

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de  
27/01/2023

At the author's request, the full text of this thesis/dissertation will not be available online until  
January 27, 2023

**LARISSA MOREIRA CHAGA**

**INIBIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE *Sclerotinia sclerotiorum* EM SEMENTES  
DE FEIJÃO COM O USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E FUNGOS ANTAGONISTAS**

**Botucatu  
2022**



**LARISSA MOREIRA CHAGA**

**INIBIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE *Sclerotinia sclerotiorum* EM SEMENTES  
DE FEIJÃO COM O USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E FUNGOS ANTAGONISTAS**

Dissertação apresentada a Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para a obtenção do título de mestre em Agronomia (Proteção de Plantas).

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Zanin Kronka

**Botucatu**

**2022**

C433i Chaga, Larissa Moreira  
Inibição do desenvolvimento de *sclerotinia sclerotiorum* em sementes de feijão com o uso de óleos essenciais e fungos antagonistas / Larissa Moreira Chaga. -- Botucatu, 2022  
70 p. : tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu  
Orientadora: Adriana Zanin Kronka

1. Controle alternativo. 2. Controle biológico. 3. Mofo branco do feijoeiro. 4. *Clonostachys rosea*. 5. *Trichoderma* spp.. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: INIBIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE *Sclerotinia Sclerotiorum* EM SEMENTES DE FEIJÃO COM O USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E FUNGOS ANTAGONISTAS

**AUTORA: LARISSA MOREIRA CHAGA**

**ORIENTADORA: ADRIANA ZANIN KRONKA**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. ADRIANA ZANIN KRONKA (Participação Virtual)  
Proteção de Plantas / Universidade Estadual Paulista campus Botucatu

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> CRISTIANE DE PIERI (Participação Virtual)  
Prof.<sup>a</sup> Substituta - Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu

pl

Profa. Dra. TATIANA TOZZI MARTINS SOUZA RODRIGUES (Participação Virtual)  
Agronomia / Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais

pl

Botucatu, 27 de janeiro de 2022



A minha querida mãe, Rita Moreira. Por me guiar durante minhas dificuldades e me incentivar a seguir adiante independente dos problemas enfrentados.

Ao meu namorado Wanderson Lincoln, por todo o amor, carinho, compreensão e apoio durante esses anos.

Aos meus irmãos, por todo apoio e incentivo que me deram durante esses anos.

Aos meus sobrinhos Victor, João e Maria Rita, por todo o amor, alegria e carinho.

**Dedico.**





## AGRADECIMENTOS

À Deus e Nossa Senhora Aparecida, por guiar meus passos e sempre iluminar meu caminho, por me dar saúde, força e fé, deixando esta jornada mais branda.

À minha orientadora Profa. Dra. Adriana Zanin Kronka, pelo apoio, dedicação, paciência e atenção durante esses anos para que meu sonho se tornasse realidade. Meu muito obrigada por tudo, serei eternamente grata.

À Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu, em particular ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Proteção de Plantas, pela grande oportunidade de fazer parte dessa instituição.

À Profa. Dra. Maria Marcia Pereira Sartori, pela orientação nas análises estatísticas.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Proteção de Plantas, pelos ensinamentos transmitidos e que de uma forma direta ou indireta, contribuíram para que eu alcançasse meus objetivos.

As minhas amigas Claudia Vilalva, Geovana Gonçalves, Sirlene Lopes e Tamires Borges, amigas fieis companheiras e conselheiras, que sempre estiveram ao meu lado em todos os momentos da minha vida.

Às amigas mais que especiais Mariane Riceto e Rosicléia da Silva pelo carinho, amizade, apoio, pelas várias noites em claro, estudando para as provas, pelas longas conversas, nos momentos tristes e de descontração.

Ao professor Dr. Wagner Bettiol por contribuir com os isolados de *S. sclerotiorum*, *C. rosea* e *Trichoderma* spp.

À Destilaria Bauru pela disponibilização dos óleos essenciais.

E agradeço imensamente aos membros da banca examinadora, pelo interesse e disponibilidade de participar desse momento muito especial para mim.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil – CAPES – Código de financiamento 001



## RESUMO

O feijoeiro-comum é suscetível ao mofo branco, doença causada por *Sclerotinia sclerotiorum* e que resulta em redução da produtividade devido à morte das sementes e das plântulas, além de poder originar plantas infectadas. O seu controle envolve uma série de medidas integradas, incluindo o tratamento de sementes. A pesquisa teve como objetivo avaliar o efeito do tratamento sementes de feijão com os óleos essenciais (OE) de cravo-da-índia e pimenta-preta (Capítulo I) e com os antagonistas *Clonostachys rósea* e *Trichoderma* spp. (Capítulo II) sobre a incidência de *S. sclerotiorum* nas sementes e a qualidade fisiológica das sementes tratadas. No primeiro capítulo, inicialmente, os OE foram adicionados ao meio de cultura BDA para verificar o seu efeito *in vitro* sobre o desenvolvimento fúngico. BDA + fungicida tiofanato metílico + fluazinam e BDA puro constituíram os tratamentos testemunhas. O OE de cravo-da-índia promoveu 100% de inibição no crescimento fúngico, com desempenho igual ao do fungicida. O OE de pimenta-preta apresentou potencial de controle *in vitro*, porém com menor eficiência. Em seguida, as sementes foram tratadas com os OEs, para avaliar seus efeitos na qualidade sanitária e fisiológica das sementes. Sementes tratadas com tiofanato metílico + fluazinam (750 ppm), sementes não inoculadas e sementes inoculadas, ambas sem tratamento, foram incluídas no experimento. A sanidade foi avaliada pelo método do papel filtro. Não houve incidência do patógeno nas sementes tratadas com OE e fungicida. Para avaliar a qualidade fisiológica, foram realizados testes de germinação de vigor (primeira contagem de germinação - PCG). Para avaliar o efeito do tratamento de sementes no desenvolvimento das plântulas, o índice de velocidade de emergência (IVE) em substrato e o comprimento e massa fresca e seca da parte aérea e radicular das plântulas foram avaliados em casa-de-vegetação. Não houve diferença entre as sementes inoculadas e não inoculadas, ambas sem tratamento, para todas as variáveis estudadas. Com exceção do OE de cravo a 0,75%, que interferiu negativamente na PCG e germinação, os demais tratamentos não tiveram efeito no potencial fisiológico das sementes. Com relação aos testes conduzidos em substrato, o OE de cravo-da-índia mostrou-se fitóxico nas concentrações avaliadas, impedindo a germinação das sementes. O OE de pimenta-preta interferiu negativamente no IVE, mas à concentração de 0,75%, proporcionou

desenvolvimento de plântulas satisfatório. No segundo capítulo, o experimento de biocontrole foi iniciado por uma etapa *in vitro*, para avaliar a ação dos antagonistas sobre *S. sclerotiorum*. Os dois antagonistas tiveram efeito inibitório sobre o patógeno, com maior ação supressora de *C. rosea*. Em seguida, foi feito o tratamento de sementes com os antagonistas e o fungicida tiofanato metílico + fluazinam. Sementes inoculadas e não inoculadas, ambas sem tratamento, foram incluídas no experimento. Foram analisadas a sanidade e a qualidade fisiológica das sementes conforme descrito para os experimentos de OE. Os antagonistas não controlaram o patógeno nas sementes. De maneira geral, o tratamento biológico não interferiu na qualidade fisiológica das sementes e no desenvolvimento das plântulas. O OE de pimenta-preta mostrou potencial de uso no tratamento de sementes para controle de *S. sclerotiorum*, porém, mais estudos são necessários para melhorar a eficiência do tratamento no que diz respeito à qualidade fisiológica. Com relação ao tratamento biológico, apesar do efeito inibitório *in vitro*, os antagonistas não controlaram o patógeno nas sementes, sugerindo a necessidade de ajustes na aplicação do tratamento.

**Palavras-chave:** Controle alternativo; controle biológico; mofo branco do feijoeiro; *Clonostachys rosea*; *Trichoderma* spp.; patologia de sementes.

## ABSTRACT

Common bean is susceptible to white mold disease, which is caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. White mold results in reduced yield due to seeds and seedlings death, besides originating infected plants. This disease control involves a series of integrated measures, including seed treatment. This research aimed to evaluate the effect of bean seeds treatment with clove and black pepper essential oils (EOs) (Chapter I), as well as *Clonostachys rosea* e *Trichoderma* spp. antagonists (Chapter II) on *S. sclerotiorum* incidence in the seeds and on their physiological quality. In the first chapter, EOs were added to the PDA culture medium to verify their *in vitro* effect on fungal development. PDA with thiophanate methyl + fluazinam fungicide and pure PDA constituted the control treatments. Clove EO inhibited 100% of fungal growth, which was similar to the fungicide performance. Black pepper EO showed *in vitro* control potential, but with lower efficiency. Then, the seeds were treated with EOs in order to evaluate their effects on the seeds sanitary and physiological qualities. Seeds treated with thiophanate methyl + fluazinam (750 ppm), untreated uninoculated seeds and untreated inoculated seeds were included in the experiment. Seed sanitary quality was evaluated with blotter test. There was no pathogen incidence in the seeds treated with EO and fungicide. Aiming to evaluate the seed physiological quality, germination and vigor (first germination count - PCG) tests were carried out. In order to evaluate the seed treatments effect on seedling development, emergence speed index (IVE), root and shoot length, as well as root and shoot fresh and dry mass were studied in greenhouse experiments. There was no difference between untreated inoculated and untreated uninoculated seeds for all variables studied. Except for clove EO at 0.75%, which negatively interfered with PCG and germination, the other treatments had no effect on the seeds physiological quality. Regarding the tests carried out in substrate, clove EO proved to be phytotoxic at the concentrations evaluated, preventing seed germination. Black pepper EO had a negative effect on the IVE, however, at a concentration of 0.75%, it provided satisfactory seedling development. In the second chapter, the biocontrol experiment started with an *in vitro* phase, in order to evaluate the antagonists action on *S. sclerotiorum* development. Both antagonists had an inhibitory effect on the pathogen, on which *C. rosea* presented a higher suppressive action. Then, the seeds were

treated with antagonists and thiophanate methyl + fluazinam fungicide. Untreated inoculated and untreated uninoculated seeds were included in the experiment. Seeds sanitary and physiological qualities were evaluated as previously described. The antagonists did not control the pathogen in the seeds. In general, the biological treatment did not interfere either seeds physiological quality or in the seedlings development. Black pepper EO showed promising use for seed treatment to control *S. sclerotiorum*. However, more studies are needed to improve this treatment efficiency regarding the physiological quality. Concerning the biological treatment, despite the antagonists *in vitro* inhibitory effect, they did not control the pathogen in the seeds, suggesting that adjustments in this treatment application are necessary.

**Keywords:** Alternative control; biological control; bean white mold; *Clonostachys rosea*; *Trichoderma* spp.; seed pathology.

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>15</b>
<b>CAPÍTULO 1 - Tratamento de sementes de feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) com óleos essenciais para o manejo de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>.....</b>	<b>23</b>
1.1 Introdução.....	25
1.2 Material e Métodos.....	27
1.3 Resultados e Discussão.....	31
Referências .....	41
<b>CAPÍTULO 2 - Manejo de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> com agentes de biocontrole no tratamento de sementes de <i>Phaseolus vulgaris</i> L.....</b>	<b>46</b>
2.1 Introdução.....	47
2.2 Material e Métodos.....	49
2.3 Resultados e Discussão.....	54
Referências .....	62
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>66</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>67</b>





## INTRODUÇÃO GERAL

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa pertencente à família *Fabaceae*, com o centro de origem no continente americano (DEBOUCK, 1993). Por sua importância econômica, o cultivo do feijão é responsável por gerar emprego e renda para milhares de produtores rurais. É também caracterizado como a principal fonte de proteína de origem vegetal incluída na dieta do brasileiro, devido ao seu elevado valor energético em comparação aos outros alimentos (SANTOS; GAVINALES, 2006). O Brasil ocupa o primeiro lugar no ranking dos países produtores, tendo a maior produção e consumo (FAOSTAT, 2019).

O feijoeiro possui boa adaptação edafoclimática, o que permite o seu cultivo ao longo do ano em todo o território nacional. No Brasil, o feijoeiro é cultivado em três diferentes épocas do ano, sendo a safra “das águas”, de agosto a novembro; a safra “da seca”, de janeiro a março e a safra “de inverno”, de abril a julho (CONAB, 2020). Conforme o levantamento da safra 2020/2021, estima-se um volume final de 3.136,6 mil toneladas de produção, somando os feijões do tipo comum cores, comum preto e o caupi. Essa estimativa indica uma queda na produtividade de aproximadamente 6,5% em relação ao levantamento obtido em 2019/20, devido às oscilações do clima registradas ao longo do ciclo, principalmente na Região Sul do país e na Bahia (CONAB, 2021).

A incidência de doenças é um dos principais fatores para a redução da produtividade do feijoeiro, podendo-se ter perda total da produção, depreciação da qualidade fisiológica das sementes, desuniformização na germinação, que conseqüentemente, interfere no estabelecimento do estande inicial ou inviabilização de determinada área para o cultivo (MESQUITA et al., 2017). A semente é considerada um veículo eficiente no transporte e disseminação de patógenos, além de ser um abrigo seguro à sua sobrevivência. As sementes também podem introduzir o fitopatógeno em regiões onde estes ainda não ocorrem. Dentre os diversos patógenos de importância epidemiológica que podem afetar a produção e a qualidade das sementes de feijão, encontra-se o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, agente causal da doença mofo branco. Esse fungo é considerado um importante e severo patógeno habitante de solo, por ser capaz de infectar uma ampla gama de hospedeiro e de produzir escleródios, estruturas de resistência que

podem sobreviver no solo por longos anos na ausência de uma planta hospedeira (BIANCHINI FILHO; MARINGONI; CARNEIRO, 2016).

A infecção do feijão por *S. sclerotiorum* abrange diferentes processos e a etapa em que a cultura fica mais vulnerável ao ataque do patógeno é no estágio de florescimento pleno (SANTOS, 2013). Esse fungo é caracterizado por apresentar um ciclo de vida complexo, sendo este de reprodução sexuada, caracterizada pela germinação dos escleródios carpogenicamente, e assexuada, pela germinação miceliogênica (GÖRGEN, 2009). Inicialmente, na germinação carpogênica, há formação de apotécios que emergem na superfície do solo, produzindo os ascos, que quando maduros, liberam os ascósporos no ambiente durante vários dias, sendo estes disseminados pelo vento e depositados sobre as flores, infectando-as. As pétalas infectadas caem ao solo ou entram em contato com outras partes da planta, colonizando todo o tecido saudável (SANTOS, 2013). Já na germinação miceliogênica, os escleródios ficam na superfície do solo, onde há formação de hifas pelo patógeno que atacam diretamente os tecidos da raiz, danificando-as, o que ocasionará o apodrecimento do caule (WUTZKI, 2014).

Quando semeadas sementes sadias em solos contaminados por *S. sclerotiorum*, pode-se verificar sintomas como "damping-off" de pré ou pós emergência nas sementes, provocando assim, a redução da população de plantas na área (WENDLAND et al., 2016). O patógeno pode sobreviver na forma de micélio ou por escleródios em mistura com sementes (DHINGRA, 2005; REIS, 2013). O micélio dormente fica no interior das sementes, nos cotilédones, mantendo a sua viabilidade por um longo tempo, e após a semeadura no campo, sob condições favoráveis de umidade e temperatura, retoma sua atividade metabólica, matando a semente e produzindo novos escleródios que irão germinar na mesma safra. As sementes infectadas são veículos de disseminação da doença em áreas sem histórico do mofo branco (WENDLAND et al., 2016).

O controle de *S. sclerotiorum* é um pouco complexo devido, à ausência de cultivares resistentes, à variabilidade genética do fitopatógeno, à presença de escleródios no solo, à sua sobrevivência em sementes através do micélio dormente ou escleródios misturados a elas (GOULART, 2004). Dessa forma, para reduzir as perdas ocasionadas pela doença em solos infestados de escleródios, o manejo

integrado tornou-se um sistema de apoio para a tomada de decisão quanto à seleção e ao uso de estratégias de controle de doença. Assim, o emprego de sementes saudáveis, tratamento de sementes e manejo baseado na integração dos métodos culturais, químicos e biológicos, pode reduzir a fonte de inóculo na área (MEYER, 2011).

A disseminação de patógenos por meio de sementes é reduzida através do uso de sementes livres de contaminação ou que atendam aos padrões de tolerância determinada para a cultura. No ponto de vista sanitário, sementes livres de quaisquer microrganismos indesejáveis seriam uma semente ideal, porém nem sempre é possível obter tais sementes, uma vez que a qualidade sanitária dos grãos é influenciada pelas condições climáticas em que foram produzidas e armazenadas (GOULART, 1998).

O tratamento de sementes pode ser entendido como qualquer procedimento que envolva as sementes, pela incorporação de produtos químicos e/ou biológicos em sua superfície, e/ou pelo uso de agentes físicos, visando à melhoria ou garantia do seu desempenho em condições de cultivo. O tratamento de sementes para o controle de fitopatógenos pode ser realizado através de métodos químicos, físicos, biológicos ou pela combinação destes (ZAMBOLIM, 2004). É uma prática de baixo custo e seu efeito ao ambiente é restrito quando comparado à aplicação de produtos químicos nas plantas (MORAES, 2004).

O tratamento de sementes é uma técnica que auxilia no controle de patógenos transmitidos via sementes e garante uma população adequada de plantas na área, mesmo quando as condições climáticas no momento da semeadura são prejudiciais à germinação e emergência das plântulas, que ficam expostas por um longo período a fungos habitantes do solo que provocam a deterioração das sementes ou morte das plântulas (HENNING, 2004).

O tratamento de sementes com produtos químicos sintéticos ainda é o mais empregado, por ter simplicidade na execução e melhor custo/benefício (SILVA, 2016). Entretanto, a agricultura tem procurado medidas alternativas para o tratamento de sementes e controle de doenças, que proporcionam maior preservação ambiental e melhor qualidade de vida (SANTOS, 2018). Acerca disso, o

uso de substâncias naturais, como os extratos e óleos vegetais, e microrganismos antagonistas a fitopatógenos, como espécies de *Trichoderma* e de *Clonostachys*, apresenta-se como uma alternativa de baixo impacto na agricultura, com menor risco de contaminação do solo.

Os óleos essenciais são compostos orgânicos de estrutura química heterogênea. Tratam-se de misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, com baixa massa molecular, geralmente odorífera e líquida. Os óleos essenciais são obtidos por meio de diferentes processos, dependendo da localização na planta, quantidade e das características exigidas para o produto final. Os processos usuais são destilações por arraste a vapor d'água, expressão de pericarpo ou hidrodestilação (MORAIS, 2009). Os produtos à base de óleos essenciais e extratos vegetais vêm se destacando no meio científico, devido ao seu potencial antimicrobiano de origem natural (GILLES et al., 2010). Os óleos essenciais são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo constituídos principalmente de terpenos, porém, há alguns derivados dos fenilpropanoides. De acordo com o tamanho da molécula, os terpenoides recebem denominação diferente: monoterpenos e sesquiterpenos (OOTANI et al., 2013).

Os óleos essenciais possuem compostos secundários, não vitais às plantas, mas com função de proteção contra doenças; ação fungitóxica, ao inibir o desenvolvimento micelial e a germinação de esporos; e ação antimicrobiana indireta pela ativação de mecanismos de defesa nas plantas. Tratam-se de fitoalexinas elaboradas pelos vegetais em resposta aos estresses químicos, biológicos ou físicos; com capacidade em dificultar ou diminuir a atividade de agentes patogênicos (MÉDICE et al., 2007; LIMA et al., 2008; KNAAK; FIUZA, 2010). A propriedade antimicrobiana dos óleos essenciais deve-se à sua característica lipofílica. A hidrofobicidade do óleo essencial possibilita sua interação com os lipídios da membrana celular, influenciando assim, na permeabilidade da célula e causando alterações em sua estrutura (PIPER et al., 2001).

A eficiência do tratamento com óleos essenciais varia de acordo com os óleos essenciais empregados, a composição destes, a microbiota presente nas sementes e as condições de ambiente. Pesquisas relacionadas ao tratamento de sementes

com óleos essenciais ainda são escassas, mesmo com seu efeito positivo já constatado.

Nguefack et al. (2008) verificaram que óleos essenciais extraídos a partir de capim-limão (*Cymbopogon citratos*), alfavaca (*Ocimum gratissimum*), e tomilho (*Thymus vulgaris*) foram capazes de controlar a infecção de patógenos associados a sementes de arroz (*Oryza sativa* L.). Os três óleos essenciais controlaram a infecção das sementes com uma eficácia variando de 48% a 100%. Constatou-se também o aumento da capacidade de germinação de sementes tratadas com os óleos em 5 a 13% e um melhor vigor das plântulas originadas de sementes tratadas em relação às sementes não tratadas com os óleos.

Gomes et al. (2016), avaliando o efeito de óleos essenciais de manjeriço (*Ocimum basilica* L.), copaíba (*Copaifera langsdorffii* L.) e cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.) no controle de patógenos em sementes de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), nas concentrações de 0; 1; 1,5 e 2 mL. L<sup>-1</sup>, observaram que os óleos reduziram a incidência de *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., presentes nas sementes. No entanto, o óleo de copaíba proporcionou redução na qualidade fisiológica das sementes, quando utilizado na concentração de 2 ml. L<sup>-1</sup>.

Outra possibilidade de tratamento de sementes, alternativo ao químico, é o controle biológico de sementes, conhecido como microbiolização de sementes. A microbiolização consiste no uso de microrganismos vivos aplicados as sementes para o controle dos fitopatógenos, além de auxiliar no crescimento das plantas, beneficiando na germinação; na emergência e desenvolvimento das plântulas; e na produção de grãos e frutos (DINIZ et al., 2009). Essa técnica é utilizada com o intuito de controlar fitopatógenos causadores de podridões das sementes e raízes, tombamento e morte das plântulas; e patógenos foliares, que têm as sementes como fonte de inóculo (SANTOS, 2014).

O controle biológico tem alta especificidade de controle de fitopatógenos, baixo custo e não agride o meio ambiente. Os mecanismos das interações antagônicas entre microrganismos patogênicos e antagonistas com a planta são divididos em antibiose, com a produção de antibióticos com efeito tóxico ao

patógeno; competição, por espaço e alimento; predação e parasitismo, provocando a morte do patógeno; indução de resistência, através da ação indireta sobre o patógeno, pela produção de moléculas que serão reconhecidas por receptores que se ligam a sítios específicos da planta na membrana plasmática; e hipovirulência, pela transmissão de características de uma linhagem de patógeno menos agressivo ou não patogênico para a patogênica (BETTIOL, 1991). Os agentes de controle biológico podem atuar por um ou mais mecanismos de ação, os quais irão conferir maior estabilidade para o manejo (BETTIOL; GHINI, 2009).

Os tratamentos químicos de sementes com produtos sintéticos podem ser trocados por tratamentos biológicos, assim, proporcionando vantagens econômica, social e ambiental. O biocontrole com antagonistas pode diminuir o número ou a quantidade de aplicações de produtos químicos, além de possuir potencial para eliminar o uso dessa prática, dependendo da severidade, manejo da doença e pelas condições ambientais (POMELLA; RIBEIRO, 2009; HEYDARI; PESSARAKLI, 2010). Os fungos *Trichoderma* spp. e *Clonostachys rosea* possuem grande potencial de controle de doenças em plantas, como o mofo branco. Esses antagonistas produzem metabólitos secundários, competem por espaço e nutrientes, e provocam a morte do patógeno ao parasitá-lo. Esses mecanismos são bastante importantes para o biocontrole de *S. sclerotiorum*, pois reduzem o seu crescimento micelial e germinação (BOREL, 2014). Determinados isolados de *Trichoderma* spp. e *C. rosea* possuem capacidade de estimular o crescimento das plantas pela colonização da rizosfera e auxiliar na solubilização de nutrientes perto das raízes, permitindo uma melhor assimilação das substâncias pelas plantas (MENEZES et al., 2007).

O biocontrole de fungos causadores de doenças de plantas com o uso de isolados de *Trichoderma* e *C. rosea* vem sendo cada vez mais empregados.

Guimarães et al. (2014) em trabalhos realizados com tratamento de sementes de feijão com *Trichoderma harzianum* sobre *Cladosporium herbarum*, verificaram que a suspensão dos conídios do *T. harzianum* conseguiu controlar de 67 a 77% do patógenos nas sementes de feijão. Além disso, as sementes tratadas com *T. harzianum* proporcionaram o aumento do comprimento da parte aérea e das raízes das plantas de feijão.

Amaral et al. (2018), ao avaliar 15 isolados de *Trichoderma* sobre *S. sclerotiorum*, observaram que grande parte dos isolados de *Trichoderma* conseguiu reduzir entre 56,94 a 70,83% o crescimento micelial do fitopatógeno.

Carvalho et al. (2011), ao estudar o efeito do tratamento de sementes de feijão com *T. harzianum*, verificaram a redução da incidência de *Aspergillus*, *Cladosporium* e *S. sclerotiorum* nas sementes.

Akrami et al. (2012), ao avaliar o efeito do tratamento de sementes de feijão com *T. harzianum* e *T. asperellum* sobre *Fusarium solani*, observaram uma redução da colonização do patógeno na semente, quando aplicadas suspensões aquosas ou soluções açucaradas contendo conídios isolados, ou misturados dos agentes de biocontrole.

O tratamento de sementes com *C. rosea* ainda é escasso, porém na literatura há relatos do seu potencial de controle contra patógenos causadores de doenças em plantas. Rodriguez et al. (2011) constataram que o filtrado de crescimento de *C. rosea* BAF3874 em meio líquido inibiu o crescimento *S. sclerotiorum*. Além disso, nos experimentos em casa de vegetação, *C. rosea* reduziu o efeito negativo do patógeno no desenvolvimento das plantas de soja e alface e provocaram aumentos significativos no peso da massa seco da parte aérea das culturas.

Molleret al. (2003) observaram que duas aplicações da suspensão de esporos na concentração de  $10^8$ . mL<sup>-1</sup> do isolado IK726 de *C. rosea* foram capazes de reduzir a incidência da podridão da cabeça e folhas do repolho, causada por *Pythium tracheiphilum*.

Teixeira (2018), ao avaliar a capacidade de controle da pinta preta da batateira por cinco isolados de *Clonostachys*, verificou que *C. chloroleuca* e *C. rosea* proporcionaram uma redução de 80% da intensidade da doença pela aplicação foliar preventiva dos antagonistas. Os cinco isolados de *Clonostachys* inibiram de 86 a 100% da germinação dos conídios de *Alternaria solani* após vinte e quatro horas de incubação.

Diante do exposto, o objetivo da pesquisa foi avaliar o efeito do tratamento de sementes de feijão com os óleos essenciais de cravo-da-índia e pimenta-preta e



com os antagonistas *C. rosea* e *Trichoderma* spp. sobre a incidência de *S. sclerotiorum* e a qualidade fisiológica das sementes tratadas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tratamento de sementes com produtos químicos ainda é uma medida bastante eficaz e utilizada no manejo de fitopatógenos de sementes. Com o intuito de diminuir os efeitos negativos do uso dos produtos fitossanitários, como a contaminação humana e ambiental, e intensificar a produção de alimentos livres de produtos sintéticos e de melhor qualidade, o controle alternativo vem sendo cada vez mais pesquisado para compor o manejo integrado de doenças de plantas. Acerca disso, o uso de produtos naturais, como os óleos essenciais e de agentes de biocontrole no tratamento de sementes tem sido cada vez mais investigado, constatando-se o efeito positivo no controle de patógenos.

Os resultados deste trabalho permitem concluir que os óleos essenciais de cravo-da-índia e pimenta-preta têm efeito antifúngico sobre *S. sclerotiorum*, porém, mais estudos são necessários para melhorar a eficiência do tratamento no que diz respeito ao potencial fisiológico. Com relação ao tratamento biológico, apesar do efeito inibitório *in vitro*, os antagonistas não controlaram o patógeno nas sementes, sugerindo a necessidade de ajustes na aplicação do tratamento, uma vez que os efeitos no potencial fisiológico foram satisfatórios.

## REFERÊNCIAS

- AKRAMI, M. et al. Effect of seed Treatment with *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma asperellum* species for controlling *Fusarium* rot of common bean. **Annals of Biological research**, v. 3, n. 5, p. 2187-2189, 2012.
- AMARAL, A. C. T. et al. Biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum* por espécies de *Trichoderma* provenientes de sistemas agroflorestais. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v. 15, n. 2, p. 145-152, 2018.
- BIANCHINI FILHO, A., MARINGONI, A., CARNEIRO, B. S. M. T. P. G. Doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A., CAMARGO, L. F. A. Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 5 ed. São Paulo: **Agronômica Ceres**, v. 2, p. 376-399, 2016.
- BETTIOL, W. Componentes do controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas. **Embrapa Meio Ambiente-Livro científico (ALICE)**, Brasília, p.1-5, 1991.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Impactos das mudanças climáticas sobre o controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente. 2009. 341 p.
- BOREL, F. C.. **Interação de *Clonostachys rosea* e *Sclerotinia sclerotiorum* no solo e em plantas de soja e feijão**. 2014. 37 f. Dissertação (Mestrado em Etiologia; Epidemiologia; Controle) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2014.
- CARVALHO, D. D. C. et al. Biocontrol of seed pathogens and growth promotion of common bean seedlings by *Trichoderma harzianum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.8, p.822-828, 2011.
- CONAB - **Acompanhamento da Safra Brasileira Grãos**. Safra 2019/20 – décimo segundo levantamento, Brasília, v. 7, p. 31-38, setembro, 2020. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos?start=10>. Acesso em: 19 jul. 21.
- CONAB - **Acompanhamento da safra brasileira Grãos**. Safra 2020/21 – quinto levantamento, Brasília, v. 8, p. 43-57, Fevereiro, 2021. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos> .Acesso em: 19 jul. 21.
- DEBOUCK, D. et al. Systematics and morphology. In: SCHOONHOVEN, A. V.; VOYSESR, O. (ed.). Common beans: research for crop improvement. Cali: **CAB International** - CIAT, p. 55-118, 1993.
- DINIZ, K. A. et al. Sweet pepper seed responses to inoculation with microorganisms and coating with micronutrients, aminoacids and plant growth regulators. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 66, n. 3, p. 293-297, 2009.
- DHINGRA, O. D. Teoria da transmissão de patógenos fúngicos por sementes. 75-112 pp. Em: Zambolin, L. Sementes: Qualidade Fitosanitária. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil, 2005.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Statistics Division. 2019. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>  
Acesso em: 19 jul. 21.

GILLES, M. et al. Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian *Eucalyptus* species. **Food Chemistry**.v.119, p.731-737, 2010.

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

GÖRGEN, C. A. **Manejo do mofo branco da soja com palhada de *Brachiaria ruziziensis* e *Trichoderma harzianum* 1306** . 2009. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal de Goiás, Jataí, 2009.

GOULART, A. C. P. Tratamento de sementes com fungicidas. In: EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agropecuária do Oeste. **Algodão**. Infomações técnicas. Dourados: EMBRAPA-CPAO: Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, p.71-84, 1998.

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

GUIMARÃES, G. R. et al. Suppression of seed borne *Cladosporium herbarum* on common bean seed by *Trichoderma harzianum* and promotion of seedling development. **Tropical Plant Pathology**, Viçosa, v. 39, n. 5, p. 401-406, 2014.

HENNING, A. A. Patologia e tratamento de sementes: noções gerais. **Embrapa Soja-Documentos (INFOTECA-E)**, 51p.,2005.

HEYDARI, A., PESSARAKLI, M. A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. **Journal of biological sciences**, v.10, n. 4, p.273–290, 2010.

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

LIMA, W. G. et al. Citronella oil inhibits cotton ramulosis in controlled conditions. **Pest Technology**, Canadá, v. 2, n. 1, p.24-27, 2008.

MEDICE, R. et al. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd.& P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 83-90, 2007.

MENEZES, M. E. L. et al. Crescimento de isolados de *Trichoderma* sp. em diferentes fontes e concentrações de nitrogênio. In: **Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA SEMI-ÁRIDO, p.71-76, 2007.

MESQUITA, D. C. M. et al. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. a *Sclerotinia sclerotiorum* do feijão comum. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Artigo em periódico indexado. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v. 13, n. 1, p. 1-4, ago. 2017.

- MEYER, M. C. Manejo de *Sclerotinea sclerotiorum* para a sustentabilidade de produção. In: **Embrapa Soja-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. Informativo Abrates, Londrina, v. 21, n. 3, p. 15, dez. 2011.
- MOLLER, K. et al. Biocontrol of *Pythium tracheiphilum* in chinese cabbage by *Clonostachys rosea* under field conditions. **Biocontrol Science and Technology**, Basingstoke, v.13, n.2, p.171-182, 2003.
- MORAES, M. H. D. Análise de sementes tratadas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 8, 2004, João Pessoa, PB. **Palestras e Resumos**, João Pessoa: Tropical Hotel Tambaú, p.99, 2004.
- MORAIS, L. A. S. de. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. Horticultura Brasileira, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. S3299-S3302, ago. 2009. CD-ROM. Suplemento. Trabalho apresentado no 49. Congresso Brasileiro de Olericultura, Águas de Lindóia, SP., 2009.
- NGUEFACK, J. et al. Use of three essential oils as seed treatments against seed-born fungi of rice (*Oryza sativa* L.). **American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science**, v.4, p.554-560, 2008.
- OOTANI, M. A. et al. Utilização de óleos essenciais na agricultura. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, Gurupi, v. 4, n. 2, p.162-175, 2013.
- PIPER, P. et al. Weak acid adaptation: the stress response that confers resistance to organic acid food preservatives. **Microbiology**, v.147, p.2635-2642, 2001.
- POMELLA, A. W. V.; RIBEIRO, R. T. da S. Controle biológico com *Trichoderma* em grandes culturas - uma visão empresarial. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Org.). **Biocontrole de doenças de Plantas**. Uso e perspectivas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p.239-244.
- REIS, G. F. dos. **Deteção, transmissão e controle de Sclerotinia sclerotiorum associado a sementes de soja**. 2013. 64 f. Tese (Doutorado em Agronomia)– Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.
- RODRÍGUEZ, M. A. et al. *Clonostachys rosea* BAF3874 as a *Sclerotinia sclerotiorum* antagonist: mechanisms involved and potential as a biocontrol agent. **Journal of Applied Microbiology**, v. 110, n. 5, p. 1177-1186, 2011.
- SANTOS, A. Princípios de controle de doenças. Bahia: Universidade Estadual do Sul da Bahia. 2014. Disponível em [http://www.uesb.br/utilitarios/modelos/monta.asp?site=fitopatologia&tex=i\\_03\\_sementes2.html](http://www.uesb.br/utilitarios/modelos/monta.asp?site=fitopatologia&tex=i_03_sementes2.html) . Acesso em 20 jul. 2021.
- SANTOS, J. B.; GAVILANES, M. L. Botânica. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. (ed.). **Feijão**. Universidade Federal de Viçosa, 2. ed., p. 41- 65, 2006.
- SANTOS, P. F. dos. **Aspectos epidemiológicos do mofo-branco e feijão comum**. 2013. 71 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

SANTOS, P. L. dos. **Manejo de *Macrophomina phaseolina* (tassi) goid. em sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) com óleos essenciais e antagonistas.** 2018. 75f. Tese (Doutorado em Agronomia - Proteção de Plantas), Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, Botucatu, 2018.

TEIXEIRA, W. D. **Seleção de isolados de *Clonostachys* spp. para o controle da pinta preta da batateira.** 2018. 39 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2018.

WENDLAND, A. et al. Doenças do Feijoeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. CAMARGO, L.E.A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia.** Doenças das plantas cultivadas. 5. ed. São Paulo: Ceres. v. 2, p. 383–390. 2016.

WUTZKI, C. R. **Controle alternativo, biológico e químico do mofo branco na soja.** 2014. 79 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura) - universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2014.

ZAMBOLIM, L. Importância do tratamento de sementes no manejo integrado de doenças. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 8, 2004, João Pessoa, PB. **Palestras e Resumos**, João Pessoa: Tropical Hotel Tambaú, p.94-94, 2004.