZACARONI, L.M.; LIMA, R.K. Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (*cymbopogon citratus* (DC.) stapf.). **Química Nova**, São Paulo, v.31, n.6, p. 1476-1480. 2008.

GUSMAN, G.S.; YAMAGUSHI, M.Q.; VESTENA, S. Potencial alelopático de extratos aquosos de *Bidens pilosa* L., *Cyperus rotundus* L. e *Euphorbia heterophylla* L. Iheringia. **Série Botânica**, Porto Alegre, v. 66, n. 1, p. 87 - 98, jul. 2011.

HERNÁNDES-TERRONES, M. G.; MORAIS, S. A. L.; FERREIRA, S.; SANTOS, D. Q.; NASCIMENTO, E. A.; CHANG, R. Estudo fitoquímico e alelopático do extrato de caule de sucupira-branca (*Pterodon emarginatus*). **Planta daninha**, Viçosa, v. 25, n. 4. p. 755-762. 2007.

JARDINETTI, V. A.; SILVA, M.C.; MAIA, A.; BATISTA, J.O, SANTOS, E.M. Efeito de óleos essenciais no controle de patógenos na germinação de sementes de milho (*Zea mays*). In: VII ENCONTRO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA, 2011, Maringá. **Anais...**Maringá: Centro Universitário de Maringá, out, 2011. p. 25-28

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. São Paulo: Editora Plantarum, 2002. 544p.

MAGALHÃES, C.I.; BRITO, S.S.; MAGALHÃES, T.A.; FERRAZ, M.S.; Oliveira, C.F. Óleos essenciais na emergência de grãos de milho (*Zea mays* L.) **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 10, n. 19. 2014

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, jan./feb. 1962.

MARCO, C.A.; BORGES, N.S.; CORREA, M.P.; INNECCO, R.; MATTOS, S.H.; NASCIMENTO, A.B. Óleos essenciais de capim citronela e de alecrim pimenta na germinação de sementes de *Chloris barbata*, Sw. **Associação brasileira de horticultura**. 2004. Disponível em: http://www.abhorticultura.com.br/biblioteca/arquivos/Download/Biblioteca/44_579.pdf. Acesso em: 21 oct. 2015.

MARTINEZ-VELAZQUEZ, G. A.; CASTILLOHERRERA, R.; ROSARIO-CRUZ, J. M.; FLORESFERNANDEZ, J.; LOPEZ-RAMIREZ, R.; HERNANDEZ- GUTIERREZ, E.; LUGO-CERVANTES, C. Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, *Pimenta dioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, Berlim, v. 108, n. 2, p. 481-487. 2011.

MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil**. 2.ed. Fortaleza: Imprensa Universária, 2000. 346p

MEDEIROS, A.R.M. Alelopatia: Importância e suas aplicações. **Horti sul**, Pelotas, v. 1, n. 3, p. 27-32, 1990.

REIGOSA, M.J.; SANCHEZ-MOREIRAS A.; GONZALES, L. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Science**, v. 18, n. 5, p. 577-608. 1999

ROCHA, S R.; MING, L.C. ;MARQUES, M.M. Influencia de cinco temperaturas de secagem no rendimento e composição do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowwitt). **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botacatu, v. 3, n. 1,p. 73-78. 2000.

ROSADO, L.D.S.; RODRIGUES, H.C.A.; PINTO, J.E.B.P.*; CUSTÓDIO, T.N.; PINTO, L.B.B.; BERTOLUCCI, S.K.V. Alelopatia do extrato aquoso e do óleo essencial de folhas do manjeriço “Maria Bonita” na germinação de alface, tomate e melissa. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 422-428. 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 2009. 4. ed. Porto Alegre: Artmed. 848p

TEIXEIRA, G.A. **Potencialidades do tratamento de sementes com óleos essenciais, no patossistema stenocarpella maydis milho.** 2010. 49 p. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Lavras. Minas Gerais.

SHAAYA, E.M.; KOSTJUKOVSKI, M.; EILBERG, J.; SUKPRAKARN, C. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. **Journal of Stored Products Research**, v.33, p. 7-15. 1997.

SILVA, I.C.; SILVA, V.M.; FERREIRA, V.M.; ENDRES, L. Efeito alelopático do extrato de folhas de (*Eucalyptus grandis*) sobre a germinação de sementes de (*Ipomoea purpurea* L.). In: XV ENCONTRO REGIONAL DE AGROECOLOGIA “A formação sociocultural na transformação política e social da vida no campo”. 2015, Bananeiras. Anais... Bananeiras: Cadernos de Agroecologia, 2015. v.10, n.2 .

SIMONETO, E. L.; SILVA, C. T. A. Alelopatia de sálvia sobre a germinação e o desenvolvimento do milho, tomate e girassol. **Revista Cultivando o Saber**, Cascavel, Paraná, v. 3, n. 3, p. 48-56. 2010.

SOUZA, A.E.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTOZ, L.C. Atividade Antifúngica de Extratos de Alho e Capim-Santo sobre o Desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* Isolado de Grãos de Milho. **Fitopatologia Brasileira**, Paraíba, p. 465-471. Nov./Dez. 2007.

SOUZA FILHO, A.P.S.; GUILHON, G.M.S.P.; ZOGHBI, M.G.B.; CUNHA, R.L. Análise comparativa do potencial alelopático de extrato hidroalcoólico e do óleo essencial de folhas de cipó d’alho (Bignoniaceae). **Planta Daninha**, Viçosa, v. 27, n. 4, p. 647-653. 2009.

STEFFEN, R.B.; ANTONIOLLI, Z.I.; STEFFEN, G.P. Efeito estimulante do óleo essencial de eucalipto na germinação e no crescimento inicial de mudas de *Eucalyptus grandis*. **Pesquisa Floresta Brasileira**. Colombo, v. 30, n. 63, p. 100-206m ago./out. 2010.

VIECELLI, A.; CRUZ-SILVA, C. T. A. Efeito da variação sazonal no potencial alelopático de Sálvia. Semina: **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 39-46, jan./mar. 2009.

XAVIER, M.V.A.; OLIVEIRA, C.R.F.; BRITO, S.S.S.; MATOS, C.H.C.; PINTO, M.A.D.S.C. Viabilidade de sementes de feijão caupi após o tratamento com óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.14. 2012.

CAPITULO 3

Utilização de óleos essenciais no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* em sementes de cebola

RESUMO

A antracnose é considerada uma doença de grande importância na cultura da cebola, é causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. e Sacc. *In* Penz. O manejo mais utilizado para o controle deste fungo é o método químico, mas o uso indiscriminado destes produtos vem causando, nos últimos anos, danos ao meio ambiente e a saúde humana. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito *in vitro* dos óleos essenciais de manjeriço, capim-limão, sálvia, tomilho e citronela na germinação de conídios e no crescimento micelial de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*; determinar, mediante o uso da restrição hídrica, o melhor potencial osmótico para a inoculação das sementes de cebola com o patógeno; e, avaliar o efeito destes óleos essenciais nas sementes de cebola inoculadas pelo *C. gloeosporioides*. Todos os tratamentos com óleos reduziram o crescimento micelial do patógeno, sendo que os óleos essenciais de tomilho, capim-limão e citronela na concentração de 2.000 ppm inibiram totalmente o crescimento micelial do fungo. Os óleos essenciais de tomilho e manjeriço reduziram em 100% a germinação de esporos a partir da concentração de 2.000 ppm. Em solo infestado com *C. gloeosporioides*, os tratamentos com fungicida de Iprodiona (Padrão) e com o óleo essencial de capim-limão 2.000 ppm foram os mais promissores no controle do patógeno. A metodologia de restrição com o soluto Manitol utilizado para a inoculação do fungo nas sementes foi eficaz, onde o potencial osmótico de -1,0 MP foi a mais efetiva. No tratamento dos óleos essenciais em sementes inoculadas, todos os óleos exercem efeito no controle do patógeno. O óleo essencial de capim-limão promoveu maior eficiência no controle do patógeno apresentando maior número de sementes germinadas e menor porcentagem de contaminação.

Palavras chaves: *Allium Cepa* L , incide de velocidade de crescimento micelial, germinação de esporos, restrição hídrica, sanidade das sementes.

The use of essential oils in the control of *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. cepae in onion sedes

ABSTRACT

Anthrachnose is considered as a disease of great importance in the onion culture is caused by *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. and Sacc. In Penz. The most commonly used management to control this fungus is the chemical method, although indiscriminate use of these products has led in recent years, damages to the environment and human health. The objective of this study was to evaluate the in vitro effect of the essential oils of basil, lemongrass, sage, thyme and citronella in spore germination and mycelial growth of *C. gloeosporioides* f. sp. cepae; determine, through the use of water restriction, the best osmotic potential for inoculation of onion seeds with the pathogen; and to evaluate the effect of these essential oils in onion seeds inoculated by *C. gloeosporioides*. All treatments with essential oils reduced the mycelial crecimiento the pathogen, and the essential oils of thyme, lemongrass and citronella in the concentration of 2,000 ppm completely inhibited the mycelial growth of the fungus. The essential oils of thyme and basil reduced in 100% germination of spores from the concentration of 2,000 ppm. In soil infested with *C. gloeosporioides*, treatments with fungicide of de Iprodione and the essential oil of lemongrass 2,000 ppm were more promise in pathogen control. The restriction methodology with Mannitol solution used for inoculation of the fungus in the seeds was effective where the water potential of -1.0 MP was the most effective. In the treatment of essential oils in inoculated seeds, all essential oils have an effect on pathogen control. The essential oil of lemongrass promoted greater efficiency in pathogen control showing larger number of germinated seeds and smaller percentage of contamination.

Key words: *Allium Cepa* L, focuses mycelial growth, spore germination, water restriction, seed sanity.

1.INTRODUÇÃO

A antracnose é considerada uma doença de grande importância na cultura da cebola (*Allium Cepa* L.), cujo agente causal é o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. e Sacc. in Penz. F. sp. *cepa*. Esse fungo sobrevive no solo, em restos de cultura deixados no campo e também nas sementes; pode atacar as plantas em todas as fases de desenvolvimento.

A ocorrência da doença é mais severa em regiões tropicais e subtropicais, causando perdas de até 100% no campo de produção (ZAMBOLIM; JACCOUD FILHO, 2000). O controle da antracnose tem sido realizado de forma convencional com a utilização de diferentes fungicidas à base de benomyl e tiofanato metílico (GALVÁN et al., 1997; PEDROSA et al., 2004). No entanto, o uso indiscriminado destes produtos podem gerar altos níveis de resistência na doença e danos ao ambiente.

O aumento da produção orgânica no cultivo da cebola tem aumentado nos últimos anos devido à maior demanda de alimentos mais saudáveis e livres de resíduos de produtos químicos, como os fungicidas. Este sistema de produção apresenta algumas limitações pela carência de tratamentos alternativos para o controle de doenças (GONÇALVES et al., 2008; RICCI et al., 2014). Com o objetivo de fornecer ao sistema de produção orgânica com diferentes tratamentos, pesquisas estão sendo realizadas para avaliar o potencial dos óleos essenciais no controle de algumas doenças.

Segundo Silva et al. (2010), a eficiência dos óleos essenciais é atribuída a substâncias conhecidas como metabolitos secundários, compostos como o citronelal, mentol, eugenol, terpenos, cineol, tanino, ésteres metílicos, entre outros, que apresentam grande potencial para o controle de plantas invasoras, insetos, fungos e bactérias (CHUNG et al., 2001; SOUZA FILHO et al., 2009; TAIZ; ZEIGER, 2009; GUSMAN et al., 2011).

Abreu (2006) demonstrou que os óleos essenciais de *Cymbapogon citratus* Staph., *Syzygium aromaticum* (L.) e *Cinnamomum zeylanicum* Blume., inibiram *in vitro* o desenvolvimento micelial e conidial de *Alternaria solani* (ELL. e Martin.) Jones e Grout em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) a partir da concentração menor de 750 µL L⁻¹. O óleo essencial de *Corymbia citriodora* e *Malaleuca alternifolia* Cheel

inibiram, na sua concentração intermediária (2.000 $\mu\text{L L}^{-1}$), e a *Mentha piperita* L. na maior concentração testada (5.000 $\mu\text{L L}^{-1}$), também inibiram o crescimento do fungo, tornando-se promissores para uso no controle da pinta preta do tomateiro.

Estudos realizados por Rozwalka et al. (2008) demonstraram que o óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* Staph.) na concentração de 10% apresentou efeito fungitóxico, inibindo 100% do crescimento micelial de *Glomerella cingulata* (Ston.) e *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Saccardo. Verificou-se também que os óleos essenciais de citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle.) e erva-doce (*Pimpinella anisum* L.), nas concentrações de 1%, 1,5%, 2% e 2,5%, interferiram na ocorrência da microbiota fúngica sobre as sementes de mandacaru. Os resultados mostram que o crescimento de *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp. e *Nigrospora* sp. foram controlados com o óleo essencial de erva-doce em todas as concentrações utilizadas, porém o óleo essencial de citronela controlou apenas *Cladosporium* sp. e *Nigrospora* sp. (MATA et al., 2009).

Segundo Araujo et al. (2009), o óleo essencial de manjeriço proporcionou o menor crescimento micelial, indicando a ação fungicida e inibitória desse óleo sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*. Estudos realizados por Tagami et al. (2009) mostraram que o óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) reduziu em até 97% o crescimento de *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils; e assim, muitos outros exemplos são citados demonstrando que os óleos essenciais podem ser utilizados para inibição de diferentes tipos de microorganismos.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi: avaliar o efeito *in vitro* dos óleos essenciais de *Ocimum basilicum* L. (manjeriço), *Cymbopogon citratus* Staph. (capim-limão), *Sálvia officinalis* L. (sálvia), *Thymus vulgaris* L. (tomilho) e *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle. (citronela) na germinação de conídios e no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae*; determinar, mediante o uso da restrição hídrica o melhor potencial osmótico para a inoculação das sementes de cebola com o patógeno e avaliar a eficiência destes óleos essenciais para o controle do fungo em sementes de cebola.

2.METODOLOGIA

O trabalho foi realizado no Laboratório de Sementes e no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Hortaliças, Brasília, DF, no período de agosto de 2014 a março de 2016. Foi utilizada sementes de cebola da cultivar Conquista, produzidas no ano de 2014 no campo experimental da Embrapa Hortaliças.

2.1 Obtenção de óleos essenciais

As plantas medicinais utilizadas na obtenção dos óleos essenciais foram cultivadas na área de pesquisa em produção orgânica de hortaliças (APPOH) da Embrapa Hortaliças. A escolha das plantas utilizadas neste trabalho foi baseada no potencial de controle que os óleos essenciais apresentaram em outros patossistemas (Tabela 1).

Tabela 1. Nome comum e científico das plantas utilizadas para a extração dos óleos essenciais.

| Nome comum | Nome científico |
|-------------|--------------------------------------|
| Manjeriçao | <i>Ocimum basilicum</i> L. |
| Capim-limão | <i>Cymbopogon citratus</i> Staph |
| Sálvia | <i>Salvia officinalis</i> L. |
| Tomilho | <i>Thymus vulgaris</i> L. |
| Citronela | <i>Cymbopogon nardus</i> (L.) Rendle |

Para a extração dos óleos essenciais foi utilizado material foliar fresco de cada espécie. As plantas foram coletadas por volta das 10:00 h da manhã e submetidas à secagem em estufa a uma temperatura de 50 °C por 84 horas. Para cada extração, foram utilizados 200 g de material foliar seco e 2,0 L de água, posteriormente submetidos ao processo de hidrodestilação, em aparelho graduado de Clevenger durante 2 horas. Os óleos essenciais obtidos foram identificados, protegidos da luz e armazenados em freezer a -20 °C até sua utilização.

2.2. Tratamentos das sementes com óleos essenciais

As sementes foram tratadas nas diluições de 1.000 ppm e 2.000 ppm, de cada óleo, e cada porção de 50 sementes foi disposta em uma saco plástico, posteriormente, foram depositados 0,5 mL de óleo durante 15 minutos, e após esse período foram secas em temperatura ambiente por 24 horas. A testemunha foi tratada apenas com água destilada.

2.3 Obtenção do inóculo de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae*

O isolado do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* foi obtido por meio do isolamento a partir de plantas de cebola com sintomas da doença, coletadas na região de Cristalina, GO. A recuperação do isolado foi feita repicando o mesmo em placas de Petri com meio de cultura de farinha de aveia (20 g de farinha de aveia, 6 g de ágar e 500 mL de água destilada), As placas foram acondicionadas em incubadora do tipo BOD a uma temperatura de 25°C, permanecendo em fotoperíodo de 12 horas, por 7 dias.

2.4 Efeito direto *in vitro* dos óleos essenciais sobre a germinação de conídios e crescimento micelial de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*

Para avaliar o efeito direto *in vitro* dos óleos essenciais sobre a germinação dos conídios, foram testados cinco óleos essenciais: tomilho, citronela, manjeriço, sálvia e capim-limão nas concentrações de 500 ppm, 1.000 ppm e 2.000 ppm. Como emulsificante, foi utilizado *tween* 20 em uma concentração de 1.000 ppm. Foram utilizadas duas testemunhas: um tratamento composto por água destilada e um tratamento composto somente com *tween* 20 a 1.000 ppm.

Foi utilizado o meio de cultura ágar-água (1,0 L de água, 20 g de ágar). Primeiramente o meio de cultura foi preparado, autoclavado e, após o resfriamento deste, foram adicionados os óleos essenciais de forma que as concentrações finais atingiram às pré-estabelecidas, exceto na testemunha. Após a homogeneização, cerca de 25 mL do meio de cultura foi vertido em placas de Petri de 90 mm de diâmetro. As placas foram riscadas, dividindo-as em quatro quadrantes. Continuamente, foram depositados em cada placa 500 µL da suspensão de $3,7 \times 10^5$ conídios mL⁻¹ a qual foi espalhada com alça de Drigalski sobre a superfície das placas. As placas foram acondicionadas em BOD a 25 °C, permanecendo em um

fotoperíodo de 12 horas (TAVARES; SOUZA, 2005; PEREIRA, 2008). Após as 24 horas de incubação, a germinação foi paralisada com solução de lactoglicerol, e foram avaliados 25 conídios por quadrante em microscópio estereoscópio trilocular (*Meiji*). O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com duas placas para cada tratamento, cada uma dividida em quatro quadrantes, em um total de 8 repetições.

Para avaliar o crescimento micelial do patógeno, foram testados cinco óleos essenciais: tomilho, citronela, manjerição, sálvia e capim-limão nas concentrações de 1.000 ppm e 2.000 ppm. Como emulsificante, foi utilizado *tween* 20 em uma concentração de 1.000 ppm. Foram utilizadas duas testemunhas: um tratamento composto por água destilada e um tratamento composto somente com *tween* 20 a 1.000 ppm.

Foi utilizado o meio de cultura de aveia a 2,0%, o qual foi preparado, autoclavado e, após o resfriamento deste para 45°C a 50°C, foram adicionados os óleos essenciais, exceto nas testemunhas. Em seguida, o meio de cultura foi distribuído em placas de Petri e depositado um disco de micélio (aproximadamente 1 cm de diâmetro) do patógeno repicado para o centro de cada placa de Petri; após isso, as placas foram vedadas com filme plástico e mantidas a 25°C ± 2°C e fotoperíodo de 12 horas.

Foram realizadas avaliações diárias, sendo que as medições correspondem à média de duas medidas diametralmente com a utilização de uma régua graduada; isto foi realizado até que o micélio da testemunha ocupasse toda a superfície da placa. Foi calculado o índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM), determinado pela adaptação da fórmula proposta por Maguire (1962):

$$IVCM = \frac{C_1}{N_1} + \frac{C_2}{N_2} + \dots + \frac{C_n}{N_n},$$

Em que:

IVCM = índice de crescimento micelial;

C₁, C₂, C_n = crescimento micelial do fungo na primeira, segunda e última avaliação;

N₁, N₂, N_n = número de dias após a inoculação.

Em seguida, foi calculado a porcentagem de inibição do crescimento micelial em relação a testemunha.

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições sendo cada parcela constituída por uma placa de Petri.

2.5 Efeito dos óleos essenciais em solo infestado com *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae*

Para o preparo do inóculo, foi utilizado o isolado de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*, o qual foi transferido para seis placas de Petri de 15 cm de diâmetro contendo meio de cultura de farinha de aveia. As placas foram mantidas a temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas por 7 dias para a esporulação do patógeno. Em seguida, 200 g de sementes de sorgo autoclavadas e depositadas nas placas de Petri com o fungo, fechadas e acondicionadas em BOD a temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas por 20 dias, tempo suficiente para que as sementes de sorgo fossem colonizadas pelo fungo. O solo previamente autoclavado foi inoculado com 10 g de sementes de sorgo infectadas para cada 5 kg de solo; 8 dias após a infestação do solo, sementes de cebola previamente tratadas com os óleos essenciais de tomilho, citronela, manjericão, capim-limão e sálvia nas concentrações de 1.000 ppm e 2.000 ppm, foram semeadas em caixas plásticas (56 x 35 x 10 cm) infestadas, e mantidas em casa de vegetação onde foram irrigadas duas vezes no dia. Foi realizada uma leitura de plântulas emergidas aos 25 dias após a semadura.

O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados (DBC), com quatro repetições sendo cada parcela composta por 50 sementes; como testemunha foi utilizada sementes tratadas com água destilada, como tratamento padrão foram utilizadas sementes tratadas com fungicida de Iprodiona a 3.000 ppm. Foi utilizada uma testemunha absoluta empregando sementes tratadas com água destilada em solo não infestado.

2.6 Avaliação da eficiência da restrição hídrica na contaminação de sementes de cebola com *Colletotrichum* f. sp. *cepae*

Para este teste, foram utilizados meio de cultura BDA (extrato de 250 g de batata, 20 g de dextrose e 16 g ágar por litro), ao qual foi adicionado o soluto manitol nos potenciais osmóticos de -0,6 MPa, -0,8 MPa, -1,0 MPa e -1,2 MPa (Tabela 2). Como testemunha, foi utilizado o meio de cultura BDA sem manitol. As

concentrações para o preparo dos meios de cultura, em cada potencial osmótico, foram obtidas por meio da fórmula proposta por Van't Hoff. (SALISBURY; ROSS, 1991)

$$Y_{os} = - RTC$$

Em que:

Y_{os} = potencial osmótico (atm);

R = constante geral dos gases perfeitos (0,082 atm mol L⁻¹ K⁻¹);

T = temperatura (K);

C = concentração (mol L⁻¹).

Tabela 2. Quantidade de manitol nos diferentes potenciais osmóticos adicionado por 250 mL de meio de cultura BDA.

| Tratamento | Potencial osmótico (MPa) | g 250mL ⁻¹ |
|------------------|--------------------------|-----------------------|
| BDA (testemunha) | - | - |
| BDA + Manitol | -0,6 | 11,02 |
| | -0,8 | 14,7 |
| | -1,0 | 18,37 |
| | -1,2 | 22,04 |

Após a autoclavagem, o meio de cultura contendo manitol foi vertido em placas de Petri de 90 mm de diâmetro. Um disco de ágar de 1 cm de diâmetro da colônia pura do fungo foi depositado no centro de cada placa de Petri e acondicionado em incubadora tipo BOD com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25°C por 7 dias. Continuamente, sementes de cebola foram previamente desinfetadas com solução de hipoclorito de sódio a 1% por 1 minuto, lavadas com água destilada e secas a temperatura ambiente. Seguidamente, foram distribuídas 50 sementes por placa de Petri sobre a colônia de cada fungo em camada única e levemente prensadas sobre os meios de cultura; posteriormente, cada placa de Petri foi vedada e acondicionada em BOD a temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas, onde permaneceram diferentes períodos de tempo dependendo do potencial osmótico do substrato. Foram utilizadas quatro placas por tratamento.

As sementes foram removidas do meio de cultura no momento em que elas apresentavam início de protrusão radicular, posteriormente as sementes foram submetidas aos testes de germinação e sanidade. Os períodos de retirada das sementes foram 48 horas para a testemunha, 72 horas para o potencial osmótico de $-0,6$ MPa e de 96, 120 e 144 horas para os respectivos potenciais osmóticos de $-0,8$ MPa, $-1,0$ MPa e $-1,2$ MPa.

Para determinar a eficiência da restrição hídrica para a contaminação das sementes de cebola com *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* foram realizados os seguintes testes:

2.6.1. Germinação.

Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes por tratamento. As sementes foram semeadas em papel de germinação, umedecidos com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco e distribuídas em caixas de plástico tipo “gerbox” (11 x 11 x 3,5 cm). Em seguida, as sementes foram incubadas em germinador tipo BOD a 20°C , sob luz constante. As avaliações da germinação e protrusão da raiz primária foram feitas aos 6 e 12 dias após a instalação do teste (Brasil, 2009).

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 4 repetições, sendo cada parcela constituída por 25 sementes.

2.6.2 . Sanidade

O teste de sanidade foi realizado através do método do papel filtro (*blotter test*). As sementes foram dispostas individualmente sobre papel filtro umedecido com água destilada e esterilizada, em caixas “gerbox” previamente desinfetadas com álcool. As sementes foram incubadas a 25°C , com 12 horas de regime de luz durante 24 horas. Em seguida, para inibição da germinação, foram submetidas ao método de congelamento por 24 horas em freezer. Após isso, as placas foram incubadas a 25°C por 7 dias. Após esse período, as sementes foram examinadas individualmente com auxílio de um estereomicroscópio onde se avaliou a presença de estruturas típicas do patógeno (Brasil, 2009). O resultado foi expreso em pocertagem de contaminação.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 4 repetições e cada parcela constituída por 25 sementes.

2.7 Efeito dos óleos essenciais em sementes de cebola inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides f. sp. cepae*

Para avaliar o efeito dos óleos essenciais em sementes de cebola inoculadas com *C. gloeosporioides f. sp. cepae*, foram realizados três experimentos simultaneamente.

Sementes de cebola foram inoculadas através do método de restrição hídrica baseado na metodologia anteriormente descrita, sendo utilizado o potencial osmótico de -1,0 MPa, o qual apresentou melhores resultados na inoculação das sementes e não afetou a germinação destas. Primeiramente, foram preparadas placas de Petri com o meio de cultura de BDA, ao qual foi adicionado o soluto manitol -1,0 MPa após da autoclavagem. O meio de cultura com o restritor foi vertido em placas de Petri de 90 mm de diâmetro e um disco de ágar de 1 cm de diâmetro da colônia do fungo foi depositado no centro de cada placa de Petri; seguidamente, as placas de Petri foram incubadas em BOD a uma temperatura de 25 °C com fotoperíodo de 12 horas por 7 dias. Posteriormente, 50 sementes de cebola foram previamente desinfetadas com hipoclorito de sódio a 1% por 1 minuto, enxaguadas com água destilada e secas a temperatura ambiente. As sementes foram distribuídas sobre a colônia de cada fungo em camada única, seguidamente cada placa de Petri foi vedada e acondicionada em BOD a temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas por um período de 5 dias; neste período, as sementes foram removidas das placas e secas a temperatura ambiente. Seguidamente, estas foram tratadas com os óleos de manjeriço, citronela, capim-limão, tomilho e sálvia nas concentrações de 1.000 ppm e 2.000 ppm. Cada porção de 50 sementes foi tratada com 0,5 mL de óleo durante um período de 15 minutos, secas a temperatura ambiente por 24 horas, e após, submetida aos testes de sanidade, de germinação e emergência em casa de vegetação.

2.7.1. Germinação

As sementes foram semeadas em papel de germinação, umedecidos com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco e distribuídas em caixas

de plástico tipo “gerbox” (11 x 11 x 3,5 cm). Em seguida, as sementes foram incubadas no germinador tipo BOD a 20°C, sob luz constante. As avaliações da porcentagem de germinação e protrusão da raiz primária realizaram-se aos 6 e 12 dias após a instalação do teste (Brasil, 2009).

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 5 x 2 (cinco óleos x dois concentrações) mais uma testemunha, com 4 repetições, sendo cada parcela constituída por 25 sementes.

2.7.2. Sanidade

O teste de sanidade foi realizado através do método do papel filtro (*blotter test*). As sementes foram dispostas individualmente sobre papel filtro umedecido com água destilada e esterilizada, em caixas “gerbox” previamente desinfetadas com álcool. As sementes foram incubadas a 25°C, com 12 horas de regime de luz durante 24 horas. Em seguida, para inibição da germinação, foram submetidas ao método de congelamento por 24 horas em freezer. Após esse procedimento, foram incubadas a 25°C por 7 dias. Após esse período, as sementes foram examinadas individualmente com auxílio de um estereomicroscópio onde se avaliou a presença de estruturas típicas do patógeno (Brasil, 2009). O resultado foi exposto em porcentagem de contaminação.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 4 repetições, sendo cada parcela composta por 25 sementes.

2.7.3. Emergência em casa de vegetação

Cinquenta sementes por tratamento foram distribuídas em bandejas plásticas de 400 células contendo substrato comercial Rohrbach[®], a base de cascas de pinus compostadas. A irrigação do substrato foi realizada diariamente conforme a necessidade, e o número de plântulas emergidas foi avaliado 20 dias após da semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas emergidas.

O delineamento adotado foi em blocos casualizado (DBC) em esquema fatorial 5 x 2 (cinco óleos x duas concentrações) mais uma testemunha. Foram utilizadas 4 repetições, sendo cada parcela composta por 50 sementes.

2.8 Análise estatística

Para análise estatística dos dados foi utilizado o programa estatístico Sisvar v.5.6 (FERREIRA, 2008). As médias qualitativas foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$), e para as médias quantitativas foram gerados gráficos de regressão utilizando o programa Excel.

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Efeito direto *in vitro* dos óleos essenciais sobre a germinação de conídios e crescimento micelial de *C. gloeosporioides f. sp. cepae*

Todos os óleos essenciais reduziram a germinação de esporos de *C. gloeosporioides f. sp. cepae* de forma quadrática com o aumento das concentrações (Figura 1). Os óleos essenciais de capim e citronela reduziram totalmente a germinação dos conídios a partir da concentração de 1.000 ppm.

Os óleos essenciais de tomilho e manjerição promoveram 100% a inibição da germinação de conídios a partir da concentração de 2.000 ppm. O óleo essencial de sálvia reduziu até um 56% a germinação dos conídios na sua maior concentração (2.000 ppm). O tratamento constituído por *tween* 1.000 ppm não apresentou diferenças estatísticas entre as doses utilizadas e a testemunha.

Os resultados obtidos neste experimento corroboram com os obtidos por outros autores, em que o uso dos óleos essenciais reduz a germinação de conídios de diferentes patógenos. Alves et al. (2002) relataram à eficiência dos óleos essenciais das plantas *Cymbopogon citratus*, *C. nardus* (L.) Rendle. e *Eucalyptus citriodora* Hook. na germinação de conídios de *Colletotrichum musae* Berk e Curt. Segundo Medice et al. (2007), o óleo essencial de citronela tem efeito direto na germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* Syd. e P. Syd. em sementes de soja (*Glycine max* L. Merrill) quando foram utilizadas as concentrações de 1%, 0,5%, 1% e 0,3%.

O óleo essencial de capim-limão já tem sido estudado por outros autores como Bolkan e Ribeiro (1991); Cruz et al. (1997), que demonstram sua eficiência no controle de *Fusarium* spp. inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos. Segundo Silva et al. (2009), pesquisando o óleo essencial de capim-limão no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Saccardo, observaram que, nas concentrações de 1 $\mu\text{L mL}^{-1}$, 3 $\mu\text{L mL}^{-1}$, 5 $\mu\text{L mL}^{-1}$ e 10 $\mu\text{L mL}^{-1}$ houve inibição em 100% a germinação de conídios do patógeno. Segundo Guimarães et al. (2007), esta inibição do óleo de capim-limão pode ser atribuída a seu principal componente, citral, que exerce um efeito antifúngico e antibacteriano sobre os conídios.

O óleo de capim-limão a 300 ppm mostrou ser eficiente na inibição total de esporos de *Puccinia nakanishikii* (Lorenzetti et al., 2012). Estudos realizados por

Borges et al. (2013) demonstram o efeito do óleo essencial de sálvia e tomilho no controle de *Phakopsora pachyrhizi*, inibindo os esporos em 91,25% e 71,71% respectivamente.

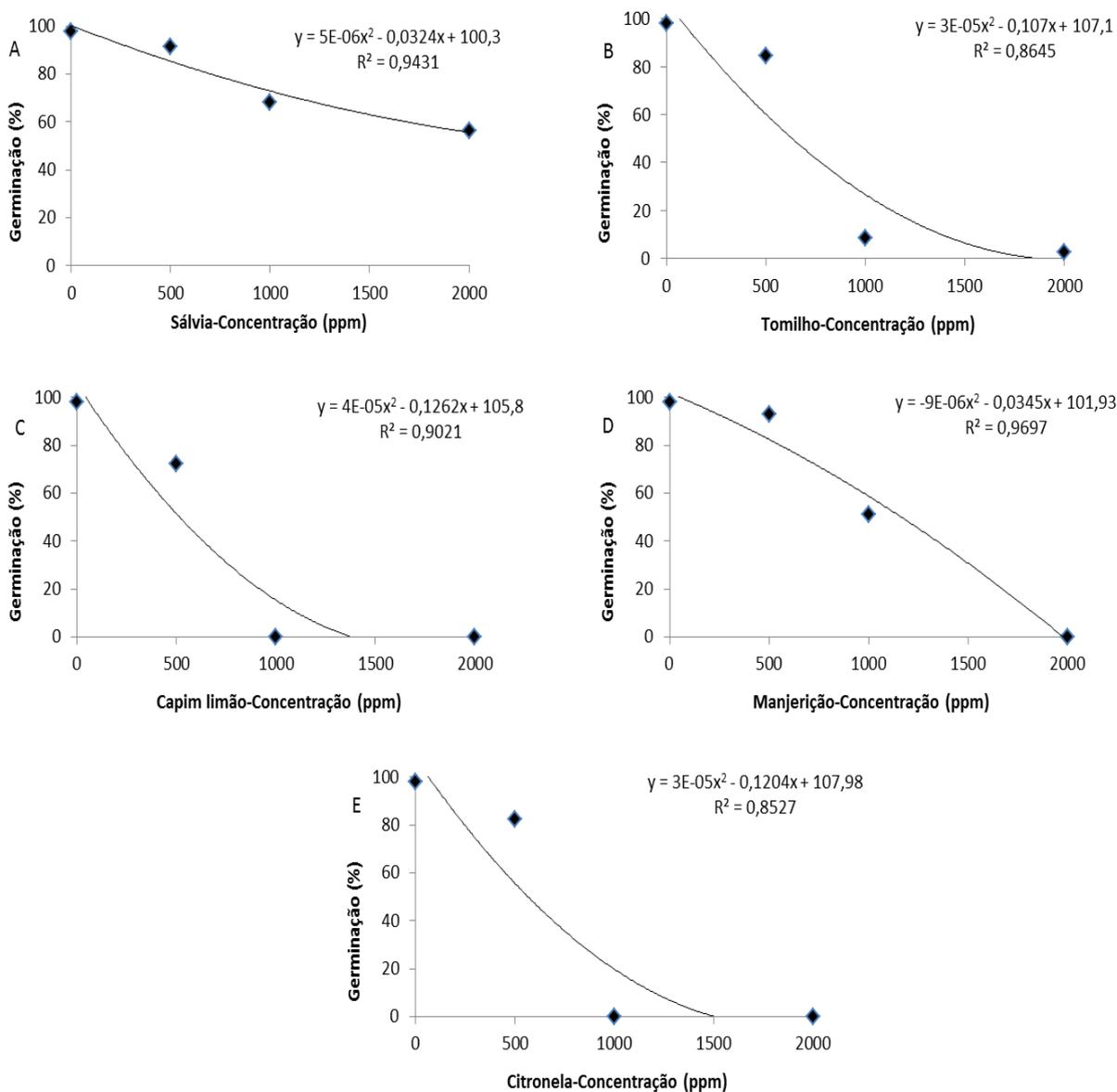


Figura 1 Germinação de esporos de *Colletotrichum gloeosporioides f. sp. cepae* submetidos a diferentes concentrações (0 ppm, 500 ppm, 1.000 ppm e 2.000 ppm) dos óleos essenciais de sálvia (A), tomilho (B), capim-limão (C), manjerição (D) e citronela (E). Dados transformados para $\sqrt{x+1}$.

Pereira (2008) demonstrou a redução de conídios de *Cercospora coffeicola* Berk e Cooke. com o aumento das concentrações do óleo essencial de tomilho. Sousa

Junior et al. (2009) verificou inibição de 100% de germinação de esporos do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* na presença dos óleos essenciais de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.), alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e goiaba (*Psidium guajava* L.)

Com relação ao teste de crescimento micelial, todos os tratamentos com óleos essenciais inibiram o crescimento micelial de *C. gloeosporioides f. sp. cepae* em relação à testemunha que não apresentou inibição no patógeno (Tabela 3). Os óleos essenciais de tomilho, capim-limão e citronela na concentração de 2.000 ppm inibiram totalmente o crescimento micelial de *C. gloeosporioides f. sp. cepae* (Anexo A1).

Tabela 3. Inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides f. sp. cepae* submetido aos óleos essenciais de sálvia, tomilho, capim-limão, manjerição, citronela, nas concentrações de 1.000 ppm e 2.000 ppm, tween 20 e testemunha.

| Tratamento | Concentração (ppm) | Inibição (%) |
|---------------|--------------------|--------------|
| Sálvia | 1.000 | 18,99b |
| Sálvia | 2.000 | 64,39e |
| Tomilho | 1.000 | 49,01d |
| Tomilho | 2.000 | 100f |
| Capim-limão | 1.000 | 18,62b |
| Capim-limão | 2.000 | 100f |
| Manjerição | 1.000 | 32,41c |
| Manjerição | 2.000 | 17,21b |
| Citronela | 1.000 | 18,01b |
| Citronela | 2.000 | 100f |
| Tween 20 | 1.000 | 2,02a |
| Testemunha | -- | 0,00a |
| CV (%) | | 7,64 |

*As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

O óleo essencial de sálvia a 2.000 ppm inibiu 64,39% o crescimento do fungo com relação à testemunha, seguido do óleo essencial de tomilho a 1.000 ppm, com inibição de 49,01%. O óleo essencial de manjeriço na concentração de 1.000 ppm inibiu 32,41% o crescimento do fungo.

Os óleos essenciais de sálvia, capim-limão, citronela na concentração de 1.000 ppm e o óleo de manjeriço a 2.000 ppm inibiram o crescimento do patógeno em 18,99%, 18,62%, 17,21% e 18,01%, respectivamente, sem diferirem entre si, mas diferindo da testemunha.

O tratamento padrão com o *tween* a 1.000 ppm não inibiu significativamente o crescimento micelial do patógeno.

Concordando com os resultados deste trabalho, Silva et al. (2009) avaliaram o efeito do óleo essencial de capim-limão sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* nas concentrações de 1 $\mu\text{L mL}^{-1}$, 3 $\mu\text{L mL}^{-1}$, 5 $\mu\text{L mL}^{-1}$ e 10 $\mu\text{L mL}^{-1}$, indicando que o óleo essencial inibiu 100% o crescimento do patógeno a partir das concentração de 1 $\mu\text{L mL}^{-1}$

Segundo Itako (2009), o óleo essencial de capim-limão apresentou efeito fungitóxico sobre a germinação e o crescimento micelial de *Cladosporium fulvum*. Sendo que o óleo essencial de capim-limão na concentração de 26,46% reduz em 96,30% a germinação de esporos em relação à testemunha. Por outro lado, o óleo na concentração de 40,67% apresentou uma inibição de 20,03% do crescimento micelial do patógeno.

Estudos realizados por Lima et al. (2010) comprovam a eficiência do óleo essencial de citronela como o patógeno *Collectotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, estes autores observaram que o óleo citronela na concentração de 2.000 ppm inibe 100% o crescimento micelial, e a partir de 1.500 ppm, este óleo essencial reduz totalmente a germinação dos esporos do patógeno. Rosal (2009) avaliou o óleo essencial de sálvia sobre o crescimento micelial de *Penicillium* sp., verificando que, à medida que foi aumentada a concentração (0%; 20%; 40% e 80%) do óleo essencial aplicado, foi reduzido progressivamente o crescimento micelial, sendo observado a inibição total do crescimento do fungo na concentração de 80%.

Guimarães et al. (2011) testaram as atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão que pode ser atribuída à presença na sua composição do citral que se apresentam como componente majoritário (69,31%) e

de meceno em uma porcentagem menor de 23,77%. Este fato foi observado por Vivas et al. (2006), os quais constataram que o óleo essencial de capim-limão promoveu inibição em 100% do crescimento micelial do fungo *Colletotrichum acuntatum* Simmonds nas concentrações superiores a 100 $\mu\text{L mL}^{-1}$.

Em estudos realizados por Seixas et al. (2011), o óleo essencial da citronela demonstrou maior efeito inibitório do crescimento micelial do fungo *Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas* do que o composto citronelal nas concentrações de 5 μL , 10 μL , 15 μL , 20 μL e 25 μL . Em todas as alíquotas utilizadas, o óleo essencial proporcionou menor taxa de crescimento micelial do que o citronelal. O maior efeito de inibição do óleo essencial de citronela pode ter sido ao sinergismo existente entre os compostos do óleo essencial que atuam de forma conjunta, o que propiciou um maior efeito fungistático do que o composto citronelal.

Segundo Pereira et al. (2008), óleo essencial de tomilho inibiu o crescimento micelial e a germinação de conídios de *Hemileia vastatrix* proporcionalmente ao aumento das concentrações (0 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1.000 ppm e 2.000 ppm).

Os resultados obtidos por Giacomini et al. (2013) diferem dos resultados achados neste trabalho referente ao tratamento com o óleo essencial de manjeriço; segundo estes autores, a atividade fungitóxica de *C. gloeosporioides* foi verificada com óleo essencial de manjeriço nas concentrações de 10 μL e 20 μL . Neste trabalho, pode-se observar efeito fungitóxico do manjeriço sobre o fungo, não concordando com os estudos por Nascimento et al. (2008) no qual, o óleo de manjeriço não apresentou diferenças estatísticas no crescimento micelial realizado durante 8 dias, em comparação com a testemunha para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Estudos realizados por Souza et al. (2004) avaliaram o óleo essencial de tomilho nas concentrações de 500 mg mL^{-1} ; 1000 mg mL^{-1} ; 1500 mg mL^{-1} e 2000 mg mL^{-1} , e observaram que o óleo em todas suas concentrações inibiu o crescimento micelial de *Rhizopus* sp.; *Penicillium* spp.; *Eurotium repens* de Bary e *Aspergillus niger*.

Pereira et al. (2011) testaram os óleos de tomilho, capim-limão e citronela em diferentes concentrações (0 $\mu\text{L L}^{-1}$, 500 $\mu\text{L L}^{-1}$, 1.500 $\mu\text{L L}^{-1}$, 2.000 $\mu\text{L L}^{-1}$) no controle *Cercospora coffeicola* e constataram que os óleos de citronela e capim-limão

inibiram totalmente a germinação de conídios a partir das concentrações de 1.000 $\mu\text{L L}^{-1}$., enquanto, o óleo de citronela inibiu 100% o crescimento micelial de *Cercospora coffeicola*.

3.2 Efeito dos óleos essenciais em solo infestado com *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae*.

O efeito drástico de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* pode ser claramente observado quando são comparados os resultados obtidos na testemunha (infestado) e na testemunha absoluta, as quais apresentaram emergências de 11% e 96%, respectivamente (Tabela 4). Apresentou-se diferença estatística entre os tratamentos com os óleos essenciais e a testemunha em solo infestado, isto reflete e demonstra a eficiência dos óleos essenciais no controle do patógeno, devido a que as sementes tratadas com os óleos apresentaram maiores valores de emergência em comparação com a testemunha (infestado).

Os melhores resultados foram obtidos quando as sementes foram tratadas com o óleo essencial de capim-limão a 2.000 ppm e com o fungicida, os quais apresentaram emergências de 62% e 68%, respectivamente, sem diferir entre si, mas diferiram da testemunha. Com isto, podem ser considerados como os tratamentos mais promissores, gerando maior proteção das sementes do patógeno em comparação com os outros tratamentos.

As sementes tratadas com os óleos essenciais de sálvia na concentração de 2.000 ppm, capim-limão a 1.000 ppm e citronela nas concentrações de 1.000 ppm e 2.000 ppm, apresentaram emergências de 45%, 50%, 47% e 44%, respectivamente, sem diferirem entre si. O tratamento com o óleo essencial de sálvia na concentração de 1.000 ppm apresentou uma emergência de 36 %, seguido do tratamento com o óleo essencial de tomilho a 2.000 pmm com uma emergência de 32%.

Os óleos essenciais de tomilho a 1.000 ppm e manjerição nas duas concentrações (1.000 ppm e 2.000 ppm), apresentaram germinações de 19%, 21% e 24%, respectivamente, sem diferirem entre si. Estes tratamentos foram os menos eficientes gerando as menores porcentagens de emergência, tendo menor proteção das sementes com o patógeno.

O fungo *C. gloeosporioides* pode causar *damping-off*, e isto foi evidenciado na baixa porcentagem de plântulas emergidas sadias em solo infestado com o

patógeno, concordando com Lee et al. (2007), os quais mencionaram que *C. gloeosporioides* pode gerar podridão, manchas nas folhas, raízes e *damping-off*.

Tabela 4. Emergência de plântulas sadias de cebola ‘Conquista’ em solo infestado com *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae oriundas* de sementes submetidas aos tratamentos com óleos essenciais

| Tratamentos | Concentrações (ppm) | Emergencia (%) |
|---------------------------------|---------------------|----------------|
| Sálvia | 1.000 | 36 d |
| Sálvia | 2.000 | 45 c |
| Tomilho | 1.000 | 19 f |
| Tomilho | 2.000 | 32 e |
| Capim-limão | 1.000 | 50 c |
| Capim-limão | 2.000 | 62 b |
| Manjericão | 1.000 | 21 f |
| Manjericão | 2.000 | 24 f |
| Citronela | 1.000 | 47 c |
| Citronela | 2.000 | 44 c |
| Fungicida de Iprodiona (padrão) | 3.000 | 68 b |
| Testemunha (infestado) | - | 11 g |
| Testemunha absoluta | - | 96 a |
| CV (%) | | 5,86 |

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Estudos realizados por Lucas et al. (2014) avaliaram a atividade antifúngica de óleos essenciais no controle da infestação do fungo *Aspergillus flavus* Link em amendoim (*Arachis hypogaea* L.), e observaram que o óleo essencial de capim-limão apresentou um controle parcialmente do patógeno na concentração de 250 mg mL⁻¹. Carboni e Mazzonetto (2013) avaliaram o efeito do óleo essencial de capim-limão a 20% no manejo de *Meloidogyne incognita* em tomateiro em ambiente protegido, e demonstraram que este óleo essencial foi eficaz no controle do patógeno em tomateiro. Segundo Hasse et al. (2007), o óleo essencial de sálvia gerou controle de *Palasmodiophora brassicae* Woronin em solo infestado pelo patógeno a partir da

diluição de 1:8. Estes autores indicaram que as plantas medicinais e aromáticas apresentam resultados positivos na redução de doenças.

São escassas as pesquisas em relação a tratamentos alternativos com óleos e trabalhos relacionados com infestação de solo com *Colletotrichum gloeosporioides*. Os tratamentos alternativos são mais enfocados para avaliar o efeito fitotóxico dos óleos em sementes contaminadas por patógenos.

3.3 Avaliação da eficiência da restrição hídrica na contaminação de sementes de cebola com *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae*.

Observa-se pela Tabela 5, que a porcentagem de sementes inoculadas com o fungo *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* aumentou drasticamente em função do aumento da restrição hídrica. Este resultado pode ter ocorrido devido ao maior período de exposição das sementes ao patógeno que permitiu a contaminação de um maior número de sementes. Os potenciais osmóticos de -1,0 MPa e -1,2 MPa, apresentaram contaminações de 80% e 82%, respectivamente. Estes tratamentos diferiram estatisticamente da testemunha que apresentou uma contaminação de 51%, sendo assim considerado como os tratamentos que apresentaram maiores porcentagens de contaminação nas sementes. Os demais tratamentos não diferiram da testemunha no teste de sanidade. Verifica-se, portanto que a metodologia da restrição com manitol a partir do potencial osmótico de -1,0 Mpa é eficiente para inoculação de sementes de cebola com *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*.

As sementes expostas aos potenciais osmóticos de -0,6 MPa e -1,2 MPa germinaram respectivamente, 91% e 87%, sem diferir estatisticamente entre si e em relação à testemunha, a qual apresentou 92% de sementes germinadas. As sementes expostas ao potenciais osmóticos de -0,8 MPa e -1,0 MPa diferiram da testemunha apresentando valores mais altos de germinação sendo de 98% e 100% respectivamente. A redução da germinação no potencial osmótico de -1,2 MPa, pode ter ocorrido devido ao maior tempo de exposição das sementes com o inóculo, causando a mortes das sementes.

Os resultados apresentados neste trabalho assemelham-se aos obtidos por Coutinho et al. (2001), que avaliaram a restrição hídrica com manitol em potenciais osmóticos de 0 MPa, -0,4 MPa, -0,6 MPa, -0,8 MPa e -1,0 Mpa, e concluíram que, até o potencial de -1,0 MPa propinou-se maior contaminação das plântulas pelos

fungos *Colletotrichum truncatum* (Schwein), *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary e *Phomopsis sojae* Lehman. Estes autores observaram que quanto maior a exposição das sementes aos patógenos, maior foi o número de sementes mortas. As sementes apresentaram baixa germinação nos potenciais -0,6 MPa, -0,8 MPa e -1,0MPa, e praticamente não houve germinação chegando a 90% de sementes mortas.

Tabela 5. Valores médios de porcentagem de germinação e contaminação de sementes de cebola 'Conquista' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae*. em diferentes potenciais osmóticos.

| Tratamento | Potencial osmótico (MPa) | Germinação (%) | Contaminação (%) |
|---------------|--------------------------|----------------|------------------|
| BDA | - | 92 b | 51 b |
| BDA + Manitol | -0,6 | 91 b | 63 b |
| | -0,8 | 98 a | 68 b |
| | -1,0 | 100 a | 80 a |
| | -1,2 | 87 b | 82 a |
| CV (%) | | 3,85 | 13,84 |

*Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Verificou-se que o potencial osmótico de -1,0 MPa diferiu estatisticamente da testemunha, apresentando valores maiores de germinação e maior contaminação das sementes pelo patógeno. Este tratamento pode ser considerado como o mais promissor para a inoculação das sementes de cebola, devido ao fato que nos dois testes realizados apresentaram melhores resultados em comparação com a testemunha.

Segundo Machado et al. (2004), o aumento do potencial osmótico até o nível de -1,0 MPa proporciona maiores índices de infecção das sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) pelos fungos de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* A.S. Costa, *Botryodiplodia theobromae* Pat e *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* sem inviabilizar as sementes para usos posteriores. Teixeira et al. (2005) demonstraram que sementes de milho submetidas a um potencial maior que -1,0 MPa não germinaram mesmo após 8 dias da incubação,

indicando que a qualidade fisiológica das sementes foi afetada pelo condicionamento osmótico imposto ao meio de incubação.

Nunes et al. (2000), menciona que o potencial osmótico de -0,75 MPa favorece o desenvolvimento de *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp. e *Alternaria* sp. em sementes de cebola, sendo que este potencial osmótico gerou o maior número de sementes infectadas e não afetou o porcentagem de germinação das sementes.

3.4 Efeito dos óleos essenciais em sementes de cebola inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. cepae.

Na tabela 6, pode-se observar que todos os tratamentos diferiram da testemunha, que apresentou uma germinação de 65%, com exceção do tratamento com o óleo essencial de manjeriço a 2.000 ppm que proporcionou 72% de sementes germinadas. As sementes tratadas com os óleos essenciais de capim-limão e manjeriço a 1.000 ppm, e o óleo essencial de citronela nas duas concentrações (1.000 ppm e 2.000 ppm), apresentaram germinações de 88%, 84%, 85% e 88%, respectivamente. O tratamento com esses óleos diferiram da testemunha e dos demais tratamentos apresentando os valores mais altos de germinação.

Os óleos essenciais de sálvia e tomilho nas duas concentrações e capim-limão a 2.000 ppm, apresentaram germinações de 80%, 79%, 79%, 78% e 81%, respectivamente, sem diferir entre si, apresentando um maior número de sementes germinadas em comparação com a testemunha.

Em relação ao teste de sanidade todos os tratamentos diferiram da testemunha, a qual apresentou mais sementes contaminadas com uma contaminação de 73%, o que permitiu comprovar que os óleos essenciais exercem efeito no controle do patógeno por apresentar porcentagens menores de contaminação. O tratamento com o óleo essencial de sálvia nas duas concentrações apresentaram contaminações de 54% e 45% respectivamente, em relação à testemunha. Estes dois tratamentos apresentaram o maior número de sementes contaminadas em comparação com os demais tratamentos com óleos essenciais, podendo ser considerados como os tratamentos que exerceram menor controle sobre o patógeno. Seguido dos óleos essenciais de citronela e manjeriço na concentração de 1.000 ppm e tomilho nas duas concentrações (1.000 ppm e 2.000

ppm), que apresentaram uma porcentagem de contaminação de 22%, 19%, 31%, 20%, respectivamente.

O tratamento com os óleos essenciais de capim-limão nas duas concentrações (1.000 ppm e 2.000 ppm), manjeriço e citronela a 2.000 ppm, não diferiram estatisticamente entre si, mas diferem da testemunha apresentando o menor número de sementes com sintomas do patógeno, sendo respectivamente de 5%, 2%, 11%, e 10% (Anexo A2).

Tabela 6. Valores médios de porcentagem de germinação, contaminação de sementes e emergência de sementes de cebola inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* e tratadas com óleos essenciais.

| Tratamento | Concentrações (ppm) | Germinação (%) | Contaminação (%) | Emergência (%) |
|-------------------|--------------------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------------|
| Sálvia | 1.000 | 80 b | 54 b | 26 c |
| Sálvia | 2.000 | 79 b | 45 b | 45 b |
| Tomilho | 1.000 | 79 b | 31 c | 53 b |
| Tomilho | 2.000 | 78 b | 20 c | 46 b |
| Capim-limão | 1.000 | 88 a | 5 d | 71 a |
| Capim-limão | 2.000 | 81 b | 2 d | 58 b |
| Manjeriço | 1.000 | 84 a | 19 c | 44 b |
| Manjeriço | 2.000 | 72 c | 11 d | 47 b |
| Citronela | 1.000 | 85 a | 22 c | 49 b |
| Citronela | 2.000 | 88 a | 10 d | 51 b |
| Testemunha | - | 65 c | 73 a | 12 d |
| CV (%) | | 7,03 | 19,42 | 13,15 |

Médias seguidas pela mesma letra, para cada parâmetro, não diferem entre si pelo Teste de Scott-knott ($p \leq 0,05$).

No teste de emergência, todos os tratamentos com os óleos essenciais apresentaram diferença estatística em relação à testemunha, a qual evidenciou uma porcentagem de emergência de 12%. O tratamento com óleo essencial de sálvia a 1.000 ppm apresentou menor eficiência dos tratamentos com óleos, refletido em sua

porcentagem de emergência de 26%. Os demais tratamentos não apresentaram diferenças entre si, com exceção do óleo essenciais de capim-limão a 1.000 ppm que apresentou a maior porcentagem de emergência de 71% em comparação com a testemunha.

Estes resultados seguem a tendência dos resultados encontrados nos testes preliminares, nos quais o tratamento com capim-limão foi o melhor tratamento *in vitro* para o controle do fungo e não gerou efeito negativo na qualidade fisiológica das sementes. Estes estudos concordam com Souza et al. (2007) que avaliaram a atividade antifúngica do óleo essencial de capim-limão sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* (Matsuhima) Nirenberg, e verificaram que este tratamento diferiu da testemunha, apresentando uma incidência de 1,0% do patógeno.

Diferentes estudos têm indicado a eficiência dos óleos essenciais no controle de patógenos. Rodrigues et al. (2006) estudaram o óleo essencial de *Ocimum gratissimum* no tratamento de sementes sobre o patógeno *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker, e concluíram que o óleo essencial não teve influência na emergência, altura e na massa fresca de plântulas. Segundo Mata (2009), o óleo essencial de citronela promoveu maior percentual de germinação das sementes de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC) com o aumento das concentrações (0%, 1%, 1,5%, 2% e 2,5%); estes mesmos autores observaram que o óleo de citronela nestas concentrações apresentou efeito inibitório sobre a incidência de *Cladosporium* sp. e *Nigrospora* sp. sobre as sementes tratadas.

O óleo de citronela nas concentrações de 1%, 1,5%, 2% e 2,5% interferiram na ocorrência da microbiota fúngica (*Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Nigrospora* sp. e *Rhizopus* sp.) sobre as sementes de mandacaru (MATA et al., 2009). Silva e Pasin. (2006) avaliaram a incidência dos óleos essenciais de capim-limão e manjerição em sementes de girassol contaminadas com *Rhizopus* sp. e *Fusarium* sp., e observaram que o óleo essencial de capim-limão reduziu totalmente a incidência de *Rhizopus* sp., mas apresentou 7% de sementes contaminadas por *Fusarium* sp., enquanto o óleo de manjerição apresentou 18% de incidência de *Rhizopus* sp. e 35% de sementes contaminadas com *Fusarium* sp. Assim, verifica-se que o óleo de capim-limão gerou maior eficiência no controle dos patógenos.

A atividade antifúngica é atribuída a diferentes compostos como terpenos, compostos fenólicos como o timol, carvona, carvacrol, mentol e muroleno (CONNER, 1993; SMID et al., 1996). Atividade antifúngica segundo Piper et al. (2001) está determinada por terpenos presentes nos óleos essenciais capazes de tornarem a membrana celular do fungo permeável, causando o vazamento de seu conteúdo.

Lima et al. (2008) observaram que o óleo essencial de capim-limão apresenta como constituintes majoritários o mirceno, (14,6%), neral (34,5%) e geraniol (43,8%), e em baixa concentração o (Z)-ocimeno e (E)-ocimeno. Segundo Guimarães (2007), o óleo essencial de capim-limão possui o citral como composto maioritário, em torno de 70% a 80%, encontrando-se também o citronelal, isovaleraldeído, cetonas, álcoois como, nerol e geraniol e terpenos como mirceno.

O efeito dos óleos essenciais nas sementes provavelmente se deve aos compostos alelopáticos que são inibidores de germinação e crescimento, pois interferem na divisão celular, permeabilidade de membranas e na ativação de enzimas das sementes (RODRIGUES et al. (1992). CARVALHO et al. (1999) também afirmaram que sementes predispostas à ação de micro-organismos, quando tratadas, reduzem a capacidade de sobrevivência dos fitopatógenos e potencializam e longevidade das sementes, seu poder germinativo e a vigor das futuras plantas.

4.CONCLUSÕES

Os óleos essenciais de tomilho, capim-limão, citronela, manjerição e sálvia nas concentrações de 1.000 ppm e 2.000 ppm, reduzem o crescimento e a germinação de conídios de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*.

Os óleos essenciais de tomilho, capim-limão e citronela na concentração de 2.000 ppm inibem totalmente o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*. Os óleos essenciais de capim e citronela reduzem totalmente a germinação dos conídios a partir da concentração de 1.000 ppm.

Em solo inoculado com *C. gloeosporioides*, os tratamentos com fungicida Rovral e com o óleo essencial de capim-limão 2.000 ppm são os mais promissores no controle do patógeno.

O potencial osmótico de 1,0 MP pode ser considerado como uma alternativa eficiente na inoculação das sementes de cebola com o *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* sem afetar a germinação das sementes.

Os óleos essenciais de tomilho, capim-limão, citronela, manjerição e sálvia nas concentrações de 1.000 ppm e 2.000 ppm, reduzem a contaminação causada pelo causada pelo o *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*.

O óleo essencial de capim-limão a 1.000 ppm é uma alternativa para o tratamento de sementes de cebola visando o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae*.

5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C.L.M. **Controle de *alternaria solani* em tomateiro (*licopersicon esculentum*) com óleos essências**. 2006. 71 p. Tese (Doutorado em agronomia) – Universidade Estadual Paulista; Faculdade ciências agrônômicas, Botucatu.

ALVES, E.S.S.; SANTOS, M.P.; VENTURA, J.A.; FERNANDES, P.M.B. Eficiência de óleos essenciais no controle in vitro da germinação de conídios e do crescimento micelial de *Colletotrichum musae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, p.75. 2002

ARAUJO, J.A., PEGADO, C.A.; RIBEIRO, V.V.; BRITO, N.M.; NASCIMENTO, L.C. Efeito de extratos vegetais no controle de *fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* em sementes de Caupi. **Ciência agrotecnologica**. Lavras, v. 33, n. 2, p. 611-616, mar./abr. 2009.

BOLKAN, H.A. e RIBEIRO, W.R.C. Efeito do extrato e de óleos de alho em *Cylindrocladium clavatum*, *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* e *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, p. 565- 566. 1991.

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

CARBONI, R. Z.; MAZZONETTO, F. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies vegetais no manejo de *Meloidogyne incognita* em tomateiro em ambiente protegido. **Revista Agrogeoambiental**, Pouso Alegre, v. 5, n. 2, caderno II, p.61-66, ago. 2013.

CARVALHO, R.A.; CHAIRY, S.A.; LACERDA, J.T.; OLIVEIRA, E.F. Effect of plants with antibiotic properties on the control of *Fusarium* sp. In:INTERNATIONAL PROTECTION CONGRESS, 1999, Israel. **Resumo**...Israel: Ministry of Agriculture, 1999. 28p.

CHUNG, I.M.; AHN, L.K.; YUN, S.J. 2001. Assesment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-gall*) on rice (*Oriza sativa* L.) cultivars. **Crop Protection**, v. 20, p. 921-928. 2001.

CONNER, D.E. 1993. Naturally occuring compounds. In: P.M. DAVIDSON; A.L. BRANEM (eds.), **Antimicrobials and Foods**, New York, Dekker, p. 441-468.

COUTINHO, W.M.; MACHADO, J.C.; VIEIRA, M.C.V.; GUIMARÃES, R.M.; FERREIRA, D.F. Uso da restrição hídrica na inibição ou retardamento da germinação de sementes de arroz e feijão submetidas ao teste de sanidade em meio ágar-água. **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v. 23, n. 2, p.127-135. 2001.

CRUZ, M.E.S.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; PASCHOLATI, S.F. Efeito do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (capim limão) no crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. **Summa Phytopathologica**, p.63-65. 1997.

FERREIRA, D. F. SISVAR: Um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v. 6, p. 36-41. 2008.

GALVÁN, G.A.; WIESTSMA, W.A.; PUTRASEMEDJA, S.; PERMADI, A.H.; KIK, C. Screening for resistance to anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) in *Allium cepa* and its wild relatives. **Euphytica**, v. 95, p. 173-178, mai. 1997.

GIACOMINI, G.; NACHTIGAL, G.F.; SCHIEDECK, G.; VALGAS, R.A.; GIACOMINI, R.X.; LIMA, D.L. Atividade fitotóxica de extratos aquosos e óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. e Sacc, Phytotoxic activity of aqueous extracts and essential oils on *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. e Sacc. In: VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA, 2013, Porto Alegre. **Resumo...**Porto Alegre: Cadernos de Agroecologia, 2013. v.8, n. 2. P. 1-5.

GONÇALVES, P.A de S.; BOFF, P.; ROWE, E. **Referências tecnológicas para a produção de cebola em sistemas orgânicos**. Florianópolis: Epagri, 2008. 21p. (Epagri. Boletim Técnico, 142).

GUIMARÃES, L.G.L. **Estudo da estabilidade e do efeito fungitoxico do óleo essencial do capim limão.** 2007. 88 p. Tese (mestrado em agroquímica e agrobioquímica)- Universidad Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais.

GUIMARÃES, L.L.; CARDOSO, M.G.; SOUSA, P.E.; ANDRADE, J.; VIEIRA, S.S. Atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do do citral. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 2, p. 464-472, abr./jun. 2011.

GUSMAN, G.S.; YAMAGUSHI, M.Q.; VESTENA, S. Potencial alelopático de extratos aquosos de *Bidens pilosa* L., *Cyperus rotundus* L. e *Euphorbia heterophylla* L. Iheringia. **Série Botanica**, Porto Alegre, v. 66, n. 1, p. 87 - 98, jul. 2011.

HASSE, I.; MAY-DE MIO, L.L.; LIMA NETO, V DA.C. Efeito do pré-plantio com plantas medicinais e aromáticas no controle de *Plasmodiophora brassicae*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 1, p. 74-79. 2007.

ITAKO, A.T.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; TOLENTINO JÚNIOR, J.B.; CRUZ, M.E.S. Controle de *Cladosporium fulvum* em tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Revista Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.1, p.75-83, jan./mar. 2009.

LEE, S.O.; IL-KWON, P.; GYUNG, J.C.; HE, K.L.; KYONG, S.J.; KWANG, Y.C.; SANG-CHEOL, S.; JIN-CHEOL, K. Fumigant Activity of Essential Oils and Components of *Illicium verum* and *Schizonepeta tenuifolia* Against *Botrytis cinerea* and *Colletotrichum gloeosporioides*. **Journal Microbiology Biotechnology**, Korea, p.1568–1572. 2007.

LIMA, R.K.; CARDOSO, M.G.; MORAES, J.C.; VIEIRA, S.S.; MELO, B.A.; FILGUEIRAS, C.C. Composição dos Óleos Essenciais de Anis-estrelado *Illicium verum* L. E de Capim-limão *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: Avaliação do Efeito Repelente sobre *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae). **Entomológica do Brasil**, Lavras, p. 1-8. 2008.

LIMA, W.G.; MELO FILHO, P.A.; CÂMARA, M.P.; SANTOS, R.C.; CÂMARA, C.G., SILVA, A.M.; SILVA, A.F.; GARCIA, A.L. BEZERRA, C.S. **Efeito de óleos vegetais no controle de *Colletotrichum gossypii* var. *Cephalosporioides***. 2010. Disponível em: < http://www.infobibos.com/Artigos/2010_3/OleosVegetais/ >. Acesso em: 23 abril. 2016.

LORENZETTI, E.R.; CONCEIÇÃO, D.M.; SACRAMENTO, L.V.S.; FURTADO, E.L. Controle da ferrugem das folhas do capim-limão [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf com produtos naturais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 4, p. 571-578. 2012.

LUCAS, G.T.; ARAKAKI, J.T.; GORAYEB, T. C.C.; THOMÉO, J.C. Atividade Antifúngica de Óleos Essenciais no Controle da Infestação do Fungo *Aspergillus flavus* link em Amendoim *Arachis hypogaea* L. In: XII Congresso Latino Americano de Microbiologia e Higiene de Alimentos, 2014, São Paulo. **Anais...São Paulo**: Editora Blucher, 2014. v.1.

MACHADO, J.C.; OLIVEIRA, J.A.; VIEIRA.; ALEVES, M.C. Uso da restrição hídrica na inoculação de fungos em sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 1, p. 62-67. 2004

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, jan./feb. 1962.

MATA, M.F.; ARAUJO, E.; NASCIMENTO, L.C.; SOUZA, A.F.; VIANA, S. Incidência e controle alternativo de patógenos em sementes de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC, *Cactaceae*). **Revista Brasileira Biociência**, Porto Alegre, v. 7, n. 4, p. 327-334, out./dez. 2009.

MEDICE, R.; ALVES, E.; TADEU, R.; MAGNO JÚNIOR, R.G.; LOPES, E.A. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. e P. Syd. **Ciência e agrotecnologia**. Lavras, v. 31, n. 1, p. 83-90, jan./feb. 2007.

NASCIMENTO, L.C.; NERY, A.P.; RODRIGUES, L.N. Controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamoeiro, utilizando extratos vegetais, indutores de resistência e fungicida. **Acta Scientia Agronomica**. Maringá, v. 30, n. 3, p. 313-319. 2008.

NUNES, U.R.; SANTOS, M.R.; ALVARENGA, R.N.; DIAS, DC. Efeito do condicionamento osmótico e do tratamento com fungicida na qualidade fisiológica e sanitária de sementes de cebola (*Allium cepa* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Viçosa, v. 22, n. 1, p.239-246. 2000.

PEDROSA, R.A.; MAFFIA, L.A.; MIZUBUTI, E.S. ; BROMMONSCHENKEL, S.H. Componentes de resistência em cebola *Colletotrichum gloeosporioides*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 29, p. 606-613, nov./ dec. 2004.

PEREIRA, R.B.; ALVES, E.; RIBEIRO JUNIOR, P.M.; RESENDE, J.B.; GILVAINE, C.L.; FERREIRA, J.B. Extrato de casca de café, óleo essencial de tomilho e acibenzolar-S-metil no manejo da cercosporiose-do-cafeeiro. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 10, p. 1287-1296, out. 2008.

PEREIRA, R.B.; LUCAS, G.C.; PERINA, F.J.; RESENDE, M.V; EDUARDO ALVES, E. Potential of essential oils for the control of Brown eye spot in coffee plants. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 115-23, 2011.

PIPER, P.; CALDERON, C.O.; HATZIXANTHIS, K.; MOLLAPOUR, M.. Weakacid adaptation: the stress response that confers resistance to organic acid food preservatives. **Microbiology**, London, p. 2635-2642. 2001

RICCI, M.S.; ALMEIDA, F.; GUERRA, J.; COCHETO JUNIOR, D.; RIBEIRO R. Cultivo orgânico de cultivares de cebola nas condições da Baixada Fluminense. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v.32, n.1, p. 120-214, jan./mar. 2014.

RODRIGUES, L.R.A.; RODRIGUES, T.J.D.; REIS, R.A. **Alelopatia em plantas forrageiras**. Jaboticabal: FCAVJ-UNESP/ FUNEP, 1992. 18p

RODRIGUES, E.A.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.; STANGARLIN, J.R.; SCAPIM, C.A.; FIORI-TUTIDA, A.G. Potencial da planta medicinal *Ocimum gratissimum* no controle de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de trigo. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringa, v. 28, n. 2, p. 213-20. 2006.

ROSAL, L.F. Eficiência do Uso de Extrato Aquoso de Sálvia em Diferentes Concentrações Sobre o Crescimento Micelial de *Penicillium* sp. **Revista Brasileira De Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 1666-1669. 2009.

ROZWALKA, L.; COSTA LIMA, M.Z.; MIO, L.M.; NAKASHIMA, T. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 301-307, mar./abr. 2008.

SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. **Plant physiology**. 4 ed, Belmont: Wadsworth, 1991. 682p.

SEIXAS, P.T.L.; CASTRO, H.C.; SANTOS, G.R.; CARDOSO, D.P. Controle fitopatológico do *Fusarium subglutinans* pelo óleo essencial do capim citronela (*Cymbopogon nardus* L.) e do composto citronela. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, p. 523-526, 2011.

SILVA, P.V; PASIN, L.P. Efeito de extrato aquoso de *Cymbopogon citratus* Stapf (capim- limão), *Ocimum basilicum* L. (manjeriçã), *Vernonia scorpioides* (piracá) na incidência fúngica nas sementes de *Helianthus annuus* L. (girassol). In: X Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação. 2006. São Paulo. **Resumo...** São Paulo: Universidade do Vale do Paraíba. 2006. p. 167-170.

SILVA, A.C.; SALES, N.L.; ARAUJO, A.V., CALDEIRA JUNIOR C.F.efeito in vitro de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. isolado do maracujazeiro. **Ciência Agrotecnologica**, Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 1853-1860. 2009

SILVA, M. B.; MORANDI, M. A. B.; PAULA JÚNIOR, T. J.; VENZON, M.; FONSECA, M. C. M. Uso de princípios bioativos de plantas no controle de fitopatógenos e pragas. **Informe Agropecuário**, v. 31, n. 255, p. 70-77. 2010.

SMID, E.J.; KOEKEN, J.P.G.; GORRIS, L.G.M. 1996. Fungicidal and fungistatic action of the secondary plant metabolites cinnamaldehyde and carvone. In: H. LYR; P.E. RUSSEL; H.D. SISLER, (eds.), **Modern Fungicides and Antimicrobial Compounds**. Intercept, Andover, p. 173-180.

SOUZA, S.C.; PEREIRA, M; ANGÉLICO, C.L.; PIMENTA, C. Avaliação de óleos essenciais de condimentos sobre o desenvolvimento micelial de fungos associados a produtos de panificação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 3, May./June. 2004.

SOUZA, A.E.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTOZ, L.C. Atividade Antifúngica de Extratos silvade Alho e Capim-Santo sobre o Desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* Isolado de Grãos de Milho. **Fitopatologia Brasileira**, Paraíba, p. 465-471. Nov./Dez. 2007.

SOUSA FILHO, I.T.; SALES, N.P.; MARTINS, E.R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Revista Biotemas**, Pelotas, p. 77-83, set. 2009.

SOUSA, R.S., SERRA, I.R.; MELO, T.A. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. **Summa Phytopathology**, Botucatu, v. 38, n. 1, p. 42-47. 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 2009. 4. ed. Porto Alegre: Artmed. 848p

TAGAMI, O.K.; GASPARIN, M.D.G.; SCHWAN-STRADA, K.R.; CRUZ, M.E.S.; ITAKO, A.T.; TOLENTINO JÚNIOR, J.B.; MORAES, L.M.; STANGARLIN, J.R. Fungitoxidade de *Bidens pilosa*, *Thymus vulgaris*, *Lippia alba* e *Rosmarinus officinalis* no desenvolvimento *in vitro* de fungos fitopatogênicos. In: Seminário Ciências Agrárias, 2009, Londrina. **Anais...**Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2009, v. 30, p. 285-294.

TAVARES, G.M.; SOUZA, P.E. Efeito de fungicidas no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da Antracnose do Mamoeiro (Carica papaya L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.29, n.1, p.52-59, jan./fev. 2005

TEXEIRA, H.; MACHADO, J.C.; ORIDE, D.;ALVES, M.C.; NODA, A. Técnica de Restrição Hídrica: Efeito sobre *Acremonium strictum*, Protrusão de Sementes e Obtenção de Sementes de Milho Infetadas. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, mar./abr. 2005

VIVAS, M.; SILVA, D. G.; COSTA, H.; SILVEIRA, S. F.; PEREIRA, A. J. Inibição *in vitro* do crescimento micelial de *Colletotrichum acutatum* por extrato bruto aquoso e óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf e *Eucalyptus citriodora* Hooker. **Fitopatologia Brasileira**, Espírito Santo, p. 83-88. 2006.

ZAMBOLIM, L.; JACCOUD FILHO, D.S. Doenças causadas por fungos em alho e cebola. IN: ZAMBOLIM, L.; VALE ,F.X.R.; COSTA H. **Controle de Doenças de Plantas Hortaliças**, Viçosa, v.1, p. 1-26. 2000.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

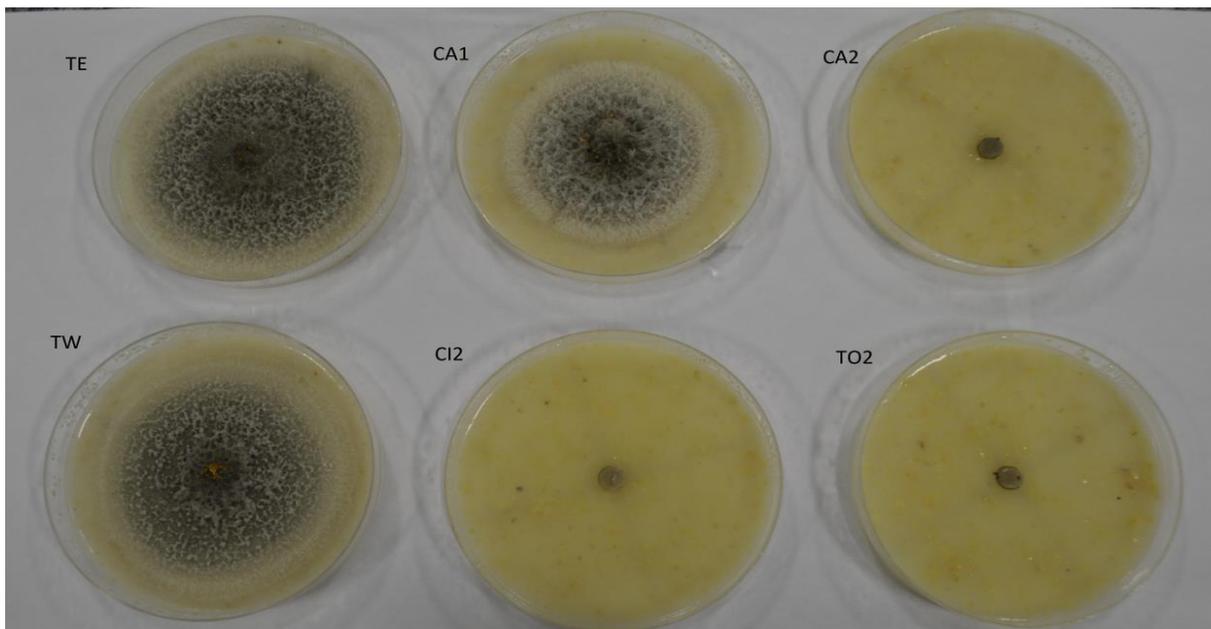
A sociedade atualmente está em procura de tratamentos menos agressivos com o ambiente e a saúde humana, diversas pesquisas estão sendo desenvolvidas pela necessidade de alternativas do controle químico convencional. Os óleos essenciais estão sendo estudados como um método alternativo no controle de doenças, pela presença de compostos químicos responsáveis de efeitos alelopáticos sobre uma planta ou microorganismos.

A partir dos experimentos realizados neste trabalho, observou-se que os óleos essenciais podem ser utilizados na proteção de sementes de cebola contra *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae*. Todos os óleos essenciais nas concentrações testadas reduziram o crescimento micelial e germinação de esporos do patógeno.

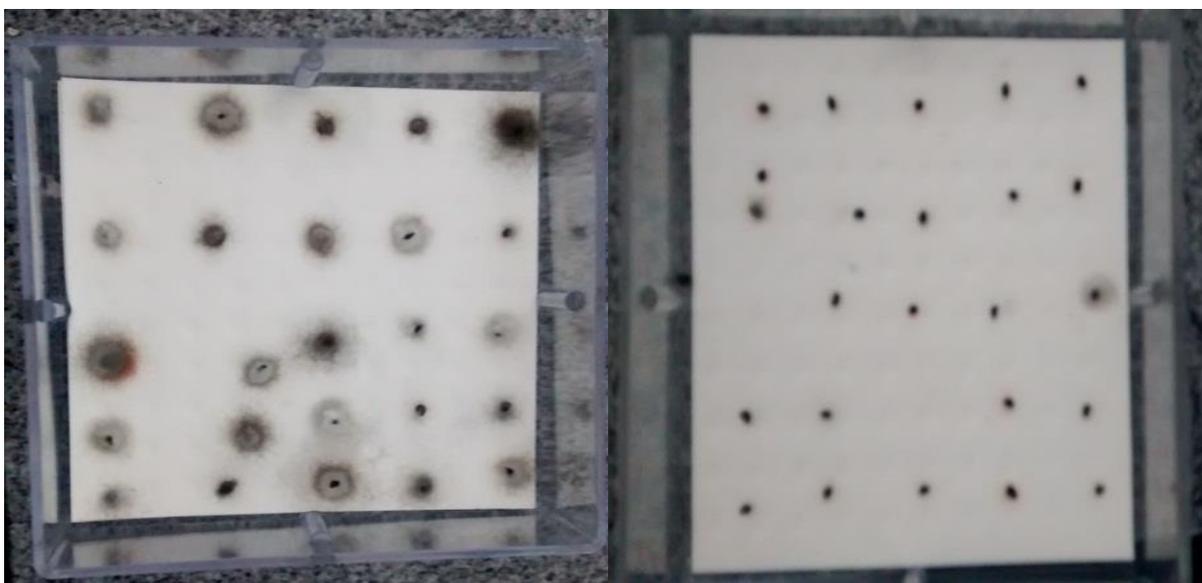
O óleo essencial de capim-limão na concentração de 1.000 ppm é o mais indicado para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* em sementes, pois não afetou a qualidade fisiológica e permitiu o controle do patógeno.

A pesquisa com óleos essenciais é promissora, com possibilidade de novas e relevantes descobertas. Todavia, outros estudos devem ser realizados para verificar a viabilidade do uso do óleo essencial do capim-limão no controle fitossanitário de fungos fitopatogênicos *in vivo*. O controle fitossanitário a partir dos óleos essenciais pode ser um método eficaz e de baixo impacto ambiental, no tratamento de sementes para o combate a organismos patogênicos causadores de diferentes doenças.

ANEXOS



Anexo A1. Crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* submetido aos óleos essenciais de capim-limão na concentração de 1.000 ppm (CA1) e 2.000 ppm (CA2), citronela 2.000 ppm (CI2) e tomilho a 2.000 ppm (TO2).



Anexo A2. Sementes inoculadas com o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cepae* tratadas com água destilada (testemunha) e com o óleo de capim-limão na concentração de 1.000 ppm, respectivamente.