

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
CAMPUS PROFª CINOBELINA ELVAS  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
MESTRADO EM AGRONOMIA

**TRATAMENTOS ALTERNATIVOS NA QUALIDADE SANITÁRIA E  
FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA**

**AUGUSTO MATIAS DE OLIVEIRA**

BOM JESUS-PI  
2019

**TRATAMENTOS ALTERNATIVOS NA QUALIDADE SANITÁRIA E  
FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA**

AUGUSTO MATIAS DE OLIVEIRA  
Licenciado em Ciências Biológicas

Orientadora: PROF<sup>a</sup> DRA. LUCIANA BARBOZA SILVA  
Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra. Alice Maria Gonçalves Santos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí-UFPI, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de concentração (Produção Vegetal).

BOM JESUS-PI  
2019

**TRATAMENTOS ALTERNATIVOS NA QUALIDADE SANITÁRIA E  
FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA**

Por

Augusto Matias de Oliveira

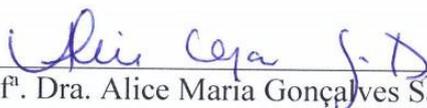
Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de  
MESTRE EM AGRONOMIA Área de concentração (Produção Vegetal)

Aprovado em: 25/02 /2019



---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Luciana Barboza Silva (Orientadora)  
UFPI-CPCE



---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Alice Maria Gonçalves Santos (Co-orientadora)  
UFPI-CPCE



---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Elaine Martins da Costa (Examinador interno)  
UFPI-CPCE



---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Juliana Joice Pereira Lima (Examinador externo)  
UFPI-CPCE

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Daniela Vieira Chaves (Suplente)  
UFPI-CPCE

O49t Oliveira, Augusto Matias de.  
Tratamentos alternativos na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja. / Augusto Matias de Oliveira. – 2019.  
41 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Campus Professora Cinobelina Elvas, Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Área de Concentração (Produção Vegetal), Bom Jesus-PI, 2019.

Orientação: “Profª. Dra. Luciana Barboza Silva”.

1. Vinhaça. 2. Manipueira. 3. *Eucalyptus grandis* x *tereticornis*. 4. *Eucalyptus grandis* x *urophylla*. 5. Controle. 6. *Glycine max*.

CDD 633.34

Dedico em primeiro lugar a Deus e Nossa Senhora, e depois a minha mãe e heroína. Por fim, a todos aqueles que confiaram em mim e direta ou indiretamente contribuíram com essa conquista.

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus e Nossa Senhora por todo amor, proteção, força e sabedoria.

A minha mãe, por todo amor, carinho, zelo e sacrifícios para que chegasse até aqui. Meu exemplo de mãe, amiga e cidadã.

A minha orientadora, Luciana Barboza, por toda preocupação, amizade e compreensão.

A minha mais que co-orientadora, minha amiga e conselheira, professora Alice Maria, obrigado por todo conhecimento partilhado, ajuda, e acima de tudo, todo amor, carinho e gargalhadas. Nossa caminhada longe da família é difícil, porém, se torna mais fácil e agradável quando em nossos caminhos encontramos profissionais como a senhora.

As minhas amigas Hingrid Raiany e Jeissica Taline, por toda ajuda, carinho, amor, sorrisos e momentos de tensão partilhados juntos (#Ciência no CPCE).

Ao colegiado do programa de pós-graduação em Ciências Agrárias.

Ao pessoal do laboratório de fitotecnia (Prof<sup>ª</sup>. Helane e Regilene).

A CAPES, pela bolsa de estudos, que me permitiu ter uma estadia e manutenção da pesquisa.

A minha família, amigos e a todos que direta ou indiretamente contribuíram para que chegasse até aqui, meu muito obrigado.

## Sumário

Resumo.....	i
Abstract .....	ii
Lista de tabelas .....	iii
Lista de Figuras .....	iv
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>2. CAPÍTULO I – QUALIDADE SANITÁRIA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA TRATADAS COM VINHAÇA E MANIPUEIRA .....</b>	<b>3</b>
Resumo.....	3
2.1. Introdução.....	3
2.2. Metodologia.....	5
2.3. Resultados.....	8
2.4. Discussão.....	16
2.5. Conclusões.....	19
2.6. Referências Bibliográficas.....	19
<b>3. CAPÍTULO II - QUALIDADE SANITÁRIA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA TRATADAS COM ÓLEOS ESSENCIAIS DOS HÍBRIDOS <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>tereticornis</i> e <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>urophylla</i> .....</b>	<b>24</b>
Resumo.....	24
3.1. Introdução.....	24
3.2. Metodologia.....	26
3.3. Resultados.....	28
3.4. Discussão.....	35
3.5. Conclusões.....	37
3.6. Referências bibliográficas .....	37
<b>4. Considerações finais.....</b>	<b>40</b>
<b>5. Referências bibliográficas .....</b>	<b>40</b>

## TRATAMENTOS ALTERNATIVOS NA QUALIDADE SANITÁRIA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA<sup>1</sup>

### Resumo

A qualidade das sementes de soja pode ser afetada por diversos fatores, entre eles tem-se os danos ocasionados por patógenos, destacando-se os de origem fúngica que são os principais alvos dos tratamentos químicos utilizando principalmente os fungicidas comerciais. Porém, os produtos químicos comerciais podem afetar negativamente à saúde humana e ao ambiente, inibir a formação de compostos secundários que podem vir atuar como mecanismo de defesa, além de promover o surgimento de espécies resistentes na área. Assim, é importante avaliar medidas alternativas de controle, como subprodutos orgânicos e óleos essenciais, que possam atuar na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja. O estudo foi desenvolvido no laboratório de fitotecnia da Universidade Federal do Piauí/Campus Professora Cinobelina Elvas. Com os subprodutos orgânicos foram realizados testes de sanidade, indução de fitoalexina e qualidade fisiológica das sementes, conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC). O teste de sanidade foi montado em esquema fatorial 3 x 5 (dois subprodutos: vinhaça-V, manipueira-M e a junção entre estes - V+M, em cinco concentrações: 0, 25, 50, 75 e 100%), com 8 repetições/tratamento. Na indução de fitoalexina adotou-se esquema fatorial (3 x 4) + 1 – dois subprodutos e sua junção, já descritos, com quatro concentrações (25, 50, 75 e 100%), mais uma testemunha adicional - com cinco repetições/tratamento, e para a qualidade fisiológica das sementes esquema fatorial 3x5, descrito acima, com quatro repetições/tratamento. Com os óleos essenciais avaliou-se a sanidade e a qualidade fisiológica das sementes, ambos conduzidos em DIC. O teste de sanidade foi montado em esquema fatorial 2x5, constituído de dois óleos essenciais extraídos dos híbridos *Eucalyptus grandis* x *tereticornis* (HEgt) e *Eucalyptus grandis* x *urophylla* (HEgu), com cinco doses (0; 0,5; 0,75; 1,0 e 2,0  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ ), utilizando oito repetições/tratamento, e os de qualidade fisiológica em esquema fatorial 2x4+1, constituído por dois óleos essenciais supracitados, em quatro doses (0,5; 0,75; 1,0 e 2,0  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ ), mais uma testemunha adicional, usando quatro repetições/tratamento. A vinhaça aplicada isoladamente apresentou maior capacidade de indução de fitoalexina e inibição dos gêneros *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Penicillium*, principalmente nas concentrações de 75 e 100%, não prejudicando a qualidade fisiológica das sementes. Ambos os óleos mostraram-se eficientes no controle dos gêneros *Fusarium* e *Cladosporium* com melhores resultados nas doses de 1,0 e 2,0  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ . Apesar de maior eficiência no controle sanitário, o óleo do HEgu afeta negativamente a qualidade fisiológica das sementes. O uso do óleo do HEgt na dose de 2,0  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , além de eficiente no controle fitossanitário, não altera a qualidade fisiológica das sementes. A vinhaça e o óleo essencial do HEgt são indicados como tratamentos alternativos no controle fitossanitário de sementes de soja.

**Palavras chave:** Vinhaça, Manipueira, *Eucalyptus grandis* x *tereticornis*, *Eucalyptus grandis* x *urophylla*, controle, *Glycine max*.

<sup>1</sup>Dissertação de mestrado em Agronomia, CAPES, Universidade Federal do Piauí. Bom Jesus-PI, (51 p.) - 2019.

## Abstract

The quality of the soybean seeds can be affected by several factors, among them are the damages caused by pathogens, among which are those of fungal origin that are the main targets of the chemical treatments using mainly the commercial fungicides. However, the commercial chemicals may adversely affect human health and the environment, also to inhibit the formation of secondary compounds that could act as a defense mechanism, besides to promote the emergence of resistant species in the area. Thus, it is important to evaluate alternative measures of control, such as organic byproducts and essential oils, that can to act in the sanitary and physiological quality of soybean seeds. The study was developed in the plant breeding laboratory of the Federal University of Piauí / Campus Professora Cinobelina Elvas. In the treatments with the organic byproducts were performed sanity tests, induction of phytoalexin and physiological qualities, conducted in a completely randomized design (CRD). The sanity test was set up in a 3 x 5 factorial scheme (two byproducts: vinasse -V, manipueira-M and the combination of them - V + M, in five concentrations: 0, 25, 50, 75 and 100%), with 8 replicates / treatment. In the induction of phytoalexin, a factorial scheme (3 x 4) + 1 - two byproducts and their junction, already described, were adopted with four concentrations (25, 50, 75 and 100%) plus one additional control - with 5 replicates / treatment, and for the physiological qualities were adopted a 3x5 factorial scheme, described above, with four replicates / treatment. With the essential oils the sanity and the physiological qualities of the seeds were evaluated, both conducted in CRD. The sanity test was set up in a 2x5 factorial scheme, consisting of two essential oils extracted from the hybrids *Eucalyptus grandis* x *tereticornis* (HEgt) and *Eucalyptus grandis* x *urophylla* (HEgu), with five doses (0, 0.5, 0.75, 1, 0 and 2.0  $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), using eight replicates / treatment, and those of physiological quality in 2x4 + 1 factorial scheme, consisting of 2 essential oils, described above, in 4 doses (0.5, 0, 75, 1.0 and 2.0  $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), plus an additional control using four replicates / treatment. From the organic byproducts studied the vinasse presented greater capacity of induction of phytoalexin and inhibition of the *Aspergillus*, *Cladosporium* and *Penicillium* gender, mainly in the concentrations of 75 and 100%, it does not inhibit the physiological qualities of the seeds. Both oils were efficient in controlling the gender *Fusarium* and *Cladosporium* with better results in the doses of 1.0 and 2.0  $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Despite greater efficiency in sanitary control, the oil of HEgu negatively affects the physiological qualities of the seeds. The use of the HEgt oil at a dose of 2.0  $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ , besides being efficient in phytosanitary control, it does not affect the physiological qualities of the seeds.

**Keywords:** Vinasse, manipueira, *Eucalyptus grandis* x *tereticornis*, *Eucalyptus grandis* x *urophylla*, control, *Glycine max*.

## Lista de tabelas

### Capítulo I

<b>Tabela 1.</b> Análise química dos subprodutos: Fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg).....	8
<b>Tabela 2.</b> Análise de variância (quadrados médios e teste F) para gêneros fúngicos encontrados em sementes de soja tratadas com subprodutos orgânicos (vinhaça-V, manipueira-M e V+M) em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%).....	9
<b>Tabela 3.</b> Desdobramento dos subprodutos orgânicos (Vinhaça-V, Manipueira-M e V+M) em cada nível de concentração para os gêneros <i>Aspergillus</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Penicillium</i> e <i>Chaetomium</i> .....	10
<b>Tabela 4.</b> Análise de variância (quadrados médios e teste F) para indução de fitoalexina gliceolina em sementes de soja tratadas com subprodutos orgânicos em diferentes concentrações.....	13
<b>Tabela 5.</b> Efeito de subprodutos orgânicos em diferentes concentrações na indução de fitoalexina gliceolina (Abs.gtf <sup>-1</sup> ) em condições de laboratório, Bom Jesus-PI.....	14
<b>Tabela 6.</b> Análise de variância (quadrados médios e teste F) para as variáveis fisiológicas porcentagem de germinação (PG), porcentagem de plântulas anormais (PPA), porcentagem de sementes mortas (PSM) e índice de velocidade e germinação (IVG) em sementes de soja tratadas com subprodutos orgânicos em diferentes concentrações.....	15
<b>Tabela 7.</b> Desdobramento dos subprodutos orgânicos em cada nível de concentração para o índice de velocidade e germinação.....	15

### Capítulo II

<b>Tabela 1.</b> Composição química do óleo essencial do híbrido de <i>E. grandis</i> x <i>urophylla</i> .....	28
<b>Tabela 2.</b> Composição química do óleo essencial do híbrido de <i>E. grandis</i> x <i>tereticornis</i> .....	29
<b>Tabela 3.</b> Análise de variância (quadrados médios e teste F) para gêneros fúngicos encontrados em sementes de soja tratadas com óleos essenciais em diferentes doses.....	30
<b>Tabela 4.</b> Desdobramento dos óleos essenciais dos híbridos <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>tereticornis</i> (G x T) e <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>urophylla</i> (G x U) em cada nível de dose para os gêneros <i>Aspergillus</i> e <i>Fusarium</i> .....	31
<b>Tabela 5.</b> Análise de variância (quadrados médios e teste F) para as variáveis fisiológicas porcentagem de germinação (PG), porcentagem de plântulas anormais (PPA), porcentagem de sementes mortas (PSM) e índice de velocidade e germinação (IVG) em sementes de soja tratadas com óleos essenciais em diferentes doses.....	33
<b>Tabela 6.</b> Efeito dos óleos essenciais e da interação testemunha adicional x (óleos essenciais x doses) para as variáveis fisiológicas porcentagem de germinação (PG), porcentagem de plântulas anormais (PPA), porcentagem de sementes mortas (PSM) e índice de velocidade e germinação (IVG) em sementes de soja.....	34

## Lista de Figuras

### Capítulo I

- Figura 1.** Efeito de subprodutos orgânicos em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%) sobre gêneros fúngicos encontrados em sementes de soja. *Aspergillus* (A), *Cladosporium* (B), *Fusarium* (C), *Penicillium* (D) e *Chaetomium* (E).....12
- Figura 2.** Efeito de subprodutos (Vinhaça-V, manipueira-M e V+M) em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%) na indução de fitoalexina gliceolina em sementes de soja.....14
- Figura 3.** Efeito de subprodutos (Vinhaça-V, manipueira-M e V+M) em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%) sobre o índice de velocidade e germinação.....16

### Capítulo II

- Figura 1.** Perfil cromatográfico do óleo essencial extraído de folhas do híbrido de *E. grandis* x *urophylla*.....28
- Figura 2.** Perfil cromatográfico do óleo essencial extraído de folhas do híbrido de *E. grandis*.....29
- Figura 3.** Efeito de óleos essenciais de híbridos de *E. Grandis* x *tereticornis* (G x T) e *Grandis* x *urophylla* (G x U) em diferentes doses sobre gêneros fúngicos encontrados em sementes de soja. *Aspergillus* (A), *Fusarium* (B) e *Cladosporium* (C).....32

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A cultura da soja (*Glycine max*) apresenta grande importância socioeconômica nacional e internacionalmente. É uma das principais explorada no Brasil, levando o país a ocupar ao longo das décadas uma posição de destaque no cenário mundial como segundo maior produtor. Na safra 2017/2018 foram produzidas 118,9 milhões de toneladas (t) com produtividade de 3,38 t.ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2018). Diante da importância dessa cultura existe uma expectativa no aumento da produtividade para a safra 2025/26, comparado à safra 2017/2018 de aproximadamente 2,74% (MAPA, 2017; DORNELES et al., 2019).

A utilização de sementes de qualidade é um dos primeiros passos para esse aumento, no entanto, estão sujeitas ao ataque de diversos fatores bióticos que influenciam negativamente; entre esses, a infestação por fungos, agentes que ocorrem nos locais de armazenamento de sementes. Entre as espécies de fungos infestantes, destacam-se as dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Chaetomium*, *Curvularia*, *Penicillium*, dentre outros, que podem diminuir a germinação, promover perda da matéria seca, além de produzir micotoxinas (GOULART, 2005; ELY, 2018).

O controle fúngico tem-se dado principalmente com fungicidas comerciais visto sua eficiência. Entretanto, por causa dos altos custos para sua obtenção e aplicação, efeitos negativos ao meio ambiente, aos consumidores e as próprias sementes, têm surgido o interesse por pesquisas com controles alternativos, visando minimizar o uso e gastos com defensivos químicos comerciais (DEBONNE et al., 2017; CARDOSO et al., 2019).

O uso de subprodutos orgânicos e óleos essenciais, além da fácil aquisição, tem mostrado resultados significativos no controle de microrganismos (FONSECA et al., 2016; MIKOLA et al., 2017; LEITE et al., 2019). Os tratamentos alternativos apresentam em sua composição compostos secundários que são tóxicos as mais variadas formas de vida, além de estimularem a produção de compostos de defesa, como as fitoalexinas que inibem a produção de algumas enzimas fúngicas (GOUVEA et al., 2011).

A vinhaça formada a partir da destilação do etanol é rica em matéria orgânica com elevada demanda biológica de oxigênio, e tem se mostrado eficiente no controle de nematoides (LAIME et al., 2011; LEITE et al., 2019), a manipueira obtida da prensagem de raízes de mandioca para a produção de fécula, apresenta glicosídeos cianogênicos,

principalmente linamarina e estudos comprovam sua eficiência também no controle de nematoides e mamíferos (SANTOS et al., 2009; FONSECA et al., 2016). Ambos os subprodutos apresentam grande potencial no controle de microorganismos devido sua composição, no entanto, ainda não existem estudos com esses subprodutos na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja.

Os óleos essenciais são compostos químicos voláteis provenientes do metabolismo secundário das plantas (MAIA et al., 2015). Apresentam em sua composição compostos como monoterpenos, terpenóides, sesquiterpenos, que devido sua natureza apolar, lhe conferem caráter lipofílico que torna a membrana celular fúngica permeável, causando o vazamento de seu conteúdo, conseqüentemente acarretando em morte (KNAAK e FIUZA, 2010).

No entanto, além da eficiência no controle fitossanitário, é necessário que os controles alternativos mantenham ou melhorem a qualidade fisiológica das sementes, pois os compostos secundários presentes nos subprodutos orgânicos (altas concentrações de potássio, fósforo, dentre outros) e óleos essenciais (monoterpenos, terpenos, dentre outros) podem prejudicar o desempenho fisiológico das sementes devido suas altas concentrações e composição (VENTUROSOSO et al., 2009; FLÁVIO et al., 2014; CARDOSO et al., 2019).

Assim, diante da importância da cultura, da busca por controles alternativos e o potencial dos subprodutos orgânicos e óleos essenciais, objetivou-se avaliar o efeito destes na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja.

## 2. CAPÍTULO I – QUALIDADE SANITÁRIA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA TRATADAS COM VINHAÇA E MANIPUEIRA

### Resumo

O uso de sementes de qualidade é essencial para manutenção e/ou aumento da produtividade da cultura da soja, no entanto, geralmente são infestadas por patógenos, principalmente por fungos, e o controle destes tem-se dado especialmente através de fungicidas comerciais. Porém, a utilização de produtos químicos comerciais além de prejudicial à saúde humana e ao ambiente, podem inibir a formação de compostos secundários das plantas, como as fitoalexinas, tornando-as suscetíveis ao ataque de patógenos. Assim, objetivou-se avaliar o efeito da vinhaça e manipueira na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja. O estudo foi desenvolvido no laboratório de fitotecnia da Universidade Federal do Piauí/Campus Professora Cinobelina Elvas. No teste de sanidade adotou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 3 x 5 (dois subprodutos: vinhaça-V, manipueira-M e o efeito conjunto deles - V+M, em cinco concentrações: 0, 25, 50, 75 e 100%), com 8 repetições de 25 sementes/tratamento. Na avaliação da indução de fitoalexina adotou-se o DIC em esquema fatorial (3 x 4) + 1 constituído por dois subprodutos e a junção destes, descritos anteriormente, com quatro concentrações (25, 50, 75 e 100%), mais uma testemunha adicional, com 5 repetições de cinco cotilédones/tratamento. Na qualidade fisiológica das sementes adotou-se o mesmo delineamento e esquema fatorial da sanidade, no entanto, utilizou-se quatro repetições de 50 sementes/tratamento. As variáveis fisiológicas avaliadas foram: Porcentagem de germinação, plântulas anormais e sementes mortas, e índice de velocidade e germinação. A vinhaça apresentou maior capacidade de inibição dos gêneros *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Penicillium*, principalmente com o aumento das concentrações, sendo explicado pela relação positiva entre suas concentrações e a indução de fitoalexina, composto de defesa contra o ataque de patógenos. A vinhaça foi o subproduto mais eficaz no controle fúngico, com melhores resultados nas concentrações de 75 e 100%, não alterando a qualidade fisiológica das sementes. Portanto, a vinhaça pode ser utilizada no controle fitossanitário de sementes de soja.

**Palavras-chave:** Controle fitossanitário, fitoalexina gliceolina, gêneros fúngicos e *Glycine max*.

### 2.1. Introdução

A produção de soja no Brasil é intensa, impulsionando a balança comercial, colocando o país como segundo maior produtor mundial, gerando emprego e renda para milhares de famílias, além de ser excelente fonte proteica, quando utilizada na alimentação humana e animal (DORNELES et al., 2019). Na safra 2017/2018 foram produzidas 118,9 milhões de toneladas (t) com produtividade de 3,38 t.ha<sup>-1</sup> (CONAB,

2018). Prever-se para a safra 2025/26, comparado à safra 2017/2018, um aumento na produtividade de 2,74% (MAPA, 2017).

O uso de sementes de qualidade é essencial para o aumento dessa produtividade, pois a cultura está sujeita a ação de diversos fatores bióticos que influenciam negativamente na produção e qualidade dos grãos, entre esses, as doenças causadas por fungos, bactérias, pragas e nematoides (COLUSSI et al., 2016; RODRIGUES et al., 2017; ARAÚJO et al., 2017). Os fungos compõem o maior e mais diversificado grupo de organismos fitopatogênicos, podendo causar perdas e redução da qualidade das sementes, reduzindo a germinação e, conseqüentemente, perda de produtividade.

Do ponto de vista sanitário, uma boa semente é aquela livre de microorganismos fitopatogênicos, e essa condição depende de vários fatores como ambiente de produção das sementes, tratamento e condições de armazenamento. Pesquisas relatam a presença de fungos que acometem as sementes de soja, dentre os quais se destacam os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Colletotrichum*, que podem prejudicar seu desempenho por reduzir a qualidade fisiológica (GOULART, 2005; FLÁVIO et al., 2014; ELY, 2018).

Assim, a qualidade sanitária das sementes é indispensável, pois podem funcionar como veículos de agentes fitopatogênicos que ocasionam danos como redução de germinação e vigor, descolorações das sementes, perda da matéria seca, produção de micotoxinas e alteração do valor nutricional. Os principais métodos de assepsia utilizados são os defensivos químicos por apresentarem resultados rápidos e eficientes por determinado período. Entretanto, aplicações excessivas dos mesmos podem ocasionar aumento da incidência de patógenos resistentes na área, efeitos deletérios ao meio ambiente, consumidores e as próprias sementes e plantas, o que vem despertando interesse para pesquisas com controles alternativos (GOULART, 2005; DEBONNE et al., 2017; ELY, 2018; LEITE et al., 2019).

Subprodutos como vinhaça obtida da destilação do caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) para produção do etanol e a manipueira formada da prensagem de raízes de mandioca (*Manihot esculenta*) vem apresentado potencialidade no controle de patógenos como nematoides por possuírem na sua composição compostos secundários e elevada concentração de minerais (fósforo, potássio, cálcio) que podem induzir a

produção de fitoalexina nas plântulas (LAIME et al., 2011; LORENCETTI et al., 2015; FONSECA et al., 2016).

As fitoalexinas (*phyton* = planta; *alexin* = composto de defesa) são metabólitos secundários com atividade antimicrobiana produzidos pelas plantas após seu contato com produtos químicos e invasão por microorganismos, para evitar seu crescimento e propagação. Cerca de 300 fitoalexinas já foram descritas, e a presente na soja é a gliceolina, um pterocarpanóide (flavonóide) que inibe a atividade de algumas enzimas fúngicas (MAZARO, 2008; GOUVEA et al., 2011).

Diante da composição química dos subprodutos orgânicos é necessário ter-se cuidado com sua aplicação, pois sua composição química pode beneficiar o controle fitossanitário, porém, afetar negativamente a qualidade fisiológica das sementes. Elevadas concentrações de fósforo e potássio presentes na vinhaça e manipueira por exemplo, podem aumentar a salinidade e inibir a germinação (VENTUROSO et al., 2009).

No entanto, ainda não existem relatos da ação desses subprodutos no controle alternativo de fungos infestantes que prejudicam a qualidade sanitária, na indução de fitoalexina e na qualidade fisiológica das sementes de soja. Assim, objetivou-se avaliar o efeito da vinhaça e da manipueira na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja.

## **2.2. Metodologia**

### ***2.2.1. Local, período de desenvolvimento e obtenção dos subprodutos***

O estudo foi desenvolvido no laboratório de Fitotecnia da Universidade Federal do Piauí, Campus Professora Cinobelina Elvas (09°04'28"S 44°21'31"W), situada em Bom Jesus-PI, no período de setembro a dezembro de 2018.

A vinhaça foi obtida na fábrica de cachaça Pinheiro, localizada na zona rural da cidade de Palmeiras do Piauí (8°48'34"S 44°20'38"W) e a manipueira foi produzida manualmente no povoado Viçosa (09°30'16"S 44°36'50"W). Foram determinadas as concentrações de fósforo, potássio, cálcio e magnésio de ambos os subprodutos no laboratório de análise de solos da própria instituição.

### ***2.2.2. Teste de sanidade***

Desenvolvido em condições de laboratório, com temperatura média de 25°C e umidade relativa  $\pm 60\%$ , em delineamento inteiramente casualizado, esquema fatorial 3x5, constituído de dois subprodutos orgânicos e a junção entre eles (vinhaça, manipueira e vinhaça+manipueira) com 5 concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%, onde a concentração de 100% foi o subproduto puro e as demais concentrações formuladas a partir desta adicionando água destilada autoclavada-ADA), totalizando 15 tratamentos, com oito repetições de 25 sementes cada, perfazendo um número de 200 sementes/tratamento de acordo com o manual de regras para análise de sementes (MAPA, 2009). A cultivar de soja utilizada foi a FTR 4179 IPRO.

Em béqueres de 100 mL foi colocado um volume de 75 mL de cada tratamento e em seguida emergidas as sementes durante cinco minutos. Após tratadas, as sementes foram acondicionadas em caixas gerbox previamente esterilizadas com álcool 70 contendo três folhas de papéis germitest autoclavadas e umedecidas com ADA, funcionando cada gerbox como uma repetição. O volume em mililitros de ADA utilizado para umedecer os papéis foi obtido multiplicando sua massa por 2,5. Em seguida, as gerbox foram transferidas para BOD, onde permaneceram durante sete dias a 20 °C. Após esse período, foram identificados os gêneros fúngicos presentes nas sementes. Os fungos foram identificados a nível de gênero, com base nas características morfológicas observadas em microscópio óptico e chave de identificação.

### ***2.2.3. Indução de fitoalexina***

As sementes foram postas para germinar em papéis germitest, pelo método do rolo de papel conforme as regras para análise de sementes (MAPA, 2009), e após 12 dias, os cotilédones foram destacados e postos em placas de Petri (cinco cotilédones/placa), contendo um disco de papel germitest umedecido com 2 mL de ADA, funcionando cada placa como uma repetição, utilizando cinco repetições/tratamento. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (3 x 4) + 1 constituído por dois subprodutos orgânicos e a junção entre eles, descritos anteriormente, com quatro concentrações (25, 50, 75 e 100%), mais uma testemunha adicional tratada somente com ADA, totalizando 13 tratamentos. Com um bisturi, realizou-se um corte na superfície adaxial de cada cotilédone, onde foi aplicado uma alíquota de 20 $\mu$ L de cada

tratamento. As placas foram totalmente cobertas com papel alumínio e incubadas em BOD a 25° C durante 20 horas. Depois, os cotilédones foram pesados (peso/placa) em balança analítica e de precisão e alocados em erlenmeyer de 25 mL, contendo 10 mL de ADA, e em seguida, agitados durante 1 hora na mesa agitadora orbital SL - 180/D (160 rpm) para a extração da fitoalexina gliceolina. Por fim, realizou-se a leitura do sobrenadante em espectrofotômetro a uma absorvância de 285 nm, utilizando a água como branco (STANGARLIN et al., 2010). Os dados foram expressos em absorvância/grama de tecido fresco (Abs.gtf<sup>-1</sup>).

#### ***2.2.4. Qualidade fisiológica das sementes***

Os testes foram realizados com quatro repetições de 50 sementes por tratamento, em rolos de papel germitest umedecidos com água destilada autoclavada (RAS, 2009), na proporção de 2,5 vezes a massa do papel seco, acondicionados em BOD à temperatura de 25°C, em DIC, esquema fatorial 3 x 5 (dois subprodutos: vinhaça-V, manipueira-M, mais sua junção-V+M, com cinco concentrações: 0, 25, 50, 75 e 100%). As sementes foram emergidas nos tratamentos durante cinco minutos. Após oito dias foram feitas as seguintes avaliações:

-Porcentagem de germinação (PG): calculada pela fórmula  $PG = (N/A) \times 100$ , em que N= número de sementes germinadas ao final do teste; A=número de sementes colocadas para germinar.

-Porcentagem de plântulas anormais (PPA):  $PPA = (P/A) \times 100$ , em que: P= número de plântulas anormais, A=número de sementes colocadas para germinar.

-Porcentagem de sementes mortas (PSM):  $PSM = (M/A) \times 100$ , em que M= número de sementes mortas; A=número de sementes colocadas para germinar.

Diariamente e no mesmo horário foram realizadas contagens, contabilizando o número de sementes germinadas, com comprimento de radícula  $\geq 2$ mm, para cálculo do Índice de velocidade e germinação (IVG), conforme a fórmula:  $IVG = \sum (n_i/t_i)$ , em que:  $n_i$  = número de sementes que germinaram no tempo “i”,  $t_i$  = tempo após instalação do teste;  $i=1 \rightarrow 8$  dias de acordo com Maguire (1962).

### 2.2.5. Análise estatística

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk utilizando o programa estatístico R, e em seguida a Anova. Quando significativo, as médias do fator qualitativo (subprodutos) foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e as do fator quantitativo (concentrações) submetidas à análise de regressão utilizando o software Sigma Plot versão 10.0.

## 2.3. Resultados

### 2.3.1. Composição química dos subprodutos

De acordo com o IAC (2019), os teores de fósforo, potássio, cálcio e magnésio da vinhaça foram médio (16-40 mg.L<sup>-1</sup>), muito alto (>234 mg.L<sup>-1</sup>), alto (>273 mg.L<sup>-1</sup>) e baixo (<156 mg.L<sup>-1</sup>), respectivamente, e os da manipueira muito alto (>80 mg.L<sup>-1</sup>), muito alto, alto e médio (195-312 mg.L<sup>-1</sup>), respectivamente (Tabela 1).

**Tabela 1.** Análise química dos subprodutos: Fósforo (P), Potássio (K), Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg) na concentração de 100%.

P	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>
Vinhaça (mg.L <sup>-1</sup> )			
31,845	1337,500	283,750	0,567
Manipueira (mg.L <sup>-1</sup> )			
380	1920	528	306

### 2.3.2. Controle sanitário

Foram encontrados sete gêneros de fungos associados as sementes: *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Chaetomium*, *Curvularia* e *Colletotrichum*. No entanto, os gêneros *Curvularia* e *Colletotrichum* não foram submetidos a análise estatística devido terem ocorridos em uma única semente de uma repetição.

Houve efeito significativo dos fatores isolados para quase todos os gêneros fúngicos, com exceção do *Fusarium* e *Chaetomium* nos fatores subprodutos e

concentrações, respectivamente, contudo, ocorreu interação significativa entre os fatores (subprodutos x concentrações) para todos os gêneros (Tabela 2).

**Tabela 2.** Análise de variância (quadrados médios e teste F) para gêneros fúngicos encontrados em sementes de soja tratadas com subprodutos orgânicos (vinhaça-V, manipueira-M e V+M) em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%).

Fonte de variação	GL	Gêneros				
		<i>Aspergillus</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Chaetomium</i>
Subprodutos (S)	2	9,952**	11,202**	0,724 <sup>ns</sup>	0,874**	0,230**
Concentrações (C)	4	1,472**	0,643*	1,686*	0,572**	0,060 <sup>ns</sup>
S x C	8	1,582**	3,272**	1,377**	0,579**	0,060*
Resíduo	105	0,312	0,241	0,512	0,036	0,029
CV (%)		28,35	26,89	32,15	16,98	16,42

\*Significativo a 5%; \*\* Significativo a 1%; <sup>ns</sup> Não significativo; CV: coeficiente de variação; GL: Grau de liberdade. Obs: Estatística dos dados transformados utilizando a raiz quadrada de X+1.

Sobre o gênero *Aspergillus*, o uso da vinhaça isoladamente apresentou maior efeito, reduzindo significativamente a população em relação a manipueira isolada em todas as concentrações, exceto a de 0%, e nas concentrações de 75 e 100% foi superior aos demais tratamentos. A vinhaça igualou-se a sua junção com a manipueira (V+M) e nas concentrações de 25 e 50%. Com exceção da concentração de 0% em que não houve diferença, e das de 25 e 50% que se igualou a junção vinhaça+manipueira, a manipueira apresentou menor capacidade de supressão do gênero *Aspergillus* (Tabela 3).

**Tabela 3.** Desdobramento dos subprodutos orgânicos (Vinhaça-V, Manipueira-M e V+M) em cada nível de concentração para os gêneros *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Chaetomium*.

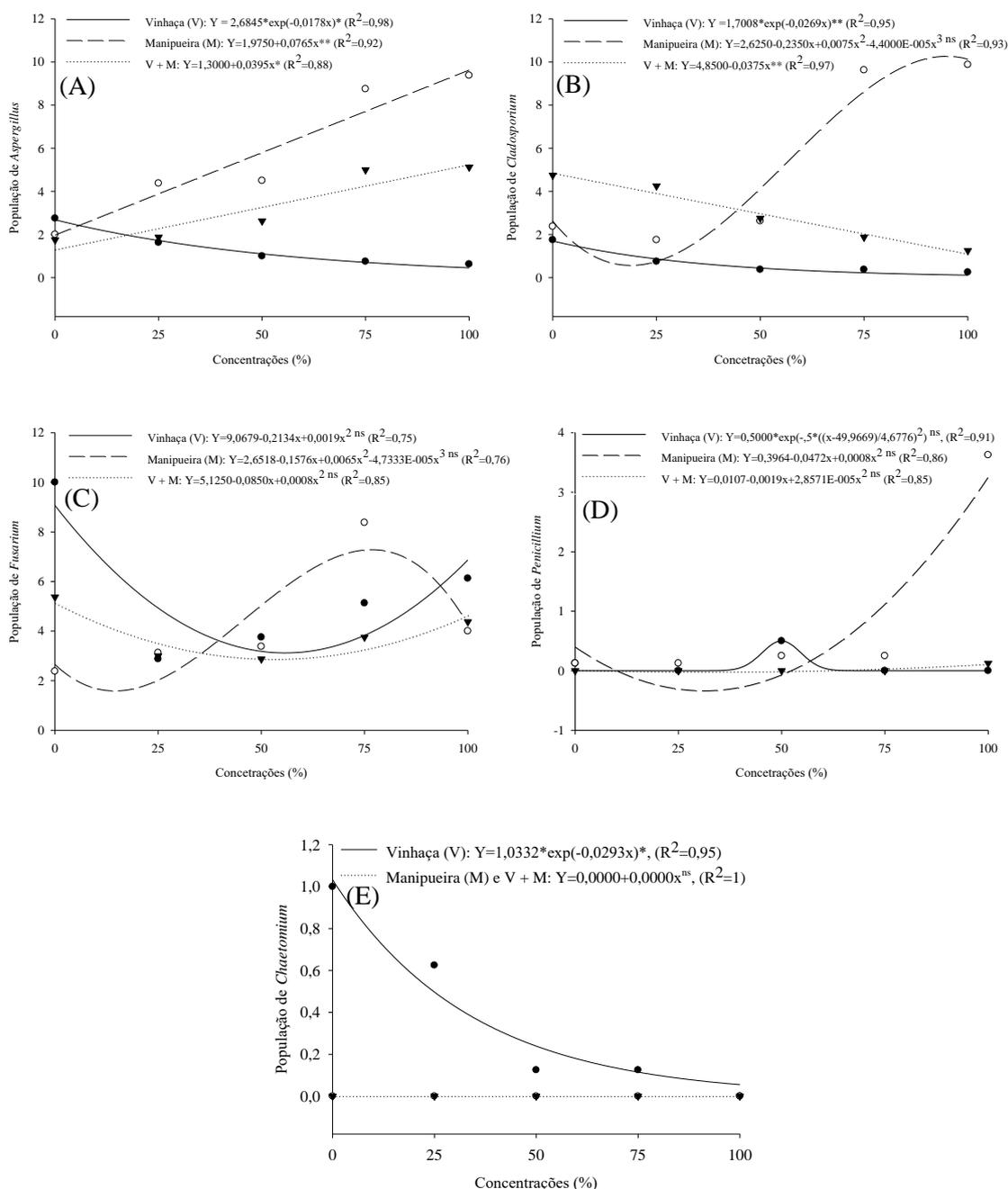
Tratamentos	Concentrações (%)				
	0	25	50	75	100
<i>Aspergillus</i>					
V	2,750 a	1,625 b	1,000 b	0,750 c	0,625 c
M	2,000 a	4,375 a	4,500 a	8,750 a	9,375 a
V+M	1,750 a	1,875 ab	2,625 ab	5,000 b	5,125 b
<i>Cladosporium</i>					
V	1,750 b	0,750 b	0,375 b	0,375 b	0,250 b
M	2,375 b	1,750 b	2,625 a	9,625 a	9,875 a
V+M	4,750 a	4,250 a	2,750 a	1,875 b	1,250 b
<i>Fusarium</i>					
V	10,000 a	2,875 a	3,750 a	5,125 ab	6,125 a
M	2,375 b	3,125 a	3,375 a	8,375 a	4,000 a
V+M	5,375 ab	3,000 a	2,875 a	3,750 b	4,375 a
<i>Penicillium</i>					
V	0,125 a	0,000 a	0,500 a	0,000 a	0,000 b
M	0,125 a	0,125 a	0,250 a	0,250 a	3,625 a
V+M	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,125 b
<i>Chaetomium</i>					
V	1,000 a	0,625 a	0,125 a	0,125 a	0,000 a
M	0,000 b	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a
V+M	0,000 b	0,000 a	0,000 a	0,000 a	0,000 a

Médias originais seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os subprodutos diferiram-se entre si em todas as concentrações sobre o gênero *Cladosporium*, tendo maior redução da população com o uso individual dos subprodutos (vinhaça e manipueira) na concentração de 25%, já na de 50%, houve maior supressão com a utilização da vinhaça, e nas concentrações de 75 e 100% a vinhaça e sua junção com a manipueira apresentaram maior capacidade de inibição que a manipueira (Tabela 3).

O efeito dos subprodutos sobre o gênero *Fusarium* só se diferiram nas concentrações de 0 e 75%, com maior redução da população com o uso da manipueira e sua junção com a vinhaça na concentração de 0%, e da vinhaça individualmente e em conjunto com a manipueira (V+M) na de 75% (Tabela 3). Enquanto que para o *Penicillium* somente na concentração de 100% houve diferença significativa, com maior redução da população fúngica com uso da vinhaça e de sua associação com a manipueira, e para o gênero *Chaetomium* houve diferença significativa somente na concentração de 0%, onde aconteceu incidência do patógeno somente na vinhaça (Tabela 3).

As concentrações apresentaram diferenças significativas dentro dos subprodutos para alguns dos gêneros fúngicos incluídos na análise. Houve diferença significativa entre as concentrações da manipueira e de sua junção com a vinhaça sobre o gênero *Aspergillus*, apresentando comportamento linear crescente, enquanto que a vinhaça ajustou-se ao modelo exponencial, com maior redução da população fúngica na concentração de 100% (Figura 1A), reduzindo aproximadamente 77,27% da população. Já para o gênero *Cladosporium*, ocorreu diferença significativa somente para a vinhaça e seu efeito conjunto com a manipueira, ajustando-se aos modelos exponencial e linear decrescente, respectivamente, sendo a concentração de 100% da vinhaça a de maior controle, reduzindo aproximadamente 85,71% da população (Fig. 1B).



**Figura 1.** Efeito de subprodutos orgânicos em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%) sobre gêneros fúngicos encontrados em sementes de soja. *Aspergillus* (A), *Cladosporium* (B), *Fusarium* (C), *Penicillium* (D) e *Chaetomium* (E). \*\*Significativo a 1%, \* Significativo a 5%, <sup>ns</sup> Não significativo.

Não houve diferença significativa entre as concentrações de nenhum dos subprodutos para os gêneros *Fusarium* e *Penicillium* (Fig. 1C e 1D), enquanto que para o gênero *Chaetomium*, a vinhaça ajustou-se ao modelo exponencial, controlando totalmente a população com uso da concentração de 100%, e nos demais subprodutos não

ocorreu incidência do patógeno em nenhuma das concentrações (Fig. 1E). Na maioria dos gêneros, a manipueira favoreceu o crescimento dos fungos.

### 2.3.2. Indução de fitoalexina gliceolina

Os fatores isolados (subprodutos e concentrações) influenciaram significativamente na produção da fitoalexina gliceolina, mas não interagiram significativamente entre si, entretanto, houve efeito significativo da interação dos fatores (S x C) com a testemunha adicional (Test. Ad.) (Tabela 4).

**Tabela 4.** Análise de variância (quadrados médios e teste F) para indução de fitoalexina gliceolina em sementes de soja tratadas com subprodutos orgânicos em diferentes concentrações.

Fonte de variação	GL	Fitoalexina Gliceolina
Subprodutos (S)	2	0,0242**
Concentrações (C)	3	0,0035*
S x C	6	0,0005 <sup>ns</sup>
Test. Ad x (S x C)	1	0,6856***
Tratamento	12	0,0054***
Resíduo	48	0,0011
CV (%)		3,05

\*Significativo a 5%; \*\* Significativo a 1%; \*\*\*Significativo a 0%; <sup>ns</sup> Não significativo; Test. Ad: Testemunha adicional; CV: Coeficiente de variação; GL: Grau de liberdade. Obs: Estatística dos dados transformados utilizando a raiz quadrada de X+1.

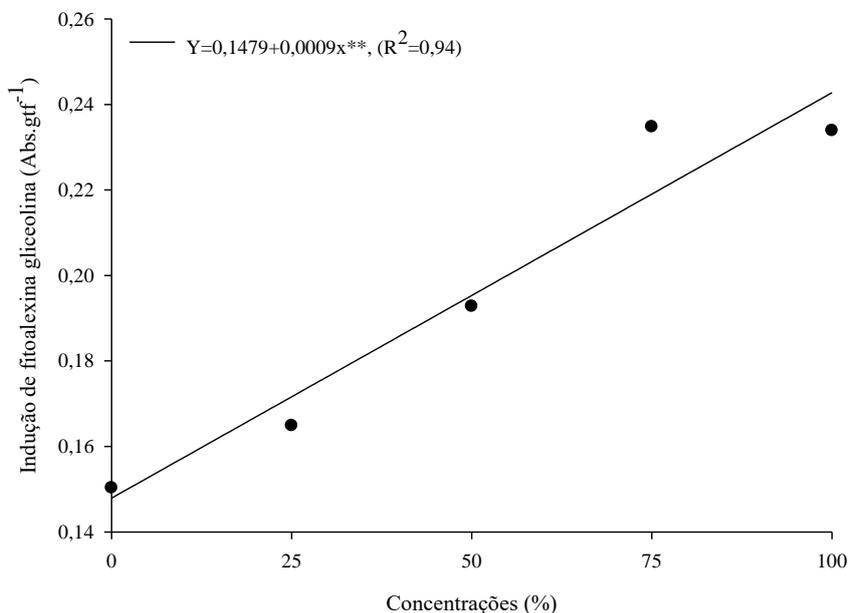
A vinhaça induziu significativamente maior produção de fitoalexina gliceolina, sendo a única a se diferir da testemunha (concentrações de 50, 75 e 100%) (Tabela 5).

**Tabela 5.** Efeito de subprodutos orgânicos em diferentes concentrações na indução de fitoalexina gliceolina (Abs.gtf<sup>-1</sup>) em condições de laboratório, Bom Jesus-PI.

Tratamento	Concentrações (%)				
	25	50	75	100	Média
Vinhaça (V)	0,2527	0,3021*	0,3131**	0,3089*	0,2942 a
Manipueira (M)	0,1251	0,1480	0,2403	0,2164	0,1824 b
V + M	0,1168	0,1383	0,1510	0,1766	0,1457 b
Média	0,16487	0,1928	0,2348	0,2339	-
Testemunha	0,1503				

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. \* e \*\* Médias que diferem estatisticamente da testemunha adicional pelo Teste de Dunnett ao nível de 1 e 0,1%, respectivamente, de probabilidade.

O estímulo na produção de fitoalexina nas diferentes concentrações ajustou-se ao modelo polinomial crescente, promovendo aumento de 55,62% na concentração máxima (100%) (Fig. 2).



**Figura 2.** Efeito de subprodutos (Vinhaça-V, manipueira-M e V+M) em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%) na indução de fitoalexina gliceolina em sementes de soja. \*\*Significativo a 1%; Abs.gtf<sup>-1</sup>: Absorbância/grama de tecido fresco.

### 2.3.3. Qualidade fisiológica das sementes

Para as variáveis da qualidade fisiológica analisadas (percentual de germinação, plântulas anormais e sementes mortas, e índice de velocidade e germinação) houve diferença significativa para os fatores isolados e interação entre estes apenas para o índice de velocidade e germinação (Tabela 6).

**Tabela 6.** Análise de variância (quadrados médios e teste F) para as variáveis fisiológicas percentagem de germinação (PG), percentagem de plântulas anormais (PPA), percentagem de sementes mortas (PSM) e índice de velocidade e germinação (IVG) em sementes de soja tratadas com subprodutos orgânicos em diferentes concentrações.

Fonte de variação	GL	PG	PPA	PSM	IVG
Subprodutos (S)	2	0,200 <sup>ns</sup>	0,267 <sup>ns</sup>	0,867 <sup>ns</sup>	16,504 <sup>**</sup>
Concentrações (C)	4	6,567 <sup>ns</sup>	3,433 <sup>ns</sup>	1,100 <sup>ns</sup>	15,741 <sup>**</sup>
S x C	8	5,367 <sup>ns</sup>	2,683 <sup>ns</sup>	1,450 <sup>ns</sup>	6,315 <sup>*</sup>
Resíduo	45	4,444	2,955	0,867	2,630
CV (%)		2,16	36,30	26,61	5,77

<sup>\*\*</sup>Significativo a 0,1%, <sup>ns</sup>Não significativo, CV: coeficiente de variação; GL: Grau de liberdade. Obs: Estatística dos dados transformados utilizando a raiz quadrada de X+1.

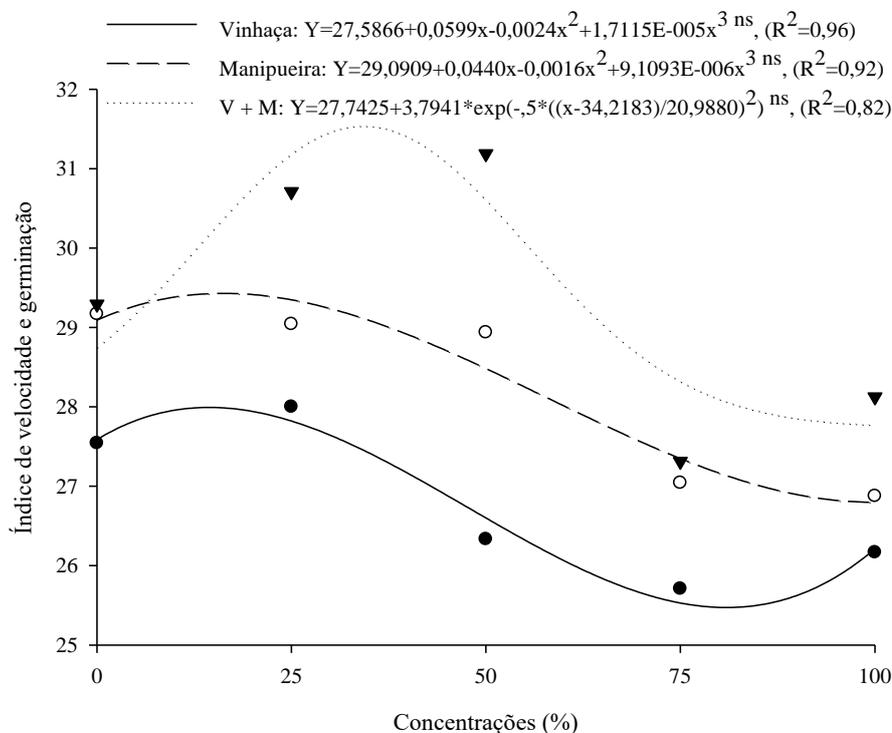
Avaliando os efeitos dos subprodutos dentro de cada concentração para o índice de velocidade e germinação, observa-se que houve diferença significativa somente na concentração de 50%, onde a efeito conjunto dos subprodutos aumentou-o significativamente não se diferindo da manipueira, enquanto que a vinhaça acabou reduziu-o (Tabela 7).

**Tabela 7.** Desdobramento dos subprodutos orgânicos em cada nível de concentração para o índice de velocidade e germinação.

Subproduto	Concentrações (%)				
	0	25	50	75	100
Vinhaça – V	27,542 a	28,000 a	26,333 b	25,708 a	26,167 a
Manipueira –M	29,167 a	29,042 a	28,937 ab	27,042 a	26,875 a
V+M	29,292 a	30,708 a	31,187 a	27,312 a	28,125 a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Já em relação ao efeito das concentrações dentro de cada tratamento, não houve diferença significativa para o índice de velocidade e germinação em nenhum dos subprodutos (Figura 3).



**Figura 3.** Efeito de subprodutos (Vinhaça-V, manipueira-M e V+M) em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%) sobre o índice de velocidade e germinação.  $^{ns}$ Não significativo.

## 2.4. Discussão

Os gêneros fúngicos encontrados nesse trabalho (*Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Chaetomium*) são comumente relatados como os principais agentes que acometem sementes de soja (GOULART, 2005).

A supressão desses gêneros fúngicos ocorreram em sua grande maioria com o uso da vinhaça (Tabela 3) em função do aumento das concentrações (Figura 1). Um dos fatores que explica este resultado é a relação positiva entre a produção de fitoalexina e as concentrações testadas (Fig.2). A fitoalexina gliceolina (pterocarpanóide) é uma importante molécula da soja na defesa contra fitopatógenos, pois ocasiona inibição da ativação de enzimas fúngicas, desorganização dos conteúdos celulares, granulação citoplasmática e ruptura da membrana plasmática (GOUVEA et al., 2011).

Quando submetidas a estresses químicos – no caso da vinhaça e manipueira -, físicos e biológicos, a plântula é induzida a produzir uma reação de defesa e metabólitos secundários como as fitoalexinas. Esse estresse pode ter sido promovido pela alta concentração de potássio da vinhaça (Tabela 1), que pode ter acarretado na ligação dos elicitores a receptores específicos da membrana celular vegetal, ocasionando mudanças metabólicas em seu interior, levando a produção de fitoalexina, no caso da soja a gliceolina (STANGARLIN et al., 2010; GOUVEA et al., 2011).

Por outro lado, embora a manipueira tenha apresentado maior concentração de potássio que a vinhaça, não induziu significativamente a produção de fitoalexina, o que pode estar relacionado com a presença de outros compostos, como a alta concentração de cálcio. O cálcio diminuí os efeitos da salinidade ocasionada pelo potássio que poderia promover esse estresse na semente. A relação potássio/cálcio da vinhaça foi de aproximadamente 4,71 e o da manipueira de 3,64. O cálcio pode ter apresentado efeito mitigador, reduzindo o estresse causado pela manipueira, conseqüentemente, reduzindo a produção de fitoalexina.

A aplicação de alguns produtos químicos pode suprimir ou minimizar o potencial das fitoalexinas, pois impede a via do ácido shiquímico - importante composto intermediário em vias bioquímicas de plantas, precursora para a produção da gliceolina -, deixando a planta vulnerável ao ataque de patógenos e a incidência de doenças (ALBRECHT e ÁVILA, 2010), o que reforça a busca por métodos de controles alternativos.

A toxidez da vinhaça deve-se a riqueza em matéria orgânica com elevada demanda biológica de oxigênio, pH ácido com conseqüente potencial de corrosividade (SANTOS et al., 2009; GIACHINI e FERRAZ, 2009; LAIME et al., 2011), podendo está relacionada também com a alta concentração de potássio (Tabela 1), que promove efeito salino (VENTUROSOSO et al., 2009).

O efeito conjunto da vinhaça com a manipueira reduziu significativamente a população de *Cladosporium* (Fig. 1B), embora não tenha promovido um aumento significativo na indução de fitoalexina (Tabela 5), podendo este resultado ser explicado por duas linhas de raciocínio. Primeira: devido características químicas dos subprodutos, a vinhaça já descrita anteriormente, e a manipueira é composta por glicosídeos cianogênicos, principalmente a linamarina, que quando hidrolisada, libera o gás cianeto,

que é tóxico a várias formas de vida (NASU et al., 2010), além da alta concentração de potássio, provavelmente, quando somado os efeitos, suprimiu parte da população de *Cladosporium*. Segunda: devido as características químicas somente da vinhaça, pois quando testada individualmente, a manipueira favoreceu o desenvolvimento do patógeno (Tabela 3 e fig. 1B).

Em alguns casos (gêneros *Cladosporium*, *Fusarium* e *Chaetomium*) houve diferença até mesmo na concentração de 0%, onde as sementes foram tratadas somente com ADA. Este resultado pode ser explicado pelo difícil controle dos fungos infestantes, apesar de ter sido feito a assepsia do local e das caixas gerbox, pois estão presentes no meio (GOULART, 2005). Com exceção do gênero *Chaetomium*, que não houve incidência, o aumento das concentrações da manipueira favoreceu o desenvolvimento fúngico (Figura 1). A manipueira em geral possui grandes quantidades de açúcares como sacarose, glucose e frutose, que favorece a fisiologia do fungo. Além disso, os fungos podem produzir enzimas como ligninases, lactase, lipases, proteases, celulases, que podem atuar sobre subprodutos orgânicos, como a manipueira, tornando-os suscetíveis à biodegradação (BUMPUS et al., 1985).

Essa capacidade dos fungos sintetizar enzimas e produzir proteínas extracelulares, ácidos orgânicos e outros metabólitos, vem despertando interesses de seu uso no tratamento biológico de componentes em águas residuárias com metais, compostos orgânicos e inorgânicos (COULIBALY et al., 2003). O gênero *Aspergillus* favorece a degradação da manipueira (NOVAES, 2011), remoção de corantes têxteis (ROBLES et al., 2000), o *Fusarium*, atua na biodegradação de fenol em efluentes (CAI et al., 2007), espécies de *Penicillium* são utilizadas em tratamento de efluentes com alto teor de gordura, pois produz lipase (LEAL, 2000), e espécies do gênero *Cladosporium* degradam ácido tânico, substratos fenólicos naturais, azocorantes, (PEROVANO FILHO, 2007).

Com ressalva do tratamento com vinhaça na concentração de 50% que reduziu o índice de velocidade de germinação, nenhum dos outros alteraram significativamente a qualidade fisiológica, apesar das altas concentrações de fósforo e potássio (Tabela 1), o que pode ser explicado supostamente devido ao curto tempo de exposição das sementes aos tratamentos (cinco minutos) e da relação potássio/cálcio.

O fósforo e o potássio nas concentrações ideais são benéficos a germinação. Nas sementes, o fósforo (P) participa de compostos armazenadores de energia (ATP-

Trifosfato de adenosina) que são utilizados na germinação, podendo ser encontrado na forma de ácido fítico e nucleico, fosfatídeos e compostos inorgânicos de fósforo. Nas leguminosas, como é o caso da soja, o ácido fítico representa 70% do conteúdo de P nas sementes. No decorrer da germinação, o ácido fítico pode ser parcialmente desfosforilado, sintetizando compostos como trifosfato, pentafofato e tetrafofato, disponibilizando P para o crescimento da plântula (AGOSTINI e IDA, 2006; RABOY, 2009).

De acordo com Veiga et al. (2010), a função do potássio (K) no processo germinativo está associada a quebra e translocação de amido (metabolismo energético), crescimento dos tecidos meristemáticos e a ativação de enzimas. Devido seu efeito salino, altas concentrações de K podem prejudicar a germinação das sementes e o desenvolvimento das plântulas, devendo-se ter cuidado com as concentrações e tempo de exposição das sementes aos subprodutos (VENTUROSO et al., 2009).

Outra explicação para os subprodutos não terem alterado a qualidade fisiológica das sementes é a alta concentração de cálcio (Tabela 1), pois é um micronutriente catiônico que exerce importante papel no equilíbrio iônico e diminuí os efeitos da salinidade que pode vir a afetar a germinação das sementes (OLIVEIRA et al., 2018).

## 2.5. Conclusões

A vinhaça nas concentrações de 75 e 100% foram os tratamentos mais eficazes na indução de fitoalexina gliceolina e na inibição do crescimento da população dos gêneros *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Chaetomium*, além de não alterar a qualidade fisiológica das sementes.

A aplicação da vinhaça é indicada como tratamento alternativo no controle sanitário de sementes de soja.

## 2.6. Referências Bibliográficas

AGOSTINI, J. S.; IDA, E. I. Caracterização parcial e utilização da fitase extraída de sementes germinadas de girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 6, p. 1041-1047, 2006.

ALBRECHT, L. P.; ÁVILA, M. R. Manejo de Glyphosate em Soja RR e a Qualidade das Sementes. **Informativo Abrates**, Londrina, v. 20, n. 1,2, p. 45-54, 2010.

ARAÚJO, E. D.; MELO, A. S.; ROCHA, M. S.; CARNEIRO, R. F.; ROCHA, M. M. Genotypic variation on the antioxidative response of cowpeacultivars exposed to osmotic stress. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 30, n. 4, p. 928-937, 2017.

BUMPUS J. A.; TIEN, M.; WRIGHT, D.; AUST, S. D. Oxidation of persistent environmental pollutants by white rot fungus. **Science**, Washington, v. 228, p. 1434-1436, 1985.

CAI, W.; LI, J.; ZHANG, Z. The characteristics and mechanisms of phenol biodegradation by *Fusarium* sp. **Journal of hazardous materials**, Amsterdam, v.148, n.1, p. 38-42, 2007.

CÂMARA, G. M. S. Introdução ao agronegócio soja. Departamento de Produção Vegetal - novembro, 2011.

COLUSSI, J.; WEISS, C. R.; SOUZA, Â. R. L.; OLIVEIRA, L. O agronegócio da soja: Uma análise da rentabilidade do cultivo da soja no Brasil. **Revista espacios**, Caracas, v. 37, n. 16, 2016.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento Safra Brasileira de Grãos, v. 5 - Safra 2017/18, n. 11 - Décimo Primeiro Levantamento, Brasília, ago. 2018.148p.

COULIBALY, L.; GOURENE, G.; AGATHOS, N. S. Utilization of fungi for biotreatment of raw wastewaters. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 2, n. 12, p. 620-630, 2003.

DEBONNE, E.; BOCKSTAELE, F. V.; LEYN, I.; DEVLIEGHERE, F.; EECKHOUT, M. Validation of in-vitro antifungal activity of thyme essential oil on *Aspergillus niger* and *Penicillium paneum* through application in par-baked wheat and sourdough bread. **LWT-Food Science and Technology**, Londres, v. 87, p. 368-378, 2017.

DORNELES, G. O.; SILVEIRA, R. G.; GUESSER, V. P. G.; RADMANN, E. B.; MISSIO, E. Desempenho de sementes de soja submetidas a tratamento com fungicida/inseticida e períodos de armazenamento. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 5, n. 3, p. 2303-2310, 2019.

ELY, A. Redução da qualidade de grãos de soja durante o armazenamento em diferentes condições de umidade e temperatura. **Thema**, Alegrete, v. 15, n. 2, p. 506-520, 2018.

FLÁVIO, N. S. D. S.; SALES, N. L. P.; AQUINO, C. F.; SOARES, E. P. S.; AQUINO, L. F. S.; CATÃO, H. C. R. M. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de sorgo tratadas com extratos aquosos e óleos essenciais. **Semina: Ciências agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, 2014.

FONSECA, W. L.; ALMEIDA, F. A.; OLIVEIRA, A. M.; LEITE, M. L. T.; PROCHNOW, J. T.; RAMOS, L. L. Toxicity of manipueira to *Meloidogyne incognita* in soybean. **Pesquisa agropecuária tropical**, Goiânia, v. 46, n. 4, p. 413-420, 2016.

GIACHINI, C. F.; FERRAZ, M. V. Benefícios da utilização de vinhaça em terras de plantio de cana-de-açúcar - revisão de literatura. **Revista científica eletrônica de agronomia**, Garça, v.3, p. 1-15, 2009.

GOULART, A. C. P. Fungos em sementes de soja: Detecção, importância e controle. 1ª ed. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2005. 72p.

GOUVEA, A.; ZANOTTI, J.; LUCKMANN, D.; PIZZATTO, M.; MAZARO, S. M.; POSSENTI, J. C. Efeito de extratos vegetais em soja sob condições de laboratório e campo. **Revista brasileira de agroecologia**, Rio de Janeiro, v.6, n.2, p. 70-78, 2011.

IAC. INSTITUTO AGRONÔMICO. Centro de pesquisa e desenvolvimento de solos e recursos ambientais.  
<http://www.iac.sp.gov.br/produtoseservicos/analisedosolo/interpretacaoanalise.php>.  
Acesso em: 15/02/2019, às 17:00 horas.

LAIME, E.M.O.; FERNANDES, P.D.; OLIVEIRA, D.C.S.; FREIRE, E.A. Possibilidades tecnológicas para a destinação da vinhaça: uma revisão. **Revista trópica – Ciências agrárias e biológicas**, Chapadinha, v. 5, n. 3, p. 16-29, 2011.

LEAL M. C. R. C. Utilização de enzimas hidrolíticas no tratamento de resíduos da indústria de laticínios. 2000. Dissertação (Mestrado em química) – Curso de Pós graduação em Engenharia Química da COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2000.

LEITE, M. L. T.; ALMEIDA, F. A.; FONSECA, W. L.; OLIVEIRA, A. M.; PROCHNOW, J. T., PEREIRA, F. F.; ALCÂNTARA, N. Effect of vinasse in the suppressiveness to *Pratylenchus brachyurus* in soybean. **Journal of Agricultural Science**, Toronto, v. 11, n. 1, p. 538-545, 2019.

LORENCETTI, G. A. T.; MAZARO, S. M.; POTRICH, M.; LOZANO, E. R.; BARBOSA, L. R.; LUCKMANN, D.; DALLACORT, S. Produtos alternativos para controle de *Thaumastocoris peregrinus* e indução de resistência em plantas. **Floresta e ambiente**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 4, p. 541-548, 2015.

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

MAZARO, S. M.; CITADIN, I.; GOUVÊA, A. de; LUCKMANN, D.; GUIMARÃES, S. S. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira. **Ciência rural**, Santa Maria, v.38, n.7, p. 1824 a 1829, 2008.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Projeções do agronegócio: Brasil 2016/17 a 2026/27 Projeções de Longo Prazo. 8º ed. Brasília: SPA/Mapa, 2017. 125p.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Regras para análise de sementes. 1ª ed. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.

NASU, E. G. C.; PIRES, E.; FERMENTINI, H. N.; FURLANETTO, C. Efeito de manipueira sobre *Meloidogyne incognita* em ensaios in vitro e em tomateiros em casa de vegetação. **Tropical plant pathology**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 32-36, 2010.

NOVAES, Thaís Adriana Colman. Fungos no tratamento de manipueira. 2011. 69 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologias ambientais) - Curso de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2011.

OLIVEIRA, C. S.; GOMES, I. S.; PACHECO, J. S.; RIBEIRO, D.; MATOS, F. S. Disponibilidade de cálcio e crescimento de mudas de eucalipto sob estresse salino. **Agrarian**, Dourados, v. 11, n. 42, p.299-306, 2018.

PEROVANO FILHO, N. Hidrolases e fenoloxidasas de microrganismos como marcadores para seleção de biosuplementadores e avaliação do tratamento sobre efluentes sucroalcooleiros. 2007. 24 f. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) - Curso de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, Instituto de Química e Biotecnologia, Maceió, 2007.

RABOY, V. Approaches and challenges to engineering seed phytate and total phosphorus. **Plant science**, Davis, v. 177, p. 281-296, 2009.

ROBLES A.; LUCAS, R.; CIENFUEGOS, G. A.; GALVEZ, A. Biomass production and detoxification of wastewaters from the olive oil industry by strains of *Penicillium* isolated from wastewater disposal ponds. **Bioresource technology**, Nova Iorque, v. 74, p. 217-221, 2000.

RODRIGUES, A. R.; ABREU, M. L.; OLIVEIRA, E. D. S. Cultivo da soja em sistemas de semeadura em linhas cruzadas e convencional. **Energia na agricultura**, Botucatu, v. 32, n. 1, p. 17-23, 2017.

SANTOS, T. M. C.; SANTOS, M. A. L.; SANTOS, C. G.; SANTOS, V. R. D.; PACHECO, D. D. S. Fertirrigação com vinhaça e seus efeitos sobre evolução e liberação de CO<sub>2</sub> no solo. **Revista caatinga**, Mossoró, v. 22, n.1, p.141-145, 2009.

SOUSA, D. M. G. de; REIN, T. A.; GOEDERT, W. J.; LOBATO, E.; NUNES, R. S. Fósforo. In: PROCHNOW, L. I.; CASARIN, V.; STIPP, S. R. (Ed.). Boas práticas para uso eficiente de fertilizantes: nutrientes. **International plant nutrition institute**, Piracicaba, v. 2, p. 67-132, 2010.

STANGARLIN, J. R.; SCHULZ, D. G.; FRANZENER, G.; ASSI, L.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; KUHN, O. J. Indução de fitoalexinas em soja e sorgo por preparações de *Saccharomyces boulardii*. **Arquivos do instituto biológico**, São Paulo, v. 77, n. 1, p. 91-98, 2010.

VEIGA, A. D.; VON PINHO, E. V. R.; VEIGA, A. D.; PEREIRA, P. H. A. R.; OLIVEIRA, K. C.; VON PINHO, R. G. Influência do potássio e da calagem na composição química, qualidade fisiológica e na atividade enzimática de sementes de soja. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 4, p. 953-960, 2010.

VENTUROSOS, L. R.; BERGAMIN, A. C.; VALADÃO JÚNIOR, D. D.; LIMA, W. A.; OLIVEIRA, W. B.; SCHLINDWEIN, L. A.; CARON, B. O.; SCHMIDT, D. Avaliação de duas cultivares de soja sob diferentes doses de potássio, no município de Rolim de Moura, RO. **Agrarian**, Dourados, v. 2, n. 4, p. 17-29, 2009.

### 3. CAPÍTULO II - QUALIDADE SANITÁRIA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA TRATADAS COM ÓLEOS ESSENCIAIS DOS HÍBRIDOS *Eucalyptus grandis* x *tereticornis* e *Eucalyptus grandis* x *urophylla*

#### Resumo

A manutenção e/ou aumento da produtividade da cultura da soja depende do uso de sementes de qualidade, porém, geralmente são infestadas por patógenos, onde além do controle químico comercial, tem-se buscado o controle alternativo. Assim, é considerável avaliar o efeito de óleos essenciais extraídos das folhas dos híbridos *Eucalyptus grandis* x *tereticornis* e *Eucalyptus grandis* x *urophylla* na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja. O estudo foi desenvolvido na Universidade Federal do Piauí, Campus Professora Cinobelina Elvas. O teste de sanidade foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com esquema fatorial 2x5, constituído de dois óleos essenciais extraídos das folhas dos híbridos *Eucalyptus grandis* x *tereticornis* (HEgt) e *Eucalyptus grandis* x *urophylla* (HEgu), com cinco doses (0; 0,5; 0,75; 1,0 e 2,0  $\mu\text{l.mL}^{-1}$ ), utilizando oito repetições/tratamento, e o da qualidade fisiológica (porcentagem de germinação, sementes mortas e plântulas anormais e índice de velocidade e germinação) em DIC, com esquema fatorial 2x4+1, constituído por dois óleos essenciais, descritos acima, em quatro doses (0,5; 0,75; 1,0 e 2,0  $\mu\text{l.mL}^{-1}$ ), mais uma testemunha adicional tratada somente com água destilada autoclavada, usando quatro repetições/tratamento. Ambos os óleos mostram-se eficientes no controle dos gêneros *Fusarium* e *Cladosporium* com melhores resultados nas doses de 1,0 e 2,0  $\mu\text{l.mL}^{-1}$ . Quando não igual, o óleo do HEgu foi superior ao do HEgt no controle sanitário, no entanto, o do HEgt foi melhor para todas as variáveis fisiológicas analisadas. Apesar da maior eficiência no controle sanitário o óleo do HEgu altera negativamente a qualidade fisiológica das sementes, enquanto que o do HEgt na dose de 2,0  $\mu\text{l.mL}^{-1}$  além da eficiência no controle fitossanitário não prejudica a qualidade fisiológica das sementes.

**Palavras chave:** Controle, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Penicillium* e *Glycine max*.

#### 3.1. Introdução

Nas últimas três décadas a soja (*Glycine max*) tornou-se um dos grãos mais produzidos e consumidos mundialmente, gerando emprego e renda para milhares de pessoas, tendo os Estados Unidos como maior produtor mundial, seguido pelo Brasil. Mediante à elevada demanda mundial por alimentos, a soja é tida como umas das principais fontes de proteína vegetal. O destaque do Brasil como um dos maiores produtores mundiais está relacionado com acesso a várias tecnologias de produção que permitem o aumento da produtividade (COLUSSI et al., 2016).

No entanto, além de maquinários e produtos para preparo do solo, controle de doenças e pragas na lavoura, é necessário que se tenha sementes de qualidade para semeadura, pois é fundamental para uma boa produção. Dentre os tratamentos realizados nas sementes antes da semeadura está o uso de fungicidas comerciais, visando reduzir a população de fungos fitopatogênicos presentes nas sementes e que podem reduzir e comprometer o estabelecimento da população de plantio no campo. O uso excessivo desses produtos tem promovido a manifestação de populações fúngicas resistentes, além de efeitos nocivos ao ambiente, pessoas e as próprias sementes e inibição da produção de compostos secundários, sendo necessário a busca de tratamentos alternativos eficientes que não apresentem efeitos insalubres e sejam de fácil acesso (GOULART, 2005; ROCHA et al., 2014; COPPO et al., 2017)

Assim, pode-se destacar os óleos essenciais, compostos químicos voláteis com baixo peso molecular, provenientes do metabolismo secundário das plantas (MAIA et al., 2015; SILVA et al., 2018), com atividades antifúngicas (BARBOSA et al., 2017). A maior ou menor atividade biológica dos óleos essenciais depende de seus constituintes químicos como limoneno, citral, carvacrol, cariofileno, elemeno, eugenol, cineol, furanodieno, dentre outros (SOUZA et al., 2005).

Entre as espécies de plantas produtoras de óleo essencial, tem-se as do gênero *Eucalyptus*, que em estudos mostram-se eficientes no controle fúngico (SILVA et al., 2018; SOUZA et al., 2018). A atividade antifúngica dos óleos essenciais também está associada a presença de compostos terpenóides e fenólicos, os quais possuem um caráter lipofílico que torna a membrana celular do fungo permeável, causando o vazamento de seu conteúdo (KNAAK e FIUZA, 2010). A composição dos óleos essenciais depende do genótipo vegetal, das condições edafoclimáticas onde as plantas se encontram, idade da planta, dentre outros fatores (MIRANDA et al., 2016).

Além da eficiência no controle fitossanitário, é necessário que os óleos essenciais mantenham ou melhorem a qualidade fisiológica das sementes, pois alguns estudos relatam a presença de compostos como os monoterpenos e terpenóides que em altas concentrações podem prejudicá-la (ROSADO et al., 2009; FLÁVIO et al., 2014). Assim, objetivou-se avaliar a eficiência de óleos essenciais extraídos das folhas dos híbridos *Eucalyptus grandis* x *tereticornis* e *Eucalyptus grandis* x *urophylla* na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja.

## 3.2. Metodologia

### 3.2.1. Local, período de desenvolvimento da pesquisa e obtenção dos óleos essenciais

O estudo foi desenvolvido no laboratório de Fitotecnia da Universidade Federal do Piauí, Campus Professora Cinobelina Elvas (UFPI/CPCE) (09°04'28"S e 44°21'31"W), no período de dezembro de 2018 a janeiro de 2019. Os óleos essenciais foram fornecidos pelo laboratório de Química orgânica da UFPI/CPCE, extraídos das folhas dos híbridos *Eucalyptus grandis* x *tereticornis* (HEgt) e *Eucalyptus grandis* x *urophylla* (HEgu) localizados na Fazenda Experimental Alvorada do Gurguéia, pertencente à UFPI/CPCE, situada no município de Alvorada do Gurguéia (08°25'26"S 43°46'37"W).

O óleo do híbrido HEgt foi extraído às 9:00 horas e o do HEgu às 15:00 horas. As análises cromatográficas dos óleos foram realizadas no Instituto de Ciências Ambientais e Desenvolvimento Sustentável da Universidade Federal do Oeste da Bahia, Barreiras-BA.

### 3.2.2. Teste de sanidade

Desenvolvido em condições de laboratório, com temperatura média de 25°C e umidade relativa  $\pm 60\%$ , em delineamento inteiramente casualizado, esquema fatorial 2x5, constituído de dois óleos essenciais extraídos das folhas dos híbridos HEgt e HEgu, com cinco doses (0; 0,5; 0,75; 1,0 e 2,0  $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), totalizando 10 tratamentos, com oito repetições de 25 sementes cada, perfazendo um número de 200 sementes por tratamento de acordo com o manual de Regras para Análise de Sementes (MAPA, 2009). Foram utilizadas sementes da cultivar FTR 4179 IPRO.

Para maior efetividade dos óleos, estes foram dissolvidos em acetona (2mL de acetona/ $\mu\text{L}$  de óleo). Em béqueres de 100 mL foi colocado um volume de 40mL de cada tratamento e em seguida emergidas as sementes durante cinco minutos. Após tratadas, as sementes foram acondicionadas em caixas gerbox previamente esterilizadas com álcool 70 contendo três folhas de papéis germitest autoclavadas e umedecidas com água destilada autoclavada (ADA), funcionando cada gerbox como uma repetição. O volume em mililitros de ADA utilizado para umedecer os papéis foi obtido multiplicando

sua massa por 2,5. Em seguida, as caixas gerbox foram transferidas para BOD, onde permaneceram por sete dias a 20 °C. Após esse período, foi avaliada a sanidade das sementes. Os fungos foram identificados a nível de gênero, com base nas características morfológicas observadas em microscópio óptico e chave de identificação.

### ***3.2.3. Qualidade fisiológica das sementes***

Os testes foram instalados com quatro repetições de 50 sementes por tratamento, em rolos de papel germitest umedecidos com ADA (RAS, 2009), na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco, acondicionados em BOD à temperatura de 25°C, em DIC, esquema fatorial 2 x 4 + 1, constituído por 2 óleos essenciais, descritos anteriormente, com 4 doses (0,5; 0,75; 1,0 e 2,0  $\mu\text{l.mL}^{-1}$ ), mais uma testemunha adicional tratada somente com ADA. Após oito dias foram feitas as seguintes avaliações:

-Porcentagem de germinação (PG): calculada pela fórmula  $PG = (N/A) \times 100$ , em que N= número de sementes germinadas ao final do teste; A=número de sementes colocadas para germinar.

-Porcentagem de plântulas anormais(PPA):  $PPA = (P/A) \times 100$ , em que: P= número de plântulas anormais, A=número de sementes colocadas para germinar.

-Porcentagem de sementes mortas (PSM):  $PSM = (M/A) \times 100$ , em que M= número de sementes mortas; A=número de sementes colocadas para germinar.

Diariamente e no mesmo horário foram realizadas contagens, contabilizando o número de sementes germinadas, com comprimento de radícula  $\geq 2\text{mm}$ , para cálculo do Índice de velocidade e germinação (IVG), conforme a fórmula:  $IVG = \sum (n_i/t_i)$ , em que:  $n_i$  = número de sementes que germinaram no tempo “i”,  $t_i$  = tempo após instalação do teste;  $i=1 \rightarrow 8$  dias de acordo com Maguire (1962).

### ***3.2.4. Análise estatística***

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk utilizando o programa estatístico R e em seguida a Anova. Quando significativo, as médias do fator qualitativo (óleos essenciais) foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e as do fator quantitativo (doses) submetidas à análise de regressão utilizando o software Sigma Plot versão 10.0.

### 3.3. Resultados

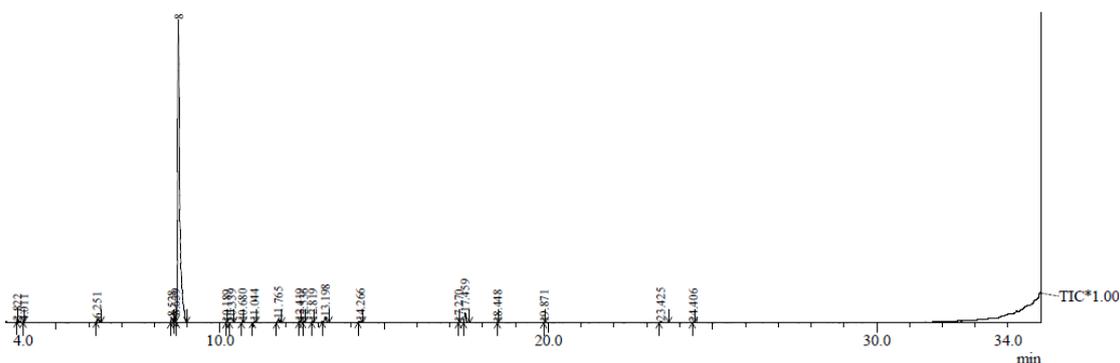
#### 3.3.1. Análise cromatográfica dos óleos essenciais

No óleo essencial do *HEgu* foram identificados 97,15% dos constituintes, pertencentes as classes dos monoterpenos ( $\alpha$ -pineno, limoneno, 1,8-Cineol) e terpenóides (p-cymeno [cymol],  $\alpha$ -terpineol,  $\alpha$ -acetato de terpinyl) (Tabela 1), com destaque para o monoterpeno 1,8-Cineol (Figura 1), que representa 90,47% da composição química do óleo (Tabela 1).

**Tabela 1.** Composição química do óleo essencial do híbrido de *E. grandis x urophylla*

Constituintes	TR	IK	IK calculado	Teor (%)
$\alpha$ -pineno	6,22	939		1,03
p-cymeno (cymol)	8,528	1024	1023	1,25
Limoneno	8,639	1029		0,82
1,8-Cineol	8,727	1031		90,47
$\alpha$ -terpineol	13,198	1188		1,39
$\alpha$ -acetato de terpinyl	17,459	1349		2,19
Porcentagem total de constituintes identificados				97,15%
Monoterpenos				3
Terpenóides				3
Sesquiterpetos				0
Total de constituintes identificados				6

TR: Tempo de retenção; IK: Índice de Kovat's; IK calculado: Índice de Kovat's calculado ( $y = 713,89428 + 36,25405x$ , em que:  $x$ =tempo de retenção e  $y$ =IK calculado);  $R = 0,99987$ .



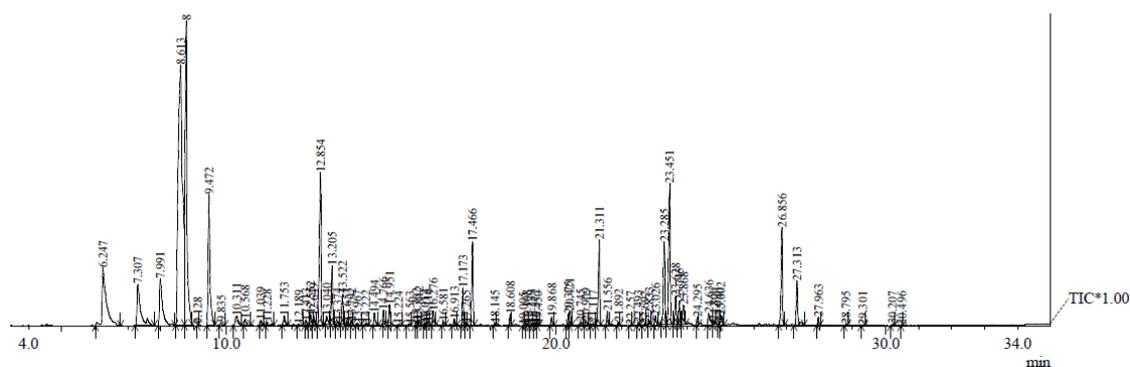
**Figura 1.** Perfil cromatográfico do óleo essencial extraído de folhas do híbrido de *E. grandis x urophylla*.

No óleo do *HEgt* foram identificados 75,37% dos constituintes, dos quais seis pertencem a classe dos monoterpenos ( $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pipeno,  $\alpha$ -phellandreno, 1,8-cineol, terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpineol), quatro a dos terpenóides ( $\gamma$ -terpineol,  $\alpha$ -acetato de terpinyl, spathulenol, p-cymeno [cymol]) e dois a dos sesquiterpenos (bicicloelemeno, biclogermacreno) (Tabela 2), com destaque para o terpenóide p-cymeno (cymol) representando 25,94% da composição (Figura 2 e Tabela 2).

**Tabela 2.** Composição química do óleo essencial do híbrido de *E. grandis x tereticornis*

Constituintes	TR	IK	IK calculado	Teor (%)
$\alpha$ -pineno	6,22	939		5,66
$\beta$ -pipeno	7,307	979		3,33
$\alpha$ -phellandreno	7,92	1002	998	3,34
p-cymeno (cymol)	8,613	1024	1023	25,94
1,8-Cineol	8,784	1031		14,2
$\gamma$ -terpineol	9,472	1059		5,74
Terpinen-4-ol	12,854	1177		6,03
$\alpha$ -terpineol	13,205	1188		1,82
Bicicloelemeno	17,173	≈1338	1343	1,06
$\alpha$ -acetato de terpinyl	17,466	1349		2,46
Biclogermacreno	21,311	1500		2,86
Spathulenol	23,285	1578		2,93
Porcentagem total de constituintes identificados				75,37%
Monoterpenos				6
Terpenóides				4
Sesquiterpenos				2
Total de constituintes identificados				12

TR: Tempo de retenção; IK: Índice de Kovat's; IK calculado: Índice de Kovat's calculado ( $y=701,80477 + 37,33611x$ , em que  $x$ =tempo de retenção e  $y$ =IK calculado),  $R = 0,99966$ .



**Figura 2.** Perfil cromatográfico do óleo essencial extraído de folhas do híbrido de *E. grandis x tereticornis*.

### 3.3.2. Controle sanitário

Foram identificados quatro gêneros fúngicos associados as sementes de soja: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Cladosporium* e *Penicillium*. Houve efeito dos fatores isolados (óleos essenciais e doses) e interação entre estes (óleos essenciais x doses) para os gêneros *Aspergillus* e *Fusarium*, enquanto que para o gênero *Cladosporium* sucedeu-se efeito somente do fator isolado doses, e para o *Penicillium* não houve efeito significativo dos fatores isolados e nem da interação entre estes (Tabela 3).

**Tabela 3.** Análise de variância (quadrados médios e teste F) para gêneros fúngicos encontrados em sementes de soja tratadas com óleos essenciais em diferentes doses.

Fonte de variação	GL	Gêneros			
		<i>Aspergillus</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Penicillium</i>
Óleos essenciais (OE)	1	189,1125**	357,0125**	0,0500 <sup>ns</sup>	0,1125 <sup>ns</sup>
Doses (D)	4	47,91875**	152,45625**	3,78125**	0,0625 <sup>ns</sup>
OE x D	4	40,08125**	60,29375**	0,08125 <sup>ns</sup>	0,05 <sup>ns</sup>
Resíduo	70	5,5482	6,1839	0,3321	0,0589
CV(%)		28,13	22,06	18,23	9,80

\*\* Significativo a 1%; <sup>ns</sup> Não significativo; CV: coeficiente de variação; GL: Grau de liberdade. Obs: Estatística dos dados transformados utilizando a raiz quadrada de X+1.

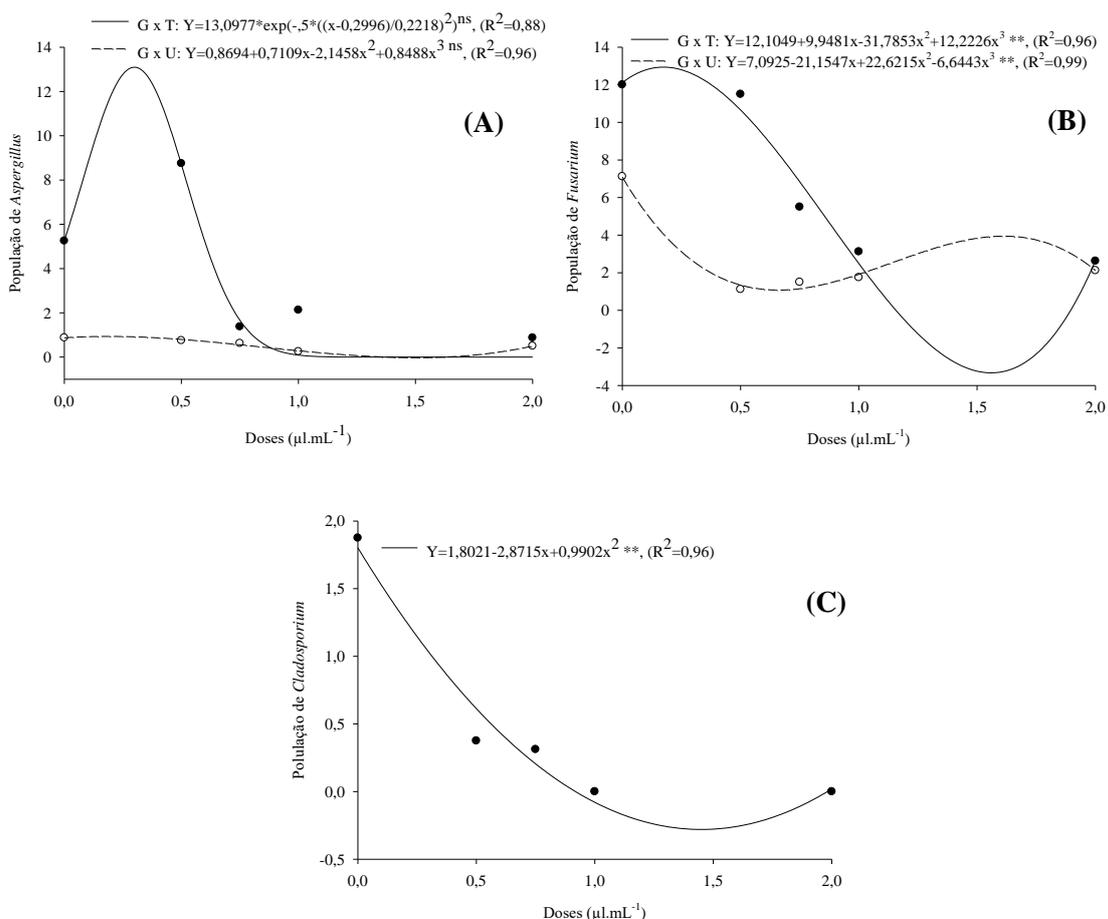
No controle do gênero *Aspergillus* o óleo do *HEgu* se mostrou mais eficiente que o do *HEgt* nas doses 0; 0,5 e 1,0  $\mu\text{l.mL}^{-1}$ , e não se diferiram nas de 0,75 e 2,0  $\mu\text{l.mL}^{-1}$ . Este resultado se repetiu sobre o *Fusarium*, no entanto, a superioridade no controle ocorreu nas doses 0; 0,5 e 0,75  $\mu\text{l.mL}^{-1}$ , e apresentaram mesmo efeito nas de 1,0 e 2,0  $\mu\text{l.mL}^{-1}$  (Tabela 4).

**Tabela 4.** Desdobramento dos óleos essenciais dos híbridos *E. grandis* x *tereticornis* (G x T) e *E. grandis* x *urophylla* (G x U) em cada nível de dose para os gêneros *Aspergillus* e *Fusarium*.

Óleos	Doses ( $\mu\text{l.mL}^{-1}$ )				
	0	0,5	0,75	1,0	2,0
<i>Aspergillus</i>					
GxT	5,25 a	8,75 a	1,37 a	2,12 a	0,87 a
GxU	0,87 b	0,75 b	0,62 a	0,25 b	0,50 a
<i>Fusarium</i>					
GxT	12,00 a	11,50 a	5,50 a	3,12 a	2,62 a
GxU	7,12 b	1,12 b	1,50 b	1,75 a	2,12 a

Médias originais seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

No entanto, não houve diferença significativa entre as doses testadas em nenhum dos óleos sobre o gênero *Aspergillus* (Figura 3A), enquanto que para o *Fusarium* o aumento das doses do óleo do *HEgt* favoreceu a redução, minimizando aproximadamente 78,17% da população com a dose máxima ( $2,0 \mu\text{l.mL}^{-1}$ ). Para o óleo do *HEgu* a melhor resposta foi obtida na dose de  $0,5 \mu\text{l.mL}^{-1}$ , que reduziu aproximadamente 84,27% da população (Fig. 3B).



**Figura 3.** Efeito de óleos essenciais de híbridos de *E. Grandis x tereticornis* (G x T) e *Grandis x urophilla* (G x U) em diferentes doses sobre gêneros fúngicos encontrados em sementes de soja. *Aspergillus* (A), *Fusarium* (B) e *Cladosporium* (C). \*\*Significativo a 1%, <sup>ns</sup> Não significativo.

Sobre o gênero *Cladosporium* houve diferença significativa somente entre as doses, ajustando-se ao modelo polinomial quadrático, reduzindo completamente a população nas doses de 1,0 e 2,0  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  (Fig. 3C).

### 3.3.3. Qualidade fisiológica das sementes

O comportamento dos fatores isolados, a interação entre estes e com a testemunha adicional foi o mesmo para todas as variáveis fisiológicas analisadas (porcentagem de germinação, plântulas anormais e sementes mortas e índice de velocidade e germinação), havendo diferença significativa somente do fator isolado óleos essenciais e da interação dos fatores com a testemunha adicional (Tabela 5).

**Tabela 5.** Análise de variância (quadrados médios e teste F) para as variáveis fisiológicas porcentagem de germinação (PG), porcentagem de plântulas anormais (PPA), porcentagem de sementes mortas (PSM) e índice de velocidade e germinação (IVG) em sementes de soja tratadas com óleos essenciais em diferentes doses.

Fonte de variação	GL	PG	PPA	PSM	IVG
Óleos essenciais (OE)	1	864,61**	43,82**	74,40**	778,81**
Doses (D)	3	178,79 <sup>ns</sup>	2,74 <sup>ns</sup>	0,11 <sup>ns</sup>	4,71 <sup>ns</sup>
OE x D	3	227,46 <sup>ns</sup>	2,38 <sup>ns</sup>	0,41 <sup>ns</sup>	4,32 <sup>ns</sup>
Test. Ad x (OE x D)	1	92,5***	0,85***	12,17***	66,01***
Tratamento	8	1.292,50	7,40	10,46	130,99
Resíduo	24	155,54	1,01	0,59	4,50
CV (%)		15,50	35,20	27,10	8,57

\*\*\*Significativo a 0%, \*\*Significativo a 0,1%, <sup>ns</sup>Não significativo, CV: coeficiente de variação; GL: Grau de liberdade, Test. Ad: Testemunha adicional. Obs: Estatística dos dados transformados utilizando a raiz quadrada de X+1.

Apesar da maior eficiência do óleo do *HEgu* na sanidade, o do *HEgt* foi superior para todas as variáveis da qualidade fisiológica avaliadas (Tabela 6). O óleo do *HEgu* nas doses 0,5; 0,75; e 1,0  $\mu\text{l.mL}^{-1}$  afetou negativamente a germinação, e na dose de 0,5  $\mu\text{l.mL}^{-1}$  promoveu aumento significativo no número de plântulas anormais comparado a testemunha (Tabela 6). Nestas duas últimas variáveis mencionadas, em nenhuma das doses testadas o óleo do *HEgt* alterou significativamente quando comparado a testemunha.

**Tabela 6.** Efeito dos óleos essenciais e da interação testemunha adicional x (óleos essenciais x doses) para as variáveis fisiológicas porcentagem de germinação (PG), porcentagem de plântulas anormais (PPA), porcentagem de sementes mortas (PSM) e índice de velocidade e germinação (IVG) em sementes de soja.

Óleos	Doses ( $\mu\text{L.mL}^{-1}$ )				Média
	0,5	0,75	1,0	2,0	
PG (%)					
G x T	97,00	97,00	98,00	95,50	96,87 a
G x U	52,00***	63,00**	64,50**	76,50	64,00 b
Testemunha	92,00				
PPA (%)					
G x T	3,00	2,00	1,50	2,50	2,25 b
G x U	27,50**	18,50	17,00	6,00	17,25 a
Testemunha	7,00				
PSM (%)					
G x T	0,00	1,00	0,50	2,00	0,87 b
G x U	20,50***	18,50***	18,50***	17,50***	18,75 a
Testemunha	1,00				
IVG					
G x T	31,17	28,52**	29,33*	29,71	29,68 a
G x U	19,25***	19,04***	19,67***	21,29***	19,81 b
Testemunha	33,00				

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. \*, \*\* e \*\*\* Médias que diferem estatisticamente da testemunha adicional pelo Teste de Dunnett ao nível de 5, 1 e 0%, respectivamente, de probabilidade; G x T: híbrido *E. grandis* x *tereticornis*; G x U: híbrido *E. grandis* x *urophylla*.

O óleo do *HEgu* em todas as doses testadas promoveu aumento e redução significativa no percentual de sementes mortas (PSM) e índice de velocidade e emergência (IVG), respectivamente, comparado a testemunha, enquanto que o do *HEgt* não influenciou significativamente no PSM em nenhuma das doses, porém, nas doses de 0,75 e 1,0  $\mu\text{L.mL}^{-1}$  reduziu significativamente o IVG comparado a testemunha (Tabela 6).

### 3.4. Discussão

Os óleos essenciais têm sido utilizados, dentre outras aplicações, no controle de microorganismos, devido suas características químicas, que de certa forma representa uma extensão da atividade que exercem nas plantas, protegendo-as contra o ataque de patógenos como os fungos fitopatogênicos (BAKKALI et al., 2008; CARDOSO et al., 2019). A composição química e o teor de cada constituinte em comum entre os óleos podem variar de acordo com genótipo da planta, área de cultivo, condições de coleta, estocagem e também conforme as condições edafoclimáticas (MIRANDA et al., 2016).

As propriedades antifúngicas dos óleos essenciais estão associadas a sua composição, pois são constituídos pelas classes dos monoterpenos, terpenóides benzenos, hemiterpenos, sesquiterpenos, que lhes conferem atividade fungicida (MIKOLA et al., 2017; JAIME e FERRER, 2018). Geralmente, a ação supressória dos óleos essenciais sobre o patógeno ocorre devido ocasionar a ruptura da membrana plasmática, granulação do citoplasma e a inibição e/ou produção de enzimas inter e extracelulares (SOUZA et al., 2005). Essas ações podem se dar de forma individual ou concomitante e resulta na inibição da germinação do micélio (COWAN, 1999).

De acordo com autores supracitados, o potencial inibitório dos óleos essenciais depende de seus constituintes químicos como limoneno, citral, carvacrol, cariofileno, elemeno, eugenol, 1,8-cineol, furanodieno, dentre outros. Os monoterpenos limoneno e 1,8-cineol estão presentes no óleo do *HEgu*, enquanto que somente o 1,8-cineol está presente no óleo do *HEgt*, explicando a maior eficiência no controle fúngico do óleo do *HEgu*.

Os constituintes majoritários dos óleos essenciais das espécies do gênero *Eucalyptus* variam de acordo com a espécie, sendo a classe dos monoterpenos (1,8-cineol, Citronelal,  $\gamma$ -Terpineno, Cineol e  $\alpha$ -pineno) os mais comuns (SILVA et al., 2006), e em ambos os óleos, foram encontrados os constituintes 1,8-cineol e  $\alpha$ -pineno.

As características apolares dos componentes químicos dos óleos essenciais lhes conferem efeito fungitóxico. Devido à natureza apolar, essas substâncias podem interagir com a membrana celular dos fungos ocasionando seu inchaço e conseqüentemente resultar no vazamento de materiais celulares promovendo sua morte. Os constituintes químicos também podem atravessar a membrana celular do patógeno atrasando a síntese do ergosterol, hormônio responsável pela vitalidade celular dos

fungos, provocando a morte celular (GOULART et al., 2015). A classe dos terpenóides e sesquiterpenos apresentam caráter lipofílico e torna a membrana celular do fungo permeável, provocando o vazamento de seu conteúdo (KNAAK e FIUZA, 2010).

Os melhores resultados nas doses mais altas (1,0 e 2,0  $\mu\text{l.mL}^{-1}$ ) podem ser explicados pela volatilização das substâncias presentes nos óleos. Quando utilizados em concentrações mais baixas pode ocorrer a volatilização rápida de seus constituintes químicos, impedindo a sinergia dos elementos-traços (presentes em menores concentrações) com os majoritários (COWAN, 1999; FERREIRA, 2018).

Os óleos essenciais de plantas aromáticas em sua maioria são constituídos de terpenos, que possuem funções como inibidores da germinação, proteção contra predadores, entre outras (AIZZO, 2013). Além dos terpenos, são comuns os monoterpenos que alguns de seus constituintes podem se tornar tóxicos em altas concentrações (OLIVEIRA et al., 2011; FLÁVIO et al., 2014).

Os monoterpenos são componentes majoritários dos óleos essenciais de um grande número de espécies e têm sido relatados como aleloquímicos eficazes pelo efeito tóxico sobre a germinação de sementes (SOUZA FILHO et al., 2009), o que explica os efeitos negativos do óleo do *HEgu* sobre a germinação, pois 92,32% dos constituintes encontrado neste óleo pertence a essa classe (Tabela 1), enquanto que do *HEgt* representa somente 34,38% (Tabela 2), o que não prejudicou a qualidade fisiológica.

O monoterpeno 1,8-cineol, que representa 90,47% dos constituintes do óleo do *HEgu* e 14,2% do *HEgt*, afeta negativamente a germinação por diminuir tanto o índice mitótico quanto o alongamento das células, além disso, inibe a síntese de amido, promove estresse oxidativo, oxidação lipídica e afeta a respiração das mitocôndrias (QIU et al., 2010; YOSHIMURA et al., 2011).

O efeito alelopático dos óleos essenciais muitas vezes pode não acontecer sobre a germinação, porém, pode-se dar sobre o índice de velocidade de germinação (FERREIRA e BORGHETTI, 2002; ROSADO et al., 2009), corroborando com o resultado observado com o uso do óleo do híbrido *HEgt* na dose de 0,75 e 1,0  $\mu\text{l.mL}^{-1}$  (Tabela 6).

A diferença entre os óleos até mesmo na dose zero para os gêneros *Aspergillus* e *Fusarium* pode ter ocorrido devido o difícil controle dos fungos infestantes (GOULART, 2005), apesar de ter sido feito a assepsia do local e das gerbox.

### 3.5. Conclusões

Apesar de maior eficiência no controle fitossanitário em sementes de soja, o óleo do híbrido *E. grandis* x *urophylla* afeta negativamente a qualidade fisiológica das sementes.

O óleo essencial do híbrido *E. grandis* x *tereticornis* na dose de 2,0  $\mu\text{l.mL}^{-1}$  além de eficiente no controle fitossanitário mantém elevada a qualidade fisiológica das sementes, podendo ser utilizado como tratamento alternativo em sementes de soja.

### 3.6. Referências bibliográficas

AIZZO, J.R.S. Variabilidade Química do Óleo Essencial da *Piper obliquum* Ruiz & Pav. da Estação Ecológica Cuniã, Porto Velho-RO. 2013. 69 f. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, 2013.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils. **Food and chemical toxicology**, Oxford, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.

BARBOSA, C. S.; PEREIRA, R. F.; FORTUNA, J. L. Atividade antifúngica do óleo essencial de erva-cidreira *Lippia alba* (Mill.) NE Brown (Verbenaceae) sobre *Candida albicans*. **Revista biociências**, Taubaté, v. 23, n. 1, p. 53-60, 2017.

CARDOSO, R. C.; ALCÂNTARA, A. L.; SOUZA, F. M.; ESPINHEIRA, M. J. C. L. Potencial Antimicrobiano do Óleo da Folha de *Eucalyptus urograndis* Frente *Stafilococcus aureus*. **Id on Line revista multidisciplinar e de psicologia**, Jabotão dos Guararapes, v. 13, n. 43, p. 989-1002, 2019.

COLUSSI, J.; WEISS, C. R.; SOUZA, Â. R. L.; OLIVEIRA, L. O agronegócio da soja: Uma análise da rentabilidade do cultivo da soja no Brasil. **Revista espacios**, Caracas, v. 37, n. 16, 2016.

COPPO, J. C.; STANGARLIN, J. R.; MIORANZA, T. M.; COLTRO-RONCATO, S.; KUHN, O. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Sanidade e germinação de sementes de soja tratadas com extratos de plantas e de fungo. **Revista de ciências agroambientais**, Alta Floresta, v. 15, n. 2, p. 92-99, 2017.

COWAN, M. M. Plants products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Review*, 12, 564-582, 1999.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Editora Artmed, 2002. 324 p.

FERREIRA, P. L. F. Desenvolvimento de metodologia otimizada para análise de elementos maiores, menores e traços presentes em formações ferríferas utilizando LA-

ICP-MS. 2018. 98f. Monografia (Graduação em Engenharia Geológica) - Escola de Minas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2018.

FLÁVIO, N. S. D. S.; SALES, N. L. P.; AQUINO, C. F.; SOARES, E. P. S.; AQUINO, L. F. S.; CATÃO, H. C. R. M. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de sorgo tratadas com extratos aquosos e óleos essenciais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, 2014.

GOULART, A. C. P.; ROESE, A. D.; MELO, C. L. P. Integração do tratamento de sementes com pulverização de fungicidas para controle da ferrugem-asiática-da-soja. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 31, n. 3, p. 737-747, 2015.

JAIME, M. D. I.; FERRER, M. A. B. Post-emergent herbicidal activity of *Eucalyptus globulus* Labill. essential oil. **Nereis: revista iberoamericana interdisciplinar de métodos, modelización y simulación**, Valência, n. 10, p. 25-36, 2018.

JHAM, G. N.; DHINGRA, O. D.; JARDIM, C. M.; VALENTE, V. M. Identification of the major fungitoxic component of cinnamon bark oil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 4, p. 404-408, 2005.

KNAAK, N.; FIUZA, L.M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical biology and conservation**, São Leopoldo, v. 5, p. 120-132, 2010.

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

MAIA, T.F.; DONATO, A.; FRAGA, M.E. Atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas. **Revista brasileira de produtos agroindustriais**, Campina Grande, v.17, n.1, p.105-116, 2015.

MIKOLA, T. V. Z.; POTENZA, M. R.; REIS, F. C.; SILVA, V. C. D.; SATO, M. E.; SAKITA, M. N. Evaluation of essential oils of *Eucalyptus* spp. for the control of the subterranean termite *Coptotermes gestroi* (WASMAN). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 41, n. 2, p. 1-8, 2017.

MIRANDA, C. A. S. F.; CARDOSO, M. G.; BATISTA, L. R.; RODRIGUES, L. M. A.; FIGUEIREDO, A. C. S. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 47, n. 1, p. 213-220, 2016.

OLIVEIRA, J. A.; SILVA, T. T. A.; VON PINHO, E. V. R.; ABREU, L. A. S. Secagem e armazenamento de sementes de sorgo com alto e baixo teor de tanino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 4 p. 699-710, 2011.

QIU, X.; YU, S.; WANG, Y.; FANG, B.; CAI, C.; LIU, S. Identification and allelopathic effects of 1, 8-cineole from *Eucalyptus urophylla* on lettuce. **Allelopathy Journal**, Haryana, v. 26, n. 2, p. 255-264, 2010.

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

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 de plantas medicinais**, Paulínia, v. 11, n. 4, p. 422-428, 2009.

SILVA, A.; OLIVEIRA, L.; RESENDE, J.; SARAIVA, I. Avaliação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais obtidos de diferentes fabricantes. **Sinapse múltipla**, Betim, v. 7, n. 2, p. 131-134, 2018.

SILVA, B. V.; PAIVA, G. F.; BARBIERI, T. O.; SOUZA, G. H. S.; GONÇALVES, F. T. Efeito dos Óleos Essenciais Sobre o Crescimento Micelial in Vitro de *Colletotrichum* spp. **Cadernos de agroecologia**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 2, p. 1-9, 2018.

SILVA, P. H. M. D.; BRITO, J. O.; SILVA JUNIOR, F. G. D. Potential of eleven *Eucalyptus* species for the production of essential oils. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 63, n. 1, p. 85-89, 2006.

SOUZA FILHO, A. P. S.; VASCONCELOS, M. A. M.; ZOGHBI, M. G. B.; CUNHA, R. L. Efeitos potencialmente alelopáticos dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C. DC. e *Pogostemon heyneanus* Benth sobre plantas daninhas. **Acta amazonica**, Manaus, v. 39, n. 2, p. 389-395, 2009.

SOUZA, E. L.; LIMA, E. O.; FREIRE, K. R. L.; SOUSA, C. P. Inhibitory action of some essential oils and phytochemicals on the growth of moulds isolated from foods. **Brazilian archives of biology and technology**, Curitiba, v. 48, n. 2, p. 245-250, 2005.

SOUZA, G. H. S.; PAIVA, G. F.; BARBIERI, T. O.; SILVA, B. V.; GONÇALVES, F. T. Efeito de Óleos Essenciais Sobre o Crescimento Micelial de *Colletotrichum musae*. **Cadernos de agroecologia**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 2, p. 1-9, 2018.

YOSHIMURA, H.; SAWAI, Y.; TAMOTSU, S.; SAKAI, A. 1, 8-cineole inhibits both proliferation and elongation of BY-2 cultured tobacco cells. **Journal of chemical ecology**, USA, v. 37, n. 3, p. 320-328, 2011.

#### 4. Considerações finais

É importante a busca de tratamentos alternativos, no entanto, é necessário ter cuidado com seu uso, pois também podem causar danos as sementes e até mesmo as mais variadas formas de vida e ao ambiente como tem sido relatado em estudos com a vinhaça e a manipueira. Alguns dos tratamentos alternativos tiveram sua eficiência comprovada, como no caso da vinhaça nas concentrações de 75 e 100%, e do óleo essencial do híbrido *E. grandis x tereticornis* na dose de 2,0  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , que além da eficiência no controle sanitário, não alteraram a qualidade fisiológica das sementes. Já o uso do óleo do híbrido *E. grandis x urophylla*, apesar da eficiência no controle fúngico, prejudica a qualidade fisiológica das sementes.

#### 5. Referências bibliográficas

- CARDOSO, R. C.; ALCÂNTARA, A. L.; SOUZA, F. M.; ESPINHEIRA, M. J. C. L. Potencial Antimicrobiano do Óleo da Folha de *Eucalyptus urograndis* Frente *Stafilococcus aureus*. **Id on Line revista multidisciplinar e de psicologia**, Jabotão dos Guararapes, v. 13, n. 43, p. 989-1002, 2019.
- DEBONNE, E.; BOCKSTAELE, F. V.; LEYN, I.; DEVLIEGHERE, F.; EECKHOUT, M. Validation of in-vitro antifungal activity of thyme essential oil on *Aspergillus niger* and *Penicillium paneum* through application in par-baked wheat and sourdough bread. **LWT-Food Science and Technology**, Londres, v. 87, p. 368-378, 2017.
- DORNELES, G. O.; SILVEIRA, R. G.; GUESSER, V. P. G.; RADMANN, E. B.; MISSIO, E. Desempenho de sementes de soja submetidas a tratamento com fungicida/inseticida e períodos de armazenamento. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 5, n. 3, p. 2303-2310, 2019.
- ELY, A. Redução da qualidade de grãos de soja durante o armazenamento em diferentes condições de umidade e temperatura. **Thema**, Alegrete, v. 15, n. 2, p. 506-520, 2018.
- FLÁVIO, N. S. D. S.; SALES, N. L. P.; AQUINO, C. F.; SOARES, E. P. S.; AQUINO, L. F. S.; CATÃO, H. C. R. M. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de sorgo tratadas com extratos aquosos e óleos essenciais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, 2014.
- FONSECA, W. L.; ALMEIDA, F. A.; OLIVEIRA, A. M.; LEITE, M. L. T.; PROCHNOW, J. T.; RAMOS, L. L. Toxicity of manipueira to *Meloidogyne incognita* in soybean. **Pesquisa agropecuária tropical**, Goiânia, v. 46, n. 4, p. 413-420, 2016.
- GOULART, A. C. P. Fungos em sementes de soja: Detecção, importância e controle. 1ª ed. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2005. 72p.

GOUVEA, A.; ZANOTTI, J.; LUCKMANN, D.; PIZZATTO, M.; MAZARO, S. M.; POSSENTI, J. C. Efeito de extratos vegetais em soja sob condições de laboratório e campo. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Rio de Janeiro, v.6, n.2, p. 70-78, 2011.

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

LAIME, E.M.O.; FERNANDES, P.D.; OLIVEIRA, D.C.S.; FREIRE, E.A. Possibilidades tecnológicas para a destinação da vinhaça: uma revisão. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v. 5, n. 3, p. 16-29, 2011.

LEITE, M. L. T.; ALMEIDA, F. A.; FONSECA, W. L.; OLIVEIRA, A. M.; PROCHNOW, J. T., PEREIRA, F. F.; ALCÂNTARA, N. Effect of vinasse in the suppressiveness to *Pratylenchus brachyurus* in soybean. **Journal of Agricultural Science**, Toronto, v. 11, n. 1, p. 538-545, 2019.

MAIA, T.F.; DONATO, A.; FRAGA, M.E. Atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas. **Revista brasileira de produtos agroindustriais**, Campina Grande, v.17, n.1, p.105-116, 2015.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Projeções do agronegócio: Brasil 2016/17 a 2026/27 Projeções de Longo Prazo. 8º ed. Brasília: SPA/Mapa, 2017. 125p.

MIKOLA, T. V. Z.; POTENZA, M. R.; REIS, F. C.; SILVA, V. C. D.; SATO, M. E.; SAKITA, M. N. Evaluation of essential oils of *Eucalyptus* spp. for the control of the subterranean termite *Coptotermes gestroi* (WASMAN). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 41, n. 2, p. 1-8, 2017.

SANTOS, T. M. C.; SANTOS, M. A. L.; SANTOS, C. G.; SANTOS, V. R. D.; PACHECO, D. D. S. Fertirrigação com vinhaça e seus efeitos sobre evolução e liberação de CO<sub>2</sub> no solo. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 22, n.1, p.141-145, 2009.

VENTUROSO, L. R.; BERGAMIN, A. C.; VALADÃO JÚNIOR, D. D.; LIMA, W. A.; OLIVEIRA, W. B.; SCHLINDWEIN, L. A.; CARON, B. O.; SCHMIDT, D. Avaliação de duas cultivares de soja sob diferentes doses de potássio, no município de Rolim de Moura, RO. **Agrarian**, Dourados, v. 2, n. 4, p. 17-29, 2009.