

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade



Dissertação

Uso de compostos semissintéticos no controle de *Colletotrichum lindemuthianum* e seus efeitos na qualidade fisiológica e sanitária de sementes de feijão

Gisele Fabiana Zobot

Pelotas, 2019

Gisele Fabiana Zobot
Engenheira Agrônoma

Uso de compostos semissintéticos no controle de *Colletotrichum lindemuthianum* e seus efeitos na qualidade fisiológica e sanitária de sementes de feijão

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fitossanidade (Área de conhecimento: Fitopatologia).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cândida Renata Jacobsen de Farias

Co-orientadora: Maristela Rey Borin

Pelotas, 2019

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

Z12u Zabet, Gisele Fabiana

Uso de compostos semissintéticos no controle de *Colletotrichum lindemuthianum* e seus efeitos na qualidade fisiológica e sanitária de sementes de feijão / Gisele Fabiana Zabet ; Cândida Farias de Jacobsen, orientadora. — Pelotas, 2019.

59 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1. Antracnose. 2. *Phaseolus vulgaris* L.. 3. Compostos semissintéticos. 4. Controle alternativo. 5. Qualidade fisiológica e sanitária. I. Jacobsen, Cândida Farias de, orient. II. Título.

CDD : 635.652

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Cândida Renata Jacobsen de Farias (Orientadora)
Professora, Fitopatologia, Universidade Federal de Pelotas, RS

Prof^a. Dr^a. Danielle Ribeiro de Barros
Professora, Fitopatologia, Universidade Federal de Pelotas, RS

Dr. Irajá Ferreira Antunes
Pesquisador, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS

Dr. Caroline Costa
Pesquisador, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

Dedico este trabalho a meus pais Zenaide Zobot e Valdir Zobot, irmão Giovani Leone Zobot, pelo amor incondicional, por sempre estarem presentes e ser minha estimulação para poder chegar a esta etapa da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Quando iniciamos uma nova caminhada sabemos da missão a ser cumprida. Há de se saber que é fundamental o planejamento desta trajetória, com início, meio e fim da jornada.

Ao caminhar percebemos o quanto é importante e valioso enxergar o que está à frente e ao longo deste trajeto. Neste mestrado, no caminho central havia o estudo, a pesquisa, o trabalho que se encerra no conhecer um pouco mais da ciência e colaborar para o seu desvelamento diante dos olhos da sociedade. À margem estavam os ornamentos necessários para que essa caminhada se completasse, sorrisos, aplausos, abraços, olhares, palavras, orações, mãos estendidas, paciência, choro compartilhado, dúvidas esclarecidas, fé, elogios e críticas, tudo isso me fez chegar até aqui.

Agradeço a Deus por me brindar a vida com esta grande oportunidade, e por colocar pessoas muito valiosas no meu caminho, fazendo com que fosse mais fácil alcançar meus objetivos neste desafio. **Pai e mãe**, mesmo de longe, vocês souberam me encorajar, se alegraram com meus acertos, choraram com minhas angústias, torceram, acreditaram e oraram. **Giovani**, meu amado irmão, você estava lá no início, quando eu ainda tinha dúvidas se começava ou não essa trajetória e me ajudou a optar por fazê-la, sempre presente. **Rogério**, meu amado companheiro, gratidão pela paciência, pelo encorajamento, por todos sorrisos e abraços, com todo seu amor e bondade deixou minha trajetória mais leve. **Dra. Cândida Jacobsen de Farias** que desde o primeiro dia me proporcionou esta grande oportunidade, por ter me guiado, por ser sempre tão compreensiva, por sua paciência, pelos seus ensinamentos e contribuição na minha formação pessoal e profissional. **Rosaria Azambuja Machado**, nossa amável técnica de laboratório, satisfação enorme tê-la conosco, és um ser de luz, gratidão por todo seu ensino, por seu auxílio sempre, por sua paciência e por ser esta grande pessoa que admiro muito. **Rosana Serpa**, sempre muito prestativa em ajudar e solucionar os problemas, grata por tudo.

Aos meus grandes amigos do Laboratório Patologia de Sementes que se tornaram minha família, fazendo que meus dias fossem mais felizes, e por me acompanharem em todos momentos, Viviana Gaviria, Victoria Moreira, Vanessa Gonçalves, Wellington Rodrigues, Priscila Rossatto Meneses, Caliandra Bernardi e Cecília Adorei trabalhar e compartilhar todo este tempo com vocês, obrigada pela

paciência, amizade, pelo carinho e por tornar meus dias de trabalho e estudo mais alegres! Sem dúvida eu cheguei a esta instância em grande parte graças a vocês!!

Aos estagiários pela ajuda nos trabalhos: Manuela, Vitória Nunes e Ligiani Simões.

Aos meus amigos e colegas da Fitopatologia por sua amizade, apoio, carinho e auxílio prestado, Bruna Rohirg, Renata Moccellini, Sílvia Letícia Santos da Paz Maiche, Johan Murcia, Julia Pelegrineli, Mauricio Sangiogo, Ismail Souza, Keilor Dorneles, Paulo Pazdiora, Juan Felipe Rivera, Alfonso, Andrea.

Às minhas amigas, colegas de profissão, grandes profissionais, que tiveram participação especial nesta jornada Luciane Renata Agazzi, Scheila Ecker, Bruna Rohrig, Simone Dellagostin, Renata Moccellini e Vanessa Kwiatkowski pelo apoio, acompanhamento nas atividades desenvolvidas, incentivo e troca de experiências.

Aos professores do programa de Pós Graduação em Fitossanidade, à Universidade Federal de Pelotas e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela oportunidade de realização do curso. A todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho, minha gratidão.

Muito obrigada à todas estas pessoas maravilhosas que conheci, que de alguma forma contribuíram na minha formação profissional e principalmente pessoal. Sou muito agradecida por conhecer pessoas como vocês que sem dúvida fizeram com que esta experiência fosse inesquecível.

GRATIDÃO!!

*“Não faz mal que seja pouco,
O que importa é que o avanço de hoje seja maior que o de ontem,
Que nossos passos de amanhã sejam mais largos que os de hoje”*
Daisaku Ikeda

RESUMO

ZABOT, Gisele Fabiana. **Uso de compostos semissintéticos no controle de *Colletotrichum lindemuthianum* e seus efeitos na qualidade fisiológica e sanitária de sementes de feijão.** 2019. 59f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brasil.

Dentre as principais doenças que acometem a cultura do feijoeiro está a antracnose, ocasionada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum*. O controle geralmente é feito com fungicidas sintéticos. Porém, sua utilização pode resultar em diversos problemas, como o desenvolvimento da resistência do patógeno e contaminação do meio ambiente e dos alimentos. A utilização de compostos semissintéticos para o controle alternativo da doença visa proporcionar maior equilíbrio ao ecossistema e menor impacto ambiental. Neste contexto o objetivo do trabalho foi: a) realizar a prospecção dos compostos Phenyl S Citral, Phenyl Se Citronellal e Citral modificados a partir do óleo essencial de citronela e capim-limão para o controle de *C. lindemuthianum*; b) avaliar o desempenho inicial de plântulas de feijão tratadas com Phenyl S Citral e Phenyl Se Citronellal; c) avaliar a incidência de *C. lindemuthianum* em sementes de feijão tratadas com Phenyl S Citral e Phenyl Se Citronellal. Foram testadas diferentes concentrações dos compostos semissintéticos (1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,0625%, 0,03125%, 0,015625%, 0,0078125% e 0,00390625%). Para prospecção dos compostos, foi avaliada a inibição do crescimento micelial do fungo, sendo que Phenyl Se Citronellal na concentração 0,5% controlou em 100% e Phenyl S Citral controlou em mais de 50% o crescimento micelial de *C. lindemuthianum* nas concentrações 0,5% e 1%. A partir dos resultados de prospecção dos compostos semissintéticos, as concentrações que apresentaram bom desempenho (0,125% e 0,0625%) mas que não oferecessem risco de fitotoxicidade às plântulas, foram utilizadas nos experimentos seguintes. Verificou-se então que, o tratamento das sementes com Phenyl S Citral e Phenyl Se Citronellal não afeta a qualidade fisiológica de sementes de feijão, proporcionando incremento no desenvolvimento de plântula pela concentração 0,0625% do composto Phenyl Se Citronellal. O tratamento das sementes com Phenyl Se Citronellal em ambas concentrações diminuiu a incidência de *C. lindemuthianum* em lotes infectados pelo fungo. As propriedades antimicrobianas de compostos derivados de citronela (*Cymbopogon nardus*) e capim limão (*Cymbopogon citratus*) sugerem que o uso dessas substâncias para proteger as culturas contra fungos patogênicos merece maior exploração científica.

Palavras-chave: Antracnose; *Phaseolus vulgaris* L.; compostos semissintéticos; controle alternativo; qualidade fisiológica e sanitária.

Abstract

ZABOT, Gisele Fabiana. **Use of semisynthetic compounds for controlling *Colletotrichum lindemuthianum* and its effects on the physiological and sanitary quality of bean seeds.** 2019. 59f. Dissertation (Master) – Phytosanitary Postgraduate Program. Federal University of Pelotas, Pelotas, Brasil.

Anthrachnose is one of the main diseases that affect the bean crop, which is caused by the fungus *Colletotrichum lindemuthianum*. The control is usually done with synthetic fungicides, but their use can cause several problems, such as the development of pathogen resistance and contamination of food and environment. The use of semisynthetic compounds for the alternative control of such disease aims at providing higher balance to the ecosystem and lower environmental impact. Based on this context, the objective of this work was: a) to carry out the prospection of compounds such as Phenyl S Citral, Phenyl Se Citronellal and Citral, which were modified from the essential oil of citronella and lemongrass, for controlling *C. lindemuthianum*; b) to evaluate the initial performance of bean seedlings treated with Phenyl S Citral and Phenyl Se Citronellal; c) to evaluate the incidence of *C. lindemuthianum* in bean seeds treated with Phenyl S Citral and Phenyl Se Citronellal. Different concentrations of the semisynthetic compounds (1%, 0.5%, 0.25%, 0.125%, 0.0625%, 0.03125%, 0.015625%, 0.0078125% and 0.00390625%) were tested. The inhibition of the mycelial growth of the fungus was evaluated in order to prospect the compounds. Phenyl Se Citronellal at 0.5% concentration controlled 100% of mycelial growth and Phenyl S Citral at 0.5% and 1% concentrations controlled more than 50% of mycelial growth of *C. lindemuthianum*. Based on the results of prospection of the semisynthetic compounds, the concentrations that presented good performance (0.125% and 0.0625%) but did not offer risk of phytotoxicity to the seedlings were used in the next experiments. The treatment with Phenyl S Citral and Phenyl Se Citronellal does not affect the physiological quality of bean seeds, while increasing the seedling development when using the 0.0625% concentration of Phenyl Se Citronellal. Seed treatment with Phenyl Se Citronellal at both concentrations decreased the incidence of *C. lindemuthianum* in batches with up to 4% fungal infection. The antimicrobial properties of compounds obtained from citronella and lemon grass suggest their use to protect crops against pathogenic fungi, which this subject deserves further scientific study.

Keywords: Anthracnose; *Phaseolus vulgaris* L.; semisynthetic compounds; alternative control; physiological and sanitary quality.

Lista de Figuras

Figura 1 – Crescimento micelial de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> após 15 dias de incubação sem contato com o composto e com contato do composto semissintético Phenyl Se Citronellal	33
--	----

Lista de Tabelas

Tabela 1. Porcentagem de inibição (%) do crescimento do fungo <i>C. lindemuthianum</i> submetido a diferentes concentrações de DMSO, Phenyl S Citral, Phenyl Se Citronellal e Citral.....	30
Tabela 2. Taxa de esporulação ($\times 10^4$) do fungo <i>C. lindemuthianun</i> , submetido a diferentes concentrações de DMSO, Phenyl S Citral, Phenyl Se Citronellal e Citral.	34
Tabela 3. Média das variáveis de qualidade fisiológica de sementes e de plântulas de feijão provenientes de sementes tratadas com Phenyl S citral e Phenyl Se citronellal em concentrações de 0,125% e 0,0625%.	37
Tabela 4. Média das variáveis de qualidade fisiológica de sementes e plântulas de feijão provenientes de sementes tratadas com Phenyl S citral e Phenyl Se citronellal em concentrações de 0,125% (C1) e 0,0625% (C2).	38
Tabela 5. Comparação de médias da interação entre níveis de inoculação e tratamentos, da variável incidência de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	41

Sumário

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1	EXPERIMENTO 1: PROSPECÇÃO DE COMPOSTOS SEMISSINTÉTICOS MODIFICADOS A PARTIR DO ÓLEO DE CITRONELA E CAPIM LIMÃO.....	23
3.2	EXPERIMENTO 2: DESEMPENHO INICIAL DE PLÂNTULAS DE FEIJÃO TRATADAS COM PHENYL S CITRAL E PHENYL SE CITRONELLAL.....	25
3.2.1	<i>Sementes utilizadas.....</i>	<i>25</i>
3.2.2	<i>Aplicação de compostos semissintéticos.....</i>	<i>25</i>
3.2.3	<i>Parâmetros analisados</i>	<i>26</i>
3.3	EXPERIMENTO 3: AVALIAÇÃO DA INCIDÊNCIA DE <i>C. LINDEMUTHIANUM</i> EM SEMENTES DE FEIJÃO TRATADAS COM PHENYL S CITRAL E PHENYL SE CITRONELLAL.....	28
3.3.1	<i>Inoculação artificial de sementes de feijão</i>	<i>28</i>
3.3.2	<i>Avaliação da incidência</i>	<i>28</i>
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1	EXPERIMENTO 1: PROSPECÇÃO DE COMPOSTOS SEMISSINTÉTICOS MODIFICADOS A PARTIR DO ÓLEO DE CITRONELA E CAPIM LIMÃO.....	29
4.2	EXPERIMENTO 2: DESEMPENHO INICIAL DE PLÂNTULAS DE FEIJÃO TRATADAS COM PHENYL S CITRAL E PHENYL SE CITRONELLAL.....	36
4.3	EXPERIMENTO 3: AVALIAÇÃO DA INCIDÊNCIA DE <i>C. LINDEMUTHIANUM</i> EM SEMENTES DE FEIJÃO TRATADAS COM PHENYL S CITRAL E PHENYL SE CITRONELLAL.....	40
5	CONCLUSÕES	44
6	REFERÊNCIAS.....	45

1 Introdução

A antracnose, causada por *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc & Magnus) Lams.-Scrib é a principal doença fúngica da cultura do feijão. É uma doença transmitida essencialmente via sementes, com alto potencial destrutivo em regiões onde o clima favorece, como temperatura moderadamente baixa e alta umidade relativa do ar (PADDER et al., 2017).

A doença pode causar danos de até 100% no rendimento de grãos em cultivares suscetíveis e pode comprometer a qualidade das sementes (GOTIJO NETO et al., 2016; PEREIRA, 2018). O principal meio de sobrevivência e disseminação de *C. lindemuthianum* são as sementes, representando ameaças ao estabelecimento da cultura. Nas lavouras, sementes infectadas podem reduzir o estande inicial e, em casos mais severos, podem causar a morte da plântula, pois nesta fase os tecidos da plântula ainda estão em formação, apresentando pouca lignificação ficando as plântulas mais vulneráveis ao ataque do patógeno (SINGH; SCHWARTZ, 2010; SILVA et al. 2013; CAMPA et al., 2014; MIGLIORINI, 2018).

Práticas de manejo da cultura visando o controle da doença incluem uma série de medidas, tais como a rotação de culturas, uso de cultivares resistentes, uso de fungicidas sintéticos para tratamento de sementes e pulverização da parte aérea. No entanto, o uso sequencial de fungicidas sintéticos pode levar à seleção de indivíduos resistentes a determinados grupos químicos (SINGH; SCHWARTZ, 2010; CRUZ et al., 2014; TRABANCO et al., 2015). Assim, outras estratégias, como o uso de medidas alternativas, são importantes para reduzir os danos da doença.

Uma classe de substâncias de fonte natural que tem sido alvo de vários grupos de pesquisa em ciências farmacêuticas, alimentícias e agrárias são os óleos essenciais. A composição complexa de compostos voláteis apresenta atividade antifúngica, antibacteriana, antioxidante, inseticida e antimicrobiana. Porém, sua ação depende dos componentes majoritários dos óleos essenciais. No geral, o seu modo de ação pode provocar a inibição e morte do microrganismo por romper a membrana celular, resultando na inibição do transporte de elétrons e afetando a translocação de proteínas, a fosforilação e outras atividades enzimáticas. Isto provoca a destruição da integridade da membrana celular, culminando com a morte microbiana (LENARDÃO et al., 2015).

Compostos do metabolismo secundário presentes no extrato bruto ou óleo essencial de citronela e capim limão podem desempenhar funções importantes no controle de fitopatógenos por meio da ação antimicrobiana direta ou por meio da inibição do crescimento micelial e da germinação de esporos (OLANDA, 2014). O controle pode ocorrer também por meio da ativação dos mecanismos de defesa das plantas tratadas com a indução de fitoalexinas, indicando a presença de compostos com característica de elicitores e ação fungitóxica (STANGARLIN et al., 2011).

Uma limitação na utilização dos óleos essenciais é a ampla variação na constituição da molécula (BRUM, 2012). É com base nesses entraves que tecnologias inovadoras envolvendo a síntese e a modificação química de compostos naturais vêm sendo divulgadas no controle de muitos patógenos. A síntese de compostos semissintéticos permite melhorar as atividades biológicas apresentadas pelas moléculas naturais e não modificadas diminuindo a volatilização do óleo essencial e proporcionando maior incremento quando aplicado às culturas (CHAKRAVORTY, 2012).

A adição de um elemento químico sintético à estrutura do componente majoritário de um óleo essencial pode aumentar seu desempenho. O selênio (Se), utilizado como elemento adicionado a estes compostos, não é considerado um nutriente essencial para as plantas superiores, mas desempenha um papel benéfico, especialmente em reduzir estresses abióticos e retardar o processo de senescência nas plantas (PRAUCHNER, 2014; OLIVEIRA et al., 2016; MONDO et al., 2016; RUFINO et al., 2017).

Para muitas culturas, o enxofre desempenha papel importante na nutrição, auxiliando no crescimento da planta e, conseqüentemente, no aumento da produtividade. Ele é importante também para a biossíntese de compostos antimicrobianos responsáveis pela proteção das plantas ao ataque de patógenos e maior resistência a várias doenças (FORNEY et al., 2010; BAYOUMI et al., 2018).

Por outro lado, um dos grandes problemas na utilização de novas moléculas está na determinação da dose efetiva, pois muitas vezes a dose efetiva para controlar o patógeno pode gerar fitotoxicidade na planta. As reações de fitotoxicidade dependem da espécie da planta na qual o óleo essencial está sendo aplicado, sua concentração, sua idade e seu estágio de desenvolvimento. Quanto maior a dose

aplicada maior a probabilidade de ocorrer um efeito fitotóxico à planta (FIALHO et al., 2015).

A exploração da atividade biológica destes compostos pode constituir uma forma efetiva de controle de doenças em plantas cultivadas. Porém, pouco se sabe sobre a eficiência destes no controle de fitopatógenos de importância agrícola, bem como, a melhor forma de aplicação destes nos cultivos agrícolas, se é via pulverização ou tratamento das sementes, ainda não está definida e requer mais estudos. No entanto, o tratamento de sementes é uma das formas ambientalmente mais eficientes no controle de patógenos, visto a pequena quantidade de produto que é liberado no meio, além de que algumas moléculas modificadas podem conter elementos que melhoram o desempenho inicial da cultura, conferindo à planta condições de defesa (AGUIAR et al., 2017).

Assim, o tratamento de sementes de feijão com compostos semissintéticos pode ser potencialmente benéfico para reduzir a incidência do *C. lindemuthianum* nas sementes e favorecer o desenvolvimento das plântulas, seja pela redução do inóculo transmitido pelas sementes que poderá levar à morte da mesma, ou por fortalecer a defesa da planta contra o ataque de patógenos nos estádios iniciais da cultura. Além dos efeitos benéficos, é importante conhecer se as doses que são eficientes no controle do fungo não alteram o potencial fisiológico das sementes após o tratamento (TUNES et al., 2014; MIGLIORINI, 2018).

Diante deste contexto, neste estudo foi realizada a prospecção de três compostos semissintéticos para o controle do fungo *C. lindemuthianum*, bem como a avaliação dos potenciais fisiológico e sanitário de sementes de feijão tratadas com as melhores doses e moléculas identificadas a partir do estudo de prospecção

2 Revisão de literatura

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é um dos alimentos mais importantes para a nutrição humana, sendo cultivado e consumido em todos os continentes, destacando-se por sua produção e área de cultivo, desempenhando um papel importante pelo seu valor social e econômico (POLANCO, 2011; LOVATO, 2018). No mundo, de acordo com dados da FAOSTAT (2017), o feijão ocupa uma área em torno

de 30 milhões de hectares. Anualmente, são produzidas 30 milhões de toneladas da cultura, sendo cerca de 60% desta produção oriunda do sistema de cultivo familiar garantindo significativa fonte de renda (FAOSTAT, 2017).

O Brasil desponta como grande produtor de feijão, ocupando o terceiro lugar na produção mundial com 3,033 milhões de toneladas no ano-safra de 2017/2018 em 3,175 milhões de hectares de área plantada em diversos sistemas de cultivo. O país ocupa o quarto lugar em área cultivada, antecedido pela soja, milho e trigo (FAOSTAT, 2017; CONAB, 2019). A região Sul do Brasil é a maior produtora do grão, responsável por cerca de 94% da produção nacional. Aproximadamente 587 mil toneladas são produzidas no Paraná, 127 mil toneladas em Santa Catarina e 108 mil toneladas no Rio Grande do Sul (CONAB, 2018).

O feijão, durante todo o seu ciclo de cultivo, pode ser afetado por diversas doenças que reduzem a qualidade e a produção dos grãos, tornando-se um fator limitante na produtividade da cultura. Dentre as principais doenças que acometem a cultura do feijoeiro está a antracnose, ocasionada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scribner (PADDER et al., 2017; PEREIRA et al., 2018). Atualmente, é encontrada em todos os continentes, sendo mais agressiva em zonas tropicais e subtropicais sendo citada nos últimos anos como a doença mais frequente nas regiões produtoras do grão.

A gravidade da doença depende em grande parte das condições climáticas. A doença é mais acentuada em anos com alta umidade relativa do ar, precipitação frequente e temperaturas moderadas. Quando aliado a estes fatores, propícios ao desenvolvimento da doença, e à suscetibilidade das várias cultivares em uso, os danos gerados pelo fungo podem ocasionar perdas de até 100% da produção (PASTOR-CORRALES; TU, 1989; LENÉ, 1992; BALARDIN, 1997; MARTINS et al., 2019).

O agente causal sobrevive em restos culturais, no próprio hospedeiro ou em outras plantas hospedeiras. Como os propágulos desse fungo são disseminados por respingos de água, a ação do patógeno é favorecida pela alta umidade, principalmente quando há chuvas abundantes. Temperaturas entre 22 °C e 27 °C favorecem a produção de esporos. Em períodos de temperaturas mais baixas, a importância da

doença diminui, sendo pequena a sua incidência nos meses de inverno, mesmo que ocorram chuvas (PADDER et al., 2017; PEREIRA et al., 2018).

O *C. lindemuthianum* produz micélio septado e ramificado, de coloração hialina a quase negra, à medida que envelhece. Os conídios são hialinos, unicelulares, podendo ser oblongos, cilíndricos, com pontas arredondadas ou uma delas pontiaguda, medem de 2,5-5,5 x 11-20 µm e podem apresentar área clara semelhante a um vacúolo central. A massa de esporos formada nos acérvulos possui coloração rósea ou salmão. Os conidióforos são hialinos, eretos, sem ramificações, com comprimento de 40 a 60 µm. A fase sexuada, *Glomerella cingulata* f. sp. *phaseoli*, dificilmente se desenvolve em condições de campo. Entretanto, esta fase é considerada responsável por proporcionar alta variabilidade ao patógeno, devido às diferentes combinações alélicas, resultantes de mutações (BIANCHINI et al., 2005; DARBEN, 2010).

O fungo pode infectar diferentes estádios da cultura, causando lesões necróticas em plântulas, folhas, caules, vagens e sementes, podendo levar até a morte da planta (RIBEIRO et al., 2016). As lesões variam de arredondadas a ovaladas deprimidas, apresentam manchas de coloração pardo-avermelhada a laranja-avermelhado, delimitada por um anel mais escuro (SILVA, 2011). Os sintomas são mais evidentes nas vagens, onde as manchas castanho-alaranjadas desenvolvem-se nos estágios iniciais da infecção do patógeno seguidas por lesões marrom-escuras características da progressão da infecção, apresentando a borda marrom-avermelhada (CRUZ et al., 2014).

O fungo *C. lindemuthianum* destaca-se como o principal patógeno das sementes de feijão, sendo elas um importante meio de disseminação, sobrevivência e transmissão do fungo. Através das sementes pode ocorrer a introdução do patógeno em áreas isentas, bem como a introdução de raças mais agressivas e de maior inóculo em áreas já infestadas. A quantidade de inóculo inicial nas sementes pode constituir focos primários de infecção no cultivo e, conseqüentemente, reduzir a qualidade fisiológica do produto, além de influenciar na epidemia das doenças (GADAGA, 2017; DANIELLI et al., 2011).

O uso de sementes livres do patógeno é umas das principais medidas de controle de doenças. Porém, a taxa de utilização de sementes certificadas é mínima,

cerca de 19%, a mais baixa dentre as culturas, o que pode ser explicado pelo fato da grande maioria dos produtores serem de pequeno porte (MIGLIORINI, 2018). Os outros 81% utilizados para a implantação das lavouras não são provenientes da aquisição de sementes certificadas, o que pode comprometer toda a cadeia produtiva, uma vez que estas sementes não seguem os padrões estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para a sua produção e comercialização (MAPA, 2013; ABRASEM, 2018; MIGLIORINI, 2018). Com isso, a qualidade das sementes não é garantida, devido à procedência duvidosa, a qual pode afetar a capacidade de desempenhar funções vitais relacionadas à germinação e ao vigor. A procedência de sementes sem certificação pode provocar alto índice de contaminação por patógenos, culminando em perdas na produção e produtividade da cultura (GADAGA, 2017; SUZANA et al., 2017).

Devido à importância das sementes como a principal fonte de inóculo primário de *C. lindemuthianum*, o nível de tolerância desse patógeno em lotes de sementes proposto pelo Grupo Técnico Permanente em Sanidade de Sementes (GTPSS), do MAPA seria Zero (MENTEN et al., 2006). No entanto, estudos têm demonstrado elevados níveis de inóculo nas sementes de feijão, correlacionando-os com o aumento da severidade da doença em campo. O fungo pode apresentar elevadas taxas de transmissão, sendo reportados percentuais acima de 60% (SANTOS et al., 1996; YESUF; SANCHOTE, 2005; REY et al., 2009).

Diferentes formas de controle do fungo podem ser adotadas para reduzir a disseminação, desde a rotação de cultura, utilização de cultivares resistentes, nutrição mineral e aplicação de fungicidas sintéticos (POLANCO, 2011; MIGLIORINI, 2018). Atualmente, o controle da antracnose no feijão é realizado através do tratamento convencional com agrotóxicos sistêmicos ou de contato. A aplicação de agrotóxicos traz efeitos imediatos, tais como redução das perdas na produtividade e maior oferta de alimentos. Porém, sua utilização pode resultar em diversos problemas, como o desenvolvimento da resistência do patógeno, contaminação do meio ambiente e contaminação dos alimentos. O tratamento de sementes e a produção de sementes livres do patógeno constitui o principal método para reduzir significativamente a extensão da doença (GADAGA, 2017).

Outro fator que dificulta o controle da antracnose está relacionado à ampla variabilidade genética do fungo, devido à ocorrência de várias raças de *C.*

lindemuthianum, o que dificulta a utilização de genes de resistência (SILVA et al., 2013). Em virtude desses fatores negativos, pesquisadores têm direcionado seus esforços na busca por medidas de controle menos agressivas e mais favoráveis à saúde e ao meio ambiente, o que tem aumentado o número de estudos com substâncias alternativas cujas propriedades são capazes de inibir o crescimento e desenvolvimento desses microrganismos, além de apresentarem baixo impacto ambiental. Sistemas de cultivo mais sustentáveis e menos dependentes do uso de agrotóxicos têm sido desenvolvidos.

Muitos produtos naturais, dentre os quais os extratos e os óleos essenciais de plantas medicinais, condimentares e aromáticas, apresentam potencial para o manejo de doenças de plantas. As substâncias bioativas presentes nessas plantas são produzidas a partir do metabolismo secundário, variando a intensidade e a composição de acordo com a espécie (ABREU e NERY, 2015). A biossíntese desses metabólitos é realizada por rotas metabólicas específicas do organismo. A relação dessas rotas com a síntese dos metabólitos primários é estreita, uma vez que esta síntese fornece moléculas precursoras para as principais rotas de produção dos compostos secundários (CASTRO et al., 2004a).

De acordo com Bakkali et al. (2008), os óleos essenciais são compostos complexos, naturais, voláteis, caracterizados por um forte odor. Podem ser sintetizados por todos os órgãos das plantas. Na natureza, eles desempenham papel importante na proteção das plantas como antibacterianos, antivirais, antifúngicos e inseticidas. Esses óleos podem ser formados por cem ou mais compostos orgânicos, sendo os monoterpenos e sesquiterpenos os compostos encontrados com maior frequência (CASTRO et al., 2004b; CASTRO et al., 2010).

A atividade biológica dos óleos essenciais e de seus constituintes pode atuar como agentes fungistáticos e/ou fungicida, dependendo das concentrações utilizadas (FONSECA et al., 2015; GARCIA et al., 2012). O mesmo óleo pode ser ativo contra um amplo espectro de espécies de microrganismos. Porém, as concentrações mínimas inibitórias (CMI) podem variar dependendo da fonte de óleo essencial (ANTUNES e CAVACOB, 2010). Devido à composição complexa dos óleos essenciais, o seu modo de ação, que provoca a inibição e/morte dos microrganismos, envolve diferentes mecanismos, onde todos os componentes da célula tornam-se possíveis alvos de atuação desses óleos e em geral, depende dos seus componentes

majoritários (ABREU e NERY, 2015). Ao encontro de uma agricultura mais limpa, estes óleos apresentam maior biodegradabilidade, sendo, portanto, menos prejudiciais ao meio ambiente (OOTANI et al., 2011).

O óleo essencial de capim citronela (*Cymbopogon nardus*) apresenta atividade repelente e ação bactericida e fungicida. Sua fungitoxicidade deve-se à presença de monoterpenos e sesquiterpenos. A produção desses metabólitos secundários pode variar em função das relações ecológicas e genéticas da planta (OOTANI et al., 2011; CASTRO et al., 2010). Oliveira et al. (2011) avaliaram a composição química do óleo essencial de citronela e observaram como compostos majoritários citronelal, geraniol e citronelol, destacando entre eles o citronelal. Castro et al. (2010) apresentaram como compostos majoritários, estudando a mesma espécie de planta, o citronelol, geraniol e elemol, sendo o geraniol destaque entre os outros compostos. Os monoterpenos citronelal e geraniol atuam na defesa da planta e podem inibir o crescimento de fungos (CASTRO et al., 2007).

Em virtude da ampla variação da constituição da planta, estudos estão sendo desenvolvidos a fim de adicionar ou substituir os compostos aditivos sintéticos, como selênio e enxofre, para potencializar o efeito protetor. Diversos trabalhos descrevem a biotransformação do citronelal, do citral e do citrol em compostos industrialmente aplicáveis. Novos compostos de organosselênio derivados de (*R*)-citronelal, o principal constituinte do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle), indicaram que α -fenilselênio citronelal e fenilselênio citronelol foram potenciais agentes antimicrobianos (VICTORIA et al., 2009).

Estudos com os compostos semissintéticos Phenyl Se Citronellal e Phenyl S Citral no controle de fitopatógenos são escassos. Por isso, fazer comparações diretas torna-se difícil. Grande parte dos estudos com esses compostos, e até mesmo em sua forma natural, já foi conduzida com agentes patogênicos de humanos ou de alimentos. Encontram-se estudos com este composto semissintético na área de neurobiotecnologia, onde o grupo de pesquisa da UFPel nesta área (VICTÓRIA et al., 2014) estudaram as atividades antioxidantes e antidepressivas do composto α -Phenylselênio Citronellal e Citronellal. O potencial biológico foi avaliado *in vitro* e os resultados demonstraram que a adição de um grupo organosselênio a (*R*) Citronellal aumentou suas propriedades antioxidantes, uma vez que o Phenylselênio Citronellal

apresentou melhor atividade que o Citronelal. Esses dados demonstram o papel do selênio nas atividades antioxidantes e antidepressivas de (R) Citronelal.

Em outro trabalho realizado pelo grupo de pesquisa, Victória et al. (2012) estudaram as atividades antimicrobianas de α Phenylseleno Citronellal e de α Phenylseleno Citronelol, dois novos derivados de óleo de citronela contendo selênio. A presença do grupo fenilselênio na molécula Citronelal aumentou a atividade antimicrobiana, em comparação com um terpeno natural não substituído.

A fim de investigar o uso de compostos antimicrobianos semissintéticos, um novo composto, 3-(p-clorofenil) tio citronelal, derivado do óleo essencial de *C. citratus*, foi avaliado contra bactérias patogênicas de alimentos (GOLDBECK et al., 2014). Este estudo também avaliou os possíveis mecanismos de ação e alvos celulares. Foi observado que o 3- (p-clorofenil) tio citronelal é um potencial agente antimicrobiano com atividade bactericida contra diferentes bactérias patogênicas e de deterioração, das quais as espécies Gram-positivas foram as mais sensíveis. Adicionalmente, este estudo mostrou que a adição de tiol aumenta a bioatividade do citral. Testes *in vitro* mostraram que o composto não apresenta toxicidade. As imagens de microscopia eletrônica de varredura mostraram dano celular com a formação de poros na parede e membrana celular, possivelmente os alvos celulares do composto.

O selênio é um micronutriente essencial para vários organismos devido às suas propriedades antioxidantes. No entanto, por muito tempo, era considerado um elemento tóxico para animais e plantas, independente da sua concentração, e responsável pela inviabilidade de áreas agrícolas. Sua estreita faixa entre os teores benéficos e tóxicos é motivo para diversas pesquisas científicas. De acordo com Malavolta (2006), o selênio é um micronutriente essencial para que a planta complete seu ciclo de vida. Embora não seja considerado um nutriente essencial para plantas superiores, estudos mostram que o selênio em baixas concentrações ($< 0,5\text{mg kg}^{-1}$) proporciona efeitos benéficos para as plantas não-hiperacumuladoras por parte dos sistemas de defesa antioxidantes e melhora a tolerância ao estresse abiótico (ANDRADE et al., 2018). A aplicação de selênio pode aumentar o crescimento da planta e minimizar os efeitos causados por estresses abióticos como seca, salinidade e altas temperaturas ou devido à presença de elementos potencialmente tóxicos às plantas (NAWAZ et al., 2015; JIANG et al., 2017; REIS et al., 2017; REIS et al., 2018).

Na agricultura, o enxofre é largamente utilizado tanto no controle de doenças quanto para a nutrição da planta. O enxofre, juntamente com cal líquida, foi o primeiro fungicida erradicante utilizado para controlar a crespeira em pessegueiro. O enxofre faz parte da primeira e da segunda gerações de fungicidas protetores inorgânicos e orgânicos. Os fungicidas da segunda geração são os mais utilizados atualmente no controle de doenças de plantas, possuindo amplo espectro de ação. Na nutrição da planta, o enxofre atua em inúmeras áreas, dentre elas: no desenvolvimento de enzimas e vitaminas, na formação de proteínas e nitrogenases e no aumento da resistência ao déficit hídrico. O enxofre está presente em vários compostos orgânicos que dão os odores característicos do alho, da mostarda e da cebola (ESFREDO e LANTMANN, 2007). As quantidades de enxofre requeridas pelos vegetais e seu teor nas diversas espécies e partes da planta muitas vezes ultrapassam as quantidades requeridas de fósforo. A cultura do feijão, por exemplo, requer enxofre em quantidade de 25 kg ha⁻¹ (BORKERT, 1988; MALAVOLTA, 1982).

Tendo em vista a preocupação com o meio ambiente, torna-se interessante a busca de novas estratégias, devido às aplicações de resíduos de agrotóxicos cada vez maior, aliado ao potencial de dano desse patógeno, uma tecnologia limpa de baixo impacto ambiental utilizando insumos renováveis pode substituir os derivados de petróleo. A utilização de moléculas químicas sintetizadas a partir do óleo essencial de citronela e capim limão pode complementar a redução do dano à cultura do feijão, principalmente durante o estabelecimento inicial das plântulas.

Não há na literatura nenhuma informação a respeito do efeito de compostos semissintéticos no controle da antracnose do feijoeiro. Deste modo, a prospecção de compostos é uma área que pode ser de grande valia na busca por uma agricultura saudável e sustentável para sociedade.

3 Material e métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Patologia de Sementes/Fungos Fitopatogênicos (PLSFF) e no Laboratório de Ciência e Tecnologia de Sementes da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (FAEM-UFPel), no município de Capão do Leão - RS. O isolado fúngico de *C.*

lindemunthianum utilizado nos estudos pertence à coleção do LPSFF, FAEM-UFPel. O isolado foi coletado em Seberi, região central do estado do Rio Grande do Sul, sendo obtido de vagens de feijão.

As moléculas utilizadas pertencem ao Laboratório de Química Orgânica – UFPel, sintetizadas a partir dos óleos de citronela (*Cymbopogon nardus*) e capim limão (*Cymbopogon citratus*) e modificadas quimicamente quanto à sua estrutura, Phenyl S Citral, Phenyl Se Citronellal e Citral.

3.1 Experimento 1: Prospecção de compostos semissintéticos modificados a partir do óleo de citronela e capim limão

Para prospecção das moléculas sob o desenvolvimento do fungo, foram avaliados crescimento micelial, esporulação e características macroscópicas das colônias. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3×9, em que o fator A consistiu nas moléculas Phenyl S Citral, Phenyl Se Citronellal e Citral e o fator B por 9 concentrações (g 100 mL⁻¹): 1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,0625%, 0,03125%, 0,015625%, 0,0078125% e 0,00390625%, com quatro repetições independentes. Foram utilizados meio sem moléculas (testemunha) e meio acrescido de dimetilsulfóxido (DMSO) como controles.

Para avaliar o crescimento micelial e a morfologia macroscópica das colônias fúngicas, uma alíquota de 100 µL das diferentes moléculas e concentrações foram espalhadas com o auxílio de uma alça de Drigalski em placas contendo meio Mathur solidificado. Posteriormente, um disco (5 mm) do fungo foi transferido para o centro da placa a partir de colônias jovens (dez dias de crescimento). As placas foram mantidas em sala de incubação em temperatura de 22±1 °C e fotoperíodo de 12 h.

Para o crescimento micelial, as avaliações foram realizadas diariamente a partir do terceiro dia de incubação com o auxílio de um paquímetro digital, levando-se em consideração a média de dois diâmetros ortogonais das colônias em desenvolvimento, até o décimo quinto dia de crescimento. A partir destes dados, foi avaliado o valor da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) (Equação 1), de acordo com Mccalley et al. (1992):

$$PIC = \frac{(\text{Crescimento da testemunha} - \text{Crescimento do tratamento})}{\text{Crescimento da testemunha}} \times 100 \quad (1)$$

Após a avaliação da PIC, as placas retornaram para sala de incubação por mais sete dias nas mesmas condições iniciais. Após esse período, foi realizada a avaliação das características macroscópicas das colônias como: forma, margem e elevação de acordo com a chave descrita por Microbiology Society (2016, Anexo 1) e cor predominante da colônia com auxílio da escala de Munsell (1979).

Para a avaliação da esporulação do fungo nos diferentes compostos e doses, oito discos de micélio de 5 mm de diâmetro foram retirados com auxílio de um vazador de maneira igual para todas as colônias após 21 dias de incubação e colocados em tubos de ensaio com 5 mL de água estéril autoclavada e agitados por 10 s em vórtex. Posteriormente, as suspensões foram retiradas para a contagem de esporos com auxílio da câmara de Neubauer (400X), conforme adaptação de metodologia descrita por Fregonesi et al. (2016).

A partir dos dados de PIC e esporulação, foram construídos gráficos para conhecer qual a molécula e qual a concentração mais eficiente no controle do patógeno. A coloração das culturas foi descrita conforme o sistema de Munsell Color Company de anotação de cores para comparação durante a avaliação visual das colônias eliminando assim a subjetividade nas avaliações.

As variáveis respostas, crescimento micelial e esporulação, foram submetidas à comparação de média pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação entre os tratamentos e para verificar se houve interação significativa a 0,01% de probabilidade de erro. Portanto, foi feito desdobramento da interação com análise de regressão para estudar o efeito de doses das moléculas, dentro de cada molécula, e comparação de médias entre as moléculas, dentro de cada dose testada. Os dados foram submetidos à análise estatística pelo programa estatístico RStudio (R), versão 3.5.1.

A partir dos resultados de prospecção dos compostos semissintéticos, as doses que apresentaram bom desempenho mas que não oferecessem risco de fitotoxidez foram utilizadas nos experimentos seguintes para verificar a eficiência dessas no controle do fungo associado às sementes de feijão e também na melhoria do desempenho fisiológico das sementes.

3.2 Experimento 2: Desempenho inicial de plântulas de feijão tratadas com Phenyl S Citral e Phenyl Se Citronellal

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial com quatro repetições, onde os fatores foram constituídos de seis tratamentos, controle negativo com piraclostrobina + tiofanato-metílico, mais a testemunha. Foi feita a análise dos pressupostos da análise de variância. Quando os pressupostos não foram atendidos, os dados foram transformados e os pontos fora da curva foram eliminados, quando necessário. Após, foi feita a análise de variância dos dados, e quando significativa a 5% de probabilidade, foi feita a análise de comparação de médias pelo teste de Tukey a 5%.

3.2.1 Sementes utilizadas

Foi utilizada para os experimentos a cultivar de feijão IPR Tuiuiú (IAPAR, 2010). A desinfestação superficial das sementes foi realizada por meio de banhos sequenciais de 60 s com álcool 70% (v/v), seguido de hipoclorito de sódio 1% (v/v) e três banhos de água destilada e esterilizada (JUNGES et al., 2017). Após teste inicial de germinação e sanidade, obteve-se 88% de germinação e incidência zero por *C. lindemuthianum*. Em seguida à desinfestação e concomitantemente aos testes de germinação e sanidade, as sementes foram postas para secar sob papel filtro em temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) durante 24 h, sendo posteriormente submetidas ao processo de inoculação artificial.

3.2.2 Aplicação de compostos semissintéticos

Os compostos semissintéticos utilizados foram Phenyl S Citral e Phenyl Se Citronellal nas concentrações de 0,125% e 0,0625%. A forma de aplicação dos compostos foi através do tratamento das sementes, na dose de 200 mL de produto para 100 kg de semente e água, totalizando um volume de calda de 1 L para 100 kg de sementes. O processo de tratamento foi realizado manualmente em sacos plásticos de polietileno. Para tal, 0,08 mL de composto semissintético e 1,92 mL de água foram homogeneizados e, em seguida, foram adicionados 0,04 kg de sementes, seguido de agitação manual dos sacos por 2 min até que o produto ficasse

completamente aderido à semente. Em seguida, os sacos contendo as sementes tratadas foram abertos e as sementes foram colocadas para secar a 20 °C por 48 h. No tratamento testemunha, as sementes somente receberam 2 mL de água esterilizada.

3.2.3 Parâmetros analisados

Na avaliação do desenvolvimento inicial da cultura, as seguintes variáveis foram mensuradas: germinação (G), primeira contagem do teste de germinação (PCG), índice da velocidade de emergência (IVE), comprimento total da plântula (CTP), comprimento de parte aérea (CPA) e de raiz (CR), massa seca total (MST), massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), massa fresca de raiz (MFR), massa fresca de parte aérea (MFPA) e massa fresca total (MFT). A qualidade fisiológica foi realizada com o intuito de verificar a fitotoxidez no desenvolvimento inicial das plântulas.

A avaliação da germinação foi realizada com quatro repetições de 50 sementes por tratamento, semeadas em rolo de papel germitest, umedecidas com água destilada na proporção de 2,5 vezes a massa do papel e acondicionadas em germinador a 25 ± 2 °C. A contagem de plântulas normais foi realizada aos cinco e nove dias após a instalação do teste e os resultados foram expressos em porcentagens. O teste de primeira contagem de germinação foi realizado conjuntamente com o teste de germinação. Ele constituiu no registro da porcentagem de plântulas normais verificadas no quinto dia após a semeadura, sendo os resultados expressos em porcentagens de plântulas normais (BRASIL, 2009).

A avaliação da emergência de plântulas foi realizada com 200 sementes por tratamento, distribuídas em quatro repetições de 50 sementes. Cada repetição foi composta de uma bandeja plástica de aproximadamente 4 L com dimensões de 29,5 cm de comprimento, 21 cm de largura e 7 cm de altura, contendo vermiculita estéril. Em cada bandeja foram semeadas 50 sementes na profundidade de 2 cm. A vermiculita foi umedecida com água, obedecendo a capacidade de campo de 60% da retenção e conservada úmida sempre que necessário. Os tratamentos foram mantidos em ambiente controlado com temperatura de 25 ± 1 °C e fotoperíodo de 12h. A avaliação foi realizada diariamente até 15 dias após a semeadura (DAS), sendo

consideradas, na emergência final, plântulas normais emergidas aquelas que apresentavam as folhas primárias expandidas, com resultados expressos em porcentagens.

Os dados da avaliação diária da emergência foram utilizados para determinar o IVE. Para tal, para cada repetição foi aplicada a fórmula de Maguire (1962), de acordo com a Equação (2):

$$\text{IVE} = (E1/N1) + (E2/N2) + \dots + (En/Nn) \quad (2)$$

Onde: IVE = índice de velocidade de emergência; E1, E2, En: número de plântulas normais computadas na primeira, segunda e última contagens e N1, N2, Nn: número de dias entre a semeadura e a primeira, segunda e última contagens.

A determinação do comprimento de parte aérea, da raiz e do total da plântula foi realizada de modo similar ao usado no teste de germinação, sendo avaliada no quinto dia após a montagem do teste, em quatro subamostras de 10 plântulas para cada tratamento. As plântulas foram amostradas aleatoriamente a partir da semeadura de 20 sementes por repetição no terço superior da folha de papel germitest, umedecidas com água destilada com 2,5 vezes a massa do papel.

Os rolos foram acondicionados em germinador à 25 ± 2 °C. Determinaram-se as mensurações com auxílio de régua graduada em milímetros, sendo o comprimento da raiz obtido pela subtração do comprimento total pelo comprimento da parte aérea. Os resultados foram expressos em centímetros (NAKAGAWA, 1999). A determinação da massa seca de parte aérea, massa seca de raiz e massa seca total foi realizada nas plântulas normais avaliadas no teste de comprimento.

Foram separadas a raiz e a parte aérea das plântulas de cada repetição e secas em estufa a 70 °C, até o peso constante, obtido em 72 h. A massa seca total foi obtida pelo somatório do peso da massa seca de raiz e massa seca de parte aérea, sendo os resultados expressos em gramas (NAKAGAWA, 1999).

3.3 Experimento 3: Avaliação da incidência de *C. lindemuthianum* em sementes de feijão tratadas com Phenyl S Citral e Phenyl Se Citronellal

Este experimento foi similar ao experimento 2, com a mesma cultivar e método de tratamento de sementes, porém foi feito com dois níveis de infecção do patógeno. O experimento foi submetido à uma análise de variância em esquema fatorial, com comparação de média pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Atendendo à normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk com interação significativa, houve o desdobramento da interação para comparação dos tratamentos dentro de cada nível e dos níveis dentro de cada nível de tratamento.

3.3.1 Inoculação artificial de sementes de feijão

Foi utilizado para inoculação das sementes o isolado CL16 de *C. lindemuthianum*. O fungo foi repicado em placas de Petri contendo meio de cultura Mathur (TUIITE, 1969), modificado osmoticamente com soluto sacarose a -0,8 MPa, para evitar a germinação das sementes durante o processo de inoculação. Após a repicagem do fungo, as placas foram incubadas em câmara de crescimento à 22 ± 1 °C e fotoperíodo de 12 h por 7 dias. Posteriormente, as sementes de feijão foram distribuídas aleatoriamente sobre as placas e levemente prensadas sobre o meio completamente colonizado pelo fungo. O tratamento contendo sementes não inoculadas (artificialmente) com o fungo foi acondicionado somente sobre o meio de cultura modificado por 96h em temperatura de 22 °C e fotoperíodo de 12 h. Em seguida, as sementes foram removidas e distribuídas sobre papel filtro, em temperatura controlada de 20 °C por 48 h para que pudessem retornar ao teor de água inicial (REY, 2008).

3.3.2 Avaliação da incidência

Decorrido o período de inoculação, as sementes foram desinfestadas e avaliadas quanto à qualidade sanitária inicial, seguindo as Regras para Análise de Sementes. A partir desse resultado foram preparados lotes com diferentes níveis de infecção por *C. lindemuthianum*, correspondendo a 4% (N1) e 14% (N2). Na

sequência, as sementes foram submetidas ao processo de tratamento com os compostos semissintéticos e concentrações selecionados no estudo anterior.

A incidência de *C. lindemuthianum* em feijão foi determinada pelo método do rolo de papel, utilizando quatro repetições de 50 sementes (BRASIL, 2009b). As sementes foram distribuídas sobre folhas de papel germitest, umedecidas com água destilada na proporção de 2,5 vezes a massa do papel. Os rolos foram acondicionados em germinador, com temperatura controlada de 22 °C, permanecendo durante um período de 7 dias. A avaliação foi realizada no sétimo dia após a incubação, por meio da observação de lesões necróticas escuras nos cotilédones e no hipocótilo. Os resultados foram expressos em porcentagem de incidência (MAFFIA et al., 2007).

4 Resultados e discussão

4.1 Experimento 1: Prospecção de compostos semissintéticos modificados a partir do óleo de citronela e capim limão

Em relação à porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), pode-se observar na Tabela 1 que todas as doses avaliadas neste estudo apresentaram diferença significativa entre as moléculas, obtendo-se 100% de eficiência em um dos tratamentos (Phenyl Se Citronellal, a 0,5%). Percebe-se que, a partir da dose 0,0078%, o tratamento com o composto semissintético Phenyl Se Citronellal apresentou as maiores inibições no crescimento micelial do *C. lindemuthianum*, atingindo 100% de inibição quando exposto à concentração de 0,5%. Quando submetido às concentrações de 1% e 0,25% do tratamento com Phenyl Se Citronellal, o fungo apresentou crescimento inferior a 30%. O mesmo comportamento aconteceu para a concentração de 0,125%, sendo que houve redução do crescimento micelial em 67,45%. Adicionalmente, o composto semissintético Phenyl S Citral nas concentrações de 1% e 0,5% apresentou controle no crescimento micelial do fungo superior a 50%. O crescimento, na concentração maior (1%), sugere a adaptação do fungo ao composto semissintético. Entretanto, seu potencial no controle de *C. lindemuthianum* ficou evidente com a inibição total, na dose de 0,5%, ao final do período de avaliação.

Em relação ao composto semissintético Citral, houve maior porcentagem de inibição do crescimento micelial à medida que a concentração do composto foi aumentada. Embora ele tenha sido efetivo na inibição do crescimento de *C. lindemunthianum* em todas as concentrações estudadas, sua eficiência no controle não atingiu 50%. O principal componente do óleo essencial de capim limão é o citral, e a atividade antifúngica é uma propriedade proeminente desse óleo (SILVA et al., 2009). Além disso, Oliveira et al. (2011) relacionam o potencial antimicrobiano do óleo de capim limão aos seus principais componentes, os aldeídos monoterpênicos, neral e geranial.

Tabela 1. Porcentagem de inibição (%) do crescimento do fungo *C. lindemunthianum* submetido a diferentes concentrações de DMSO, Phenyl S Citral, Phenyl Se Citronellal e Citral.

	Concentração (%)								
	0,0039	0,0078	0,0156	0,0312	0,0625	0,125	0,25	0,5	1
DMSO	-0,12 ab	-1,54 c	-7,83 c	-2,20 b	3,40 b	1,88 c	3,11 c	3,46 c	9,28 c
Phenyl S Citral	-2,63 b	3,93 bc	4,90 b	11,01 a	44,77 a	41,36 b	40,06 b	50,60 b	54,91 b
Phenyl Se Citronellal	3,07 ab	21,23 a	23,29 a	10,84 a	46,23 a	67,45 a	74,73 a	100,00 a	77,98 a
Citral	6,10 a	6,08 b	4,86 b	15,77 a	41,32 a	42,91 b	42,28 b	45,23 b	48,38 b
Valor-p	0,0063*	<0,001**							

* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

** Significativo a 0,1% de probabilidade pelo teste F.

Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Para os tratamentos com os três compostos semissintéticos, as concentrações de 0,03125% e 0,0625% não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 1). Nas concentrações subsequentes (0,125%, 0,25%, 0,5% e 1%), o Phenyl Se Citronellal destacou-se diferindo dos outros dois compostos semissintéticos. Para o tratamento controle com DMSO, as concentrações de 0,0039% a 0,03125% apresentaram porcentagem negativa, indicando que o fungo teve crescimento superior à testemunha. No geral, para todos os tratamentos, há uma tendência entre as menores concentrações e as porcentagens de inibição do fungo, indicando menor eficiência de controle. Isso porque os óleos essenciais são voláteis e quanto mais diluídos menor será a ação dos componentes majoritários em função da volatilização do óleo.

Como exemplo da efetividade de óleos essenciais no controle direto sobre fitopatógenos, pode-se citar o trabalho desenvolvido por Agredo-Hoyos (2012), que evidenciou, assim como neste trabalho, atividade completa na inibição do crescimento micelial de duas raças de *C. lindemuthianum* por parte dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon martini* e *Eugenia caryophyllata* a 0,1%. No tratamento com fungicida, observou-se pouco crescimento micelial após quatro dias. Por meio da microscopia eletrônica de transmissão, verificou-se que *C. citratus*, *C. martini* e *E. caryophyllata* apresentaram ação antifúngica direta sobre o patógeno, causando graves danos à estrutura celular dos conídios, tais como vacuolização, vazamento do citoplasma e invaginação e ondulação do plasmalema. Neste mesmo estudo (AGREDO-HOYOS, 2012), o autor demonstrou também que os óleos essenciais de *C. citratus* e *E. caryophyllata* reduziram a severidade da antracnose do feijoeiro.

A atividade direta de óleos essenciais sobre fitopatógenos é ampla e abrange vários gêneros de *Colletotrichum* conforme o que foi relatado pelos estudos seguintes. Sarmiento-Brum et al. (2012), relataram efeito fungitóxico por parte dos óleos essenciais de *C. citratus* e *C. nardus*, com inibição de 100%, a partir da concentração $0,50 \mu\text{L mL}^{-1}$ no crescimento micelial de *C. graminícola*, potencial patógeno causador da antracnose do sorgo. Veloso et al. (2012), ao avaliarem o potencial de inibição do óleo essencial de citronela sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, constataram eficiência em todas as alíquotas testadas. À medida que se aumentou a alíquota utilizada, elevou-se o efeito de inibição do crescimento micelial. Da mesma forma, ao avaliar o efeito fungitóxico do óleo essencial de *C. citratus* sobre *C. gloeosporioides*, nas doses de 1, 3, 5 e 10 μL , Souza Júnior et al. (2009) observaram 100% de inibição do crescimento micelial. Souza et al. (2006) observaram 100% de inibição do crescimento micelial *in vitro* de *C. lindemuthianum* e *Rhizoctonia solani* com a utilização de óleo essencial de citronela a partir da dose de 1000 ppm.

Outro exemplo de efetividade direta dos óleos essenciais foi demonstrado por Ordoñez (2016), trabalhando com capim limão, citronela e tomilho, que, na concentração de 2.000 ppm inibiram totalmente o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*. Inibição total do mesmo fungo foi relatada por Ramos et al. (2016), ao avaliarem a atividade antifúngica dos óleos essenciais de citronela e

capim limão nas concentrações de 12,5% e 6,25% respectivamente. No controle de doenças de pós-colheita, os óleos essenciais têm mostrado ser efetivos contra antracnose em culturas como goiaba, mamão, banana, manga, tanto diluídos quanto associados ou revestidos (GOMES, 2008, MACHADO et al., 2013, DE ARAÚJO et al., 2018).

A efetividade na inibição do crescimento fúngico dos patógenos está relacionada a ação dos óleos essenciais e de suas substâncias, que, em contato com os microrganismos, promove a permeabilidade das células, causando extravasamento dos seus constituintes (PIPER et al., 2001). O citral e o citronelal podem atuar rompendo a integridade da parede celular e a permeabilidade da membrana, resultando em alterações fisiológicas e causando citotoxicidade, bem como alterar a morfologia das hifas. É importante ressaltar que o efeito inibitório pode estar associado aos seus efeitos sobre os micélios, reduzindo o açúcar, a proteína solúvel, a atividade da quitinase e o conteúdo de piruvato (RONG-YU et al., 2014).

Analogamente, as atividades biológicas e técnicas de aplicação destes óleos também foram relatadas em outros estudos com diferentes fitopatógenos. Em pesquisa realizada por Santos et al. (2013), os autores observaram que os óleos de citronela e capim limão apresentaram controle total no crescimento micelial de *Helminthosporium* sp. nas maiores concentrações (750 $\mu\text{g L}^{-1}$; 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$; 1250 $\mu\text{g L}^{-1}$). Da mesma forma, Santos (2013) observou que os óleos de capim limão e citronela inibiram em 100% o crescimento fúngico de *Phomopsis sojae*, patógeno da cultura da soja, em todas as concentrações testadas. O desenvolvimento da técnica de nano emulsões de óleo essencial de citronela para o controle *in vitro* de *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*, realizado por Ali et al. (2017), comprova a efetividade do óleo aliado a técnica. Os resultados obtidos demonstraram que as nano emulsões apresentaram atividade antifúngica na concentração de 5% de óleo de citronela para *R. solani* e *S. rolfsii*.

Em relação à capacidade de esporulação, houve grande variação entre as concentrações e tratamentos testados. Os resultados apresentados na Tabela 2 mostram que o tratamento com DMSO foi o que menos esporulou. Embora o crescimento da colônia do fungo tenha sido maior que a testemunha, em algumas

doses praticamente não houve produção de esporos. Este comportamento pode ser atribuído à adaptabilidade do fungo ao meio em que foi submetido.

É importante ressaltar que, o crescimento micelial é a parte vegetativa da colônia do fungo responsável por carregar nutrientes e dar continuidade aos processos seguintes do ciclo biológico do fungo, como por exemplo, dar sustentação aos corpos de frutificação ou propágulos para reprodução. No processo seguinte ocorre a produção de esporos com o objetivo de garantir a sobrevivência e perpetuação da espécie por meio da disseminação pelo ambiente. No entanto, quando submetido à condições adversas, o fungo passa a produzir mais esporos como método de sobrevivência, porém esse esporo nem sempre é viável não garantindo a germinação dos mesmos.

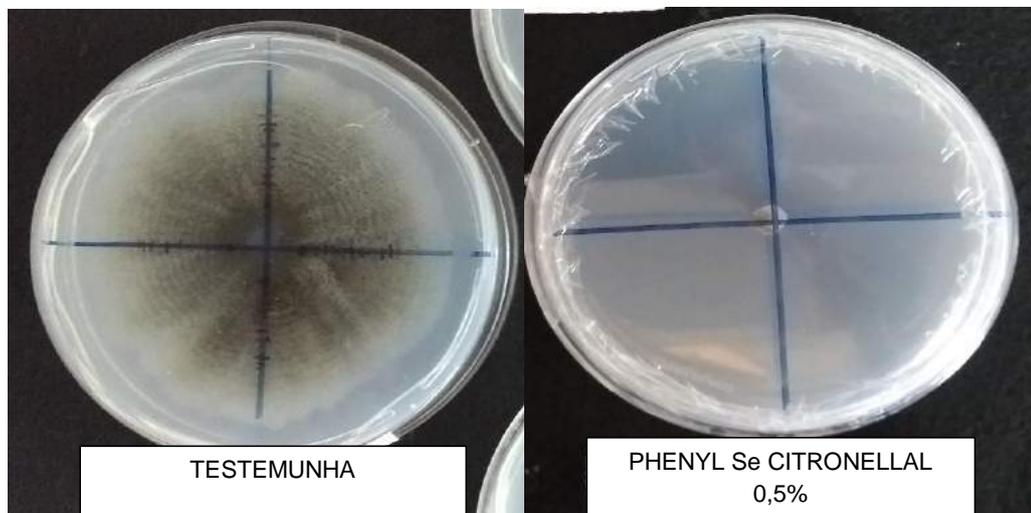


Figura 1 – Crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum* após 15 dias de incubação sem contato com o composto e com contato do composto semissintético Phenyl Se Citronellal

Dos compostos semissintéticos, o tratamento com Phenyl Se Citronellal repete o mesmo comportamento observado na inibição do crescimento micelial, inibindo também a fase de esporulação e apresentando número médio de esporos inferior a 3×10^4 . Este resultado também já era esperado, uma vez que na avaliação do crescimento micelial a inibição atingiu 100% (Figura 2).

No tratamento com Citral, notou-se que à medida que se aumentou a concentração, ocorreu aumento na média da esporulação. Este efeito é contrário à inibição do crescimento micelial. Isto ocorreu também para o tratamento com Phenyl

S Citral nas concentrações 0,25% e 1%. A taxa de esporulação do patógeno influencia na determinação da sua capacidade de dispersão, afetando a distribuição espacial da espécie (PEREIRA; SILVA; RIBEIRO, 2006). Além disso, é relatado na literatura que *C. lindemuthianum* tem limitada capacidade de dispersão, o que ocorre preferencialmente entre diferentes partes da mesma planta e, ocasionalmente, entre plantas adjacentes (SOUZA; CAMARGO JÚNIOR; PINTO, 2010). O isolado de *C. lindemuthianum* apresentou baixa esporulação e isso ocorreu porque houve efeito dos compostos semissintéticos e porque a melhor maneira dessa espécie esporular é por meio de vagens.

Tabela 2. Taxa de esporulação ($\times 10^4$) do fungo *C. lindemuthianun*, submetido a diferentes concentrações de DMSO, Phenyl S Citral, Phenyl Se Citronellal e Citral.

	Concentração (%)													
	0,0039	0,0078	0,0156	0,0312	0,0625	0,125	0,25	0,5	1					
Controle	0,19	0,16	0,13	0,31	0,22	b	0,65	b	1,56	c	2,50	b	7,81	bc
Phenyl S Citral	0,94	0,37	0,72	1,19	0,50	b	3,44	b	34,79	a	8,87	ab	38,61	a
Phenyl Se Citronellal	0,34	0,09	0,00	1,22	2,63	b	2,72	b	1,19	c	0,00	b	2,93	c
Citral	0,31	0,25	0,25	0,59	12,28	a	13,66	a	16,62	b	14,75	a	16,75	b
Valor-p	0,99 ^{ns}	0,99 ^{ns}	0,99 ^{ns}	0,99 ^{ns}	0,003*	0,002*	<0,001**							

^{ns}Não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

*Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

**Significativo a 0,1% de probabilidade pelo teste F.

Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Em relação à capacidade de esporulação, também foram encontrados resultados variando de $5,52 \times 10^6$ a $50,92 \times 10^6$ entre os isolados de *C. lindemuthianum* (SOUZA et al., 2007). A ação fungitóxica de capim limão é apresentada em outros estudos. Por exemplo, Itako et al. (2009) observaram redução da esporulação e germinação de conídios de *Alternaria solani* sob concentração de 20% do extrato bruto aquoso de capim limão. Souza-Júnior et al. (2009) observaram total inibição da germinação de esporos de *C. gloeosporioides*, sob o tratamento com óleo essencial de capim limão.

Um exemplo de efetividade direta dos óleos essenciais é mostrado pelo estudo desenvolvido por Ordoñez (2016), os óleos essenciais de capim limão e

citronela reduziram totalmente a esporulação e germinação dos conídios de *C. gloesporioides* f. sp. *cepae* a partir da concentração de 1.000 ppm. Em contrapartida, Moreira et al. (2008), ao avaliarem extratos de folhas de citronela, não observaram efeito significativo sobre a germinação de esporos e formação de apressórios por *Colletotrichum lagenarium*. Porém, a ação fungitóxica do óleo essencial de citronela foi observada sobre a germinação e alongamento dos tubos germinativos do patógeno *Cercospora coffeicola* (PEREIRA et al., 2011).

Após avaliação do crescimento micelial e esporulação, foram avaliadas as características macroscópicas das colônias do fungo dos tratamentos e comparadas com a testemunha para observação da variabilidade. Quanto às características macroscópicas, pôde-se observar que a coloração, margem, elevação e formato das colônias teve pouca variação (Anexo 1). As colônias, em sua maioria, apresentaram coloração cinza muito escuro, variando para cinza verde escuro, não diferenciando-se da testemunha que obteve coloração cinza muito escuro e apresentando margem concêntrica, elevação plana a levemente levantada e formato circular (Anexo 1).

Neste estudo, notou-se uma pequena variação de cor, de margem, de elevação e de borda somente quando o fungo recebeu o tratamento com Phenyl Se Citronellal para todas as concentrações. A eficiência deste composto semissintético, além de inibir o crescimento micelial e a produção de esporos, também altera a morfologia da colônia do fungo.

As cores das colônias variaram dentro das tonalidades de cores descritas para o gênero *Colletotrichum*, de acordo com o descrito por Sutton (1992). Em um estudo realizado por Silva (2016), ao caracterizar a morfologia e a genotipagem de *Colletotrichum guaranicola* endofítico e patogênico, observou-se que os isolados apresentaram predominância de coloração cinza diferenciando-se apenas na intensidade da cor. Sabe-se que o fungo possui várias raças e que sua variabilidade genética é ampla. Além disso, tem sido detectada variabilidade patogênica dentro das raças de *C. lindemuthianum* (ISHIKAWA et al., 2011).

Souza et al. (2007), ao caracterizarem por meio de marcadores morfológicos diferentes isolados de *C. lindemuthianum*, quanto aos caracteres morfológicos e culturais, todas as colônias apresentaram coloração variando de cinza claro a cinza escuro, além de apresentarem crescimento lento. Em outro estudo, a variabilidade de

C. lindemuthianum foi avaliada em feijoeiro comum para o parâmetro morfologia da colônia. Os isolados do fungo, desde o início do crescimento, apresentaram coloração cinza a negra, tornando-se totalmente escuros aos 15 dias (MOTA, 2013).

Resultados obtidos neste estudo indicam a potencialidade dos compostos semissintéticos no controle alternativo do patógeno *C. lindemuthianum*. A ampla gama de concentrações e de compostos derivados de óleos essenciais, assim como os diversos modos de aplicação citados na literatura, não permitem comparações diretas entre diferentes estudos publicados.

4.2 Experimento 2: Desempenho inicial de plântulas de feijão tratadas com Phenyl S citral e Phenyl Se citronellal

Na Tabela 3, encontram-se os resultados obtidos para as variáveis de qualidade fisiológica das sementes, provenientes de sementes da cultivar Tuiuiú tratadas com Phenyl S Citral e Phenyl Se Citronellal em duas concentrações de 0,125% (C1) e 0,0625% (C2).

Plântulas normais do teste de germinação, verificadas pelas variáveis de primeira contagem de germinação (PCG) e germinação (G), não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, demonstrando que não foram influenciadas pelos tratamentos e as diferentes doses. Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos em estudos realizados por Ordoñez (2016), constatando que os óleos essenciais de citronela e capim-limão não afetaram a qualidade fisiológica de sementes de cebola em concentrações de 1% e 2%. O mesmo comportamento foi verificado para as variáveis de massa seca de raiz, massa seca de parte aérea e massa seca total, comprimento total da plântula, massa fresca de parte aérea e massa fresca total, os quais avaliam o vigor. Estas variáveis também não apresentaram diferença significativa. Portanto, elas não foram submetidas ao teste de comparação múltipla de médias.

Resultados obtidos por Nascimento (2016), demonstraram que não ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos com citronela, cravo, eucalipto, hortelã e manjerição na primeira contagem de germinação, contudo, na contagem final, maior porcentagem de plântulas normais germinadas foi verificada no tratamento com o óleo essencial de cravo (95,25%), não diferindo da testemunha, mas diferindo do óleo

essencial de citronela, o qual resultou em baixa germinação das sementes tratadas (87,50%).

Tabela 3. Média das variáveis de qualidade fisiológica de sementes e de plântulas de feijão provenientes de sementes tratadas com Phenyl S Citral e Phenyl Se Citronellal em concentrações de 0,125% (C1) e 0,0625% (C2).

Tratamento	PCG (%)	G (%)	CT (cm/plântula)	MFPA (g/plântula)	MFT (g/plântula)	MSR (g/plântula)	MSPA (g/plântula)	MST (g/plântula)
Testemunha	82	84	23,50	7,35	8,52	0,11	0,95	1,06
Fungicida	88	88	18,02	6,65	7,59	0,09	1,31	1,40
DMSO C1	90	90	23,25	6,81	7,71	0,10	1,12	1,21
DMSO C2	87	88	21,50	6,66	7,86	0,09	1,17	1,26
Phenyl S Citral C1	84	84	22,03	7,16	8,27	0,09	0,99	1,08
Phenyl S Citral C2	86	86	21,91	6,83	8,09	0,10	1,11	1,20
Phenyl Se Citronellal C1	83	83	22,35	6,89	8,11	0,10	1,13	1,23
Phenyl Se Citronellal C2	89	89	23,48	7,40	8,94	0,36	1,19	1,55
Valor-p	0,07 ^{ns}	0,25 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,56 ^{ns}	0,38 ^{ns}	0,41 ^{ns}	0,70 ^{ns}	0,48 ^{ns}

^{ns} Não significativo segundo teste F a 5% de probabilidade de erro.

PCG: Primeira contagem de germinação;

G: Germinação

CT: Comprimento total da plântula

MFPA: Massa fresca de parte aérea

MFT: Massa fresca total

MSR: Massa seca de raiz

MSPA: Massa seca de parte aérea

MST: Massa seca total

As variáveis índice de velocidade de emergência, comprimento de raiz, comprimento de parte aérea e massa fresca de raiz apresentaram diferença significativa e os dados obtidos são apresentados na tabela 4.

Os dados de comprimento de raiz e massa fresca de raiz demonstraram que ocorreu incremento no desenvolvimento das plântulas, em resposta ao tratamento com os compostos semissintéticos, indicando que os mesmos influenciam positivamente na expressão do vigor através de um maior crescimento das plântulas de feijão, visto que a concentração ideal foi alcançada com 0,0625% do composto Phenyl Se Citronellal. Isto gerou uma expectativa de incremento de 8 e 33%,

respectivamente, a mais em relação à testemunha (Tabela 4). No entanto, para a variável comprimento de parte aérea, não houve incremento entre os tratamentos, sendo que a testemunha apresentou melhor resultado.

Quanto aos dados obtidos referentes ao índice de velocidade de emergência, o maior incremento foi observado para o tratamento com o DMSO na concentração 0,125% (Tabela 4), ingrediente que faz parte da composição dos compostos. Menor índice de velocidade de emergência foi observado para o tratamento com Phenyl S Citral na concentração 0,0625%, enquanto que para o restante dos tratamentos, incluindo a testemunha, não houve diferença entre si. Em contrapartida, estudos realizados por Araújo et al. (2012) mostram que o tratamento com óleo essencial de citronela não influenciou na velocidade de germinação de sementes de erva-doce.

Para as variáveis comprimento de raiz, comprimento de parte aérea e massa fresca de raiz, o tratamento com fungicida sintético reduziu significativamente o crescimento e o desenvolvimento da plântula, demonstrando um efeito negativo na expressão do vigor.

Tabela 4. Média das variáveis de qualidade fisiológica de sementes e plântulas de feijão provenientes de sementes tratadas com Phenyl S Citral e Phenyl Se Citronellal em concentrações de 0,125% (C1) e 0,0625% (C2).

Tratamento	CR (cm/plântula)		CPA (cm/plântula)		MFR (g/plântula)		IVE	
Testemunha	14,95	ab	9,16	a	1,16	ab	57,45	ab
Fungicida	11,29	b	6,73	b	0,94	b	56,13	ab
DMSO C1	14,80	ab	8,45	ab	0,90	b	58,26	a
DMSO C2	13,07	ab	8,43	ab	1,20	ab	55,09	ab
Phenyl S citral C1	13,77	ab	8,25	ab	1,11	ab	53,16	ab
Phenyl S citral C2	14,30	ab	7,61	ab	1,26	ab	51,51	b
Phenyl Se citronellal C1	14,67	ab	7,68	ab	1,23	ab	54,17	ab
Phenyl Se citronellal C2	16,26	a	7,23	ab	1,55	a	54,83	ab
Valor-p	0,05*		0,012*		0,012*		0,03*	

*Significativo a 5% de probabilidade de erro, segundo teste F.

CR: Comprimento de raiz

CPA: Comprimento de parte aérea

MFR: Massa fresca de raiz

IVE: Índice de velocidade de emergência

Apesar de inúmeros relatos da utilização dos óleos essenciais e suas derivações, a maioria dos estudos se concentra nas etapas iniciais, *in vitro*, e as pesquisas *in vivo* têm sua aplicabilidade direcionada aos frutos e folhas (GUÉDEZ et al., 2014; SEFU et al., 2015; ALVES et al., 2015). No caso dos óleos essenciais em tratamentos de sementes, Maraschin Silva (2004) salienta que, dentre os fatores que interferem na germinação das sementes, destacam-se os oriundos do metabolismo secundário das plantas, que podem ser prejudiciais na captação de nutrientes, síntese de proteínas, assimilação de água, nos processos bioquímicos de germinação, entre outros. Esse é o fator limitante quando se trata da aplicação de óleos essenciais e extratos vegetais em tratamento de sementes (NASCIMENTO, 2017).

O papel dos compostos sintéticos no desenvolvimento da planta, como o selênio e o enxofre, também podem ser positivos. De acordo com Ghosh et al. (2013), o selênio pode promover alterações positivas no crescimento e desenvolvimento vegetal por interferir nos processos de assimilação do carbono e do nitrogênio. Neste contexto, foi verificado aumento no crescimento do sistema radicular e da parte aérea em plantas de *Arabidopsis thaliana* tratadas com selênio em baixa concentração (LEHOTAI et al., 2012). Ademais, o selênio parece promover incremento no crescimento vegetal via maior acúmulo de amido nos cloroplastos (PENNANEN et al., 2002).

O selênio parece ser também capaz de regular o estresse hídrico da planta em condições de seca ao possibilitar que o sistema radicular regule a absorção de água (KUZNETSOV et al., 2003). O selênio também modula positivamente a atividade das enzimas dismutase do superóxido, peroxidase do ascorbato e catalase, envolvidas no mecanismo de tolerância das plantas aos danos oxidativos induzido tanto por estresse abiótico quanto por estresse biótico (HASANUZZAMAN e FUJITA 2011).

Os óleos essenciais de candeia, palma rosa e alecrim para o tratamento sementes de soja, milho e feijão, dependendo da concentração e tempo de exposição, podem ser fitotóxicos às mesmas, interferindo nos parâmetros fisiológicos (HILLEN et al., 2012). O óleo essencial de citronela, quando aplicado por meio da fumigação e impregnação em sementes de feijão caupi, afeta negativamente o vigor das sementes (XAVIER et al., 2012). O emprego do óleo essencial de manjeriço para tratamento

de sementes de mandacaru, reduz a germinação e velocidade de emergência em concentrações crescentes do óleo essencial (BRITO et al., 2010).

Alguns óleos proporcionam incremento na qualidade fisiológica. No entanto, os resultados variam de acordo com as espécies e os óleos essenciais empregados. O óleo essencial de canela a 0,5% em sementes de mandacaru proporcionou bom índice germinativo (96%) e maior velocidade de germinação, além do maior comprimento de plântulas em relação às sementes não tratadas (BRITO et al., 2010).

O óleo essencial de manjerição resultou em 92,50% de germinação das sementes, não diferindo significativamente dos demais tratamentos (BRITO et al., 2010). O óleo essencial de citronela teve ação alelopática na germinação das sementes de feijão-caupi relatado por Xavier et al. (2012), atribuindo este efeito aos seus compostos majoritários, citronelal e geraniol. Teixeira et al. (2013) trataram sementes de milho infectadas por *Stenocarpella maydis* com o óleo essencial de cravo e, ao avaliarem a germinação, verificaram 89% de plântulas normais, valor este superior à testemunha.

Para os parâmetros comprimento de plântulas, índice de velocidade de emergência, emergência final e matéria seca, Nascimento (2017) não observou diferenças significativas entre os tratamentos com citronela, cravo, hortelã, manjerição e eucalipto para a cultura do pimentão.

Esses resultados sugerem que os compostos semissintéticos derivados de citronela e capim limão podem ser uma alternativa promissora para o tratamento de sementes de feijão, por não afetarem a germinação e vigor das sementes.

4.3 Experimento 3: Avaliação da incidência de *C. lindemuthianum* em sementes de feijão tratadas com Phenyl S Citral e Phenyl Se Citronellal

A acentuada redução na incidência de *C. lindemuthianum* nas sementes tratadas comprova a ação antifúngica do Phenyl Se Citronellal, constatada nos testes *in vitro*. Quando comparados os tratamentos para cada nível de incidência (Tabela 5), menores sintomas de *C. lindemuthianum* nos cotilédones e no hipocótilo das plântulas de feijão foram observados para os tratamentos com Phenyl Se Citronellal em ambas

concentrações e Standak com 4% de infecção do fungo. Já para o nível de infecção 14%, a menor incidência foi observada para o tratamento Phenyl Se Citronellal e Phenyl S Citral em concentração de 0,0625%.

Quando comparados os tratamentos dentro dos níveis de inoculação, o composto semissintético Phenyl Se Citronellal demonstra maior controle sobre a incidência do fungo na concentração 0,125% para o nível de infecção de 4%. Nota-se também que a eficiência no controle do fungo diminui à medida que a porcentagem de inóculo aumenta.

Tabela 5. Comparação de médias da interação entre níveis de inoculação e tratamentos da variável incidência de *Colletotrichum lindemuthianum*.

Tratamento	Níveis de infecção					
	4%			14%		
Fungicida	2	b	B	7,5	abc	A
Phenyl S Citral C1	3,5	a	A	7	bc	A
Phenyl S Citral C2	3	ab	A	4	c	A
Phenyl Se Citronellal C1	2	b	B	12,5	ab	A
Phenyl Se Citronellal C2	2,5	b	A	4	c	A
Testemunha	3,5	a	B	13,5	a	A
Valor-p	<0,001*			0,0104**		

* Significativo a 0,1% de probabilidade pelo teste F.

** Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

A antracnose é uma das doenças mais importantes da cultura do feijoeiro, sendo seus danos mais prejudiciais quando detectados no início do cultivo (PEREIRA et al., 2018). As sementes são uma das principais fontes de inóculo inicial, podendo o fungo sobreviver por longos períodos em sementes infectadas (MARCENARO; VALKONEN, 2016). A incidência de sintomas da antracnose em plântulas avaliadas em rolo de papel germitest variou de 2 a 13,5%. Esse comportamento provavelmente se deve ao fungo estar infectando as sementes internamente, uma vez que foi realizada a desinfestação superficial das mesmas inicialmente.

As plântulas sintomáticas apresentavam lesões pequenas e deprimidas de coloração marrom nos cotilédones e, no hipocótilo, lesões de coloração escura em formato alongado e deprimido. Segundo Silva et al. (2013), quanto maior for a quantidade de inóculo nas sementes, em condições ambientais favoráveis para o desenvolvimento do fungo, maior será a incidência e a severidade da doença no

campo. Rey et al. (2009) verificaram que a transmissão de *C. lindemuthianum* semente-plântula pode chegar até 80%.

Entre os tratamentos, o melhor desempenho inicial das plântulas foi observado para o composto semissintético Phenyl Se Citronellal em ambas as concentrações, que originou plântulas vigorosas e com boa germinação. Este resultado pode estar relacionado com a presença do micronutriente selênio, conferindo melhor desempenho às sementes. Menor incidência também foi verificada nesse tratamento. Quando comparada aos outros compostos, sua eficiência no controle do patógeno pode ser relacionada com a presença do monoterpene citronelal. A IPR Tuiuiú é considerada uma cultivar suscetível ao fungo. Por isso, a sanidade pode ter variado muito.

O uso do Phenyl Se Citronellal e do Phenyl S Citral é uma alternativa interessante para aumentar a resistência das plantas ao ataque do patógeno, já que um dos seus componentes, o citronelal, vem se destacando no controle de doenças em várias culturas (QUINTANA-RODRIGUEZ et al., 2018). No entanto, a maior parte das pesquisas direciona-se ao estudo dos efeitos *in vitro* deste óleo, sendo mais reduzidas as informações sobre seu efeito *in vivo*. Os efeitos do Phenyl Se Citronellal são pouco conhecidos durante o desenvolvimento inicial da cultura do feijão e no controle de doenças em plântulas. Já foram observados resultados positivos do uso de óleo essencial de citronela e capim-limão via tratamento de sementes na cultura da cebola, através da obtenção de plântulas vigorosas, com maior crescimento e desenvolvimento inicial e menor incidência de *C. gloeosporioides* f. sp. *cepae* (ORDOÑEZ, 2016).

Neste trabalho, o tratamento das sementes com os compostos semissintéticos auxiliaram no crescimento das plântulas de feijão, assim como na diminuição da incidência da antracnose para os níveis de inoculação testados. O controle de doenças por meio do tratamento das sementes proporciona benefícios para o crescimento das plântulas, além da redução da incidência da doença nos primeiros estádios de desenvolvimento na cultura do feijão. Em relação aos compostos, o Phenyl S Citral e Phenyl Se Citronellal contribuem ao amenizar os danos causados pelo fungo, fazendo com que as plântulas respondam favoravelmente ao fornecimento

do elemento. Desta forma, é uma medida promissora no sistema de manejo integrado de controle de doenças.

Os resultados desta pesquisa reforçam a necessidade de maiores pesquisas envolvendo ensaios *in vivo* para recomendar o emprego de compostos semissintéticos no tratamento de sementes. Conforme discutido neste trabalho, pode-se perceber que existe uma variação muito grande de efeitos em função do óleo essencial escolhido, da concentração de óleo adotada para o tratamento, da espécie vegetal que será tratada com o composto e do patógeno alvo. No entanto, fica clara a potencialidade do uso de compostos semissintéticos no tratamento de sementes como uma forma alternativa de manejo de doenças de plantas.

5 Conclusões

De modo geral, para os testes da avaliação *in vitro* e *in vivo* os resultados obtidos foram satisfatórios, mostrando que:

- Os compostos semissintéticos são eficientes e conferem alto potencial no controle do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (isolado CL16) para a cultivar Tuiuiú;
- As propriedades antimicrobianas de compostos derivados de citronela e capim limão sugerem que o uso dessas substâncias para proteger as culturas contra fungos patogênicos merece maior exploração científica;
- O composto semissintético Phenyl Se Citronellal na concentração 0,5% controlou em 100% o crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum*;
- O composto semissintético Phenyl S Citral controlou em mais de 50% o crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum* nas concentrações 0,5% e 1%.
- O tratamento das sementes com os compostos semissintéticos Phenyl Se Citronellal e Phenyl S Citral não afeta a qualidade fisiológica de sementes de feijão da cultivar Tuiuiú nas concentrações 0,125% e 0,0625%
- O tratamento das sementes com os compostos semissintéticos Phenyl Se Citronellal e Phenyl S Citral diminui a incidência de *Colletotrichum lindemuthianum* (isolado CL16) e proporciona maior crescimento das plântulas de feijão.

6 Referências

- ABRASEM - Associação Brasileira de Sementes e Mudanças. Estatística da produção e comercialização de sementes no Brasil, resultado ano 2015. Disponível em: <<http://www.abrasem.com.br/site/estatisticas/#>> Acesso em: 11/12/2018.
- ABREU e NERY, A. N. I. de. Efeito de óleos essenciais sobre o desenvolvimento de *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus carbonarius* e na síntese de ocratoxina A. Tese(doutorado), Universidade Federal de Lavras, 2015. 91p.
- AGREDO-HOYOS, J. M. Alterações ultraestruturais e atividade antifúngica em *Pseudocercospora griseola* e *Colletotrichum lindemuthianum* tratados com óleos essenciais e controle alternativo da antracnose do feijoeiro. Tese (doutorado). Universidade Federal de Lavras, 2012, 125p.
- AGUIAR, C. E.; Bertuzzi, E. C.; DEUNER, C.; MENEGHELLO, G. E.; CAMPOS, E. J.; KERCHNER, A. C. Performance fisiológica de sementes de milho híbrido submetidas a tratamento com inseticida, fungicida e nutrientes. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 2, p. 348-355, 2017.
- ALI, E. O. M.; SHAKIL, N. A.; RANA, V. S.; SARKAR, D. J.; MAJUMDER, S.; KAUSHIK, P.; SINGH, B. B.; KUMAR, J. Antifungal activity of nano emulsions of neem and citronella oils against phytopathogenic fungi, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*. **Industrial Crops & Products**, v. 108, p. 379-387, 2017.
- ALVES, K.F. et al. Efficacy of plant extracts for anthracnose control in bell pepper fruits under controlled conditions. **Horticultura Brasileira**, v.33, n.3, p.332-338, 2015.
- ANDRADE, F. R.; SILVA, G. N. da; GUIMARÃES, K. C.; BARRETO, H. B. F.; SOUZA, K. R. D. de; GUILHERME, L. R. G.; FAQUINA, V.; REIS, A. R. dos. Selenium protects rice plants from water deficit stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.164, p. 562-570, 2018.
- ANTUNES, M. D. C.; CAVACOB, A.; The use of essential oils for postharvest decay control. A review. **Flavour Fragrance Journal**, v. 25, p. 351-366, 2010.
- ARAÚJO, A.N.; COSTA, P.A.; SOUZA,W.; MEDEIROS,J.; SANTOS, S. Atividade antifúngica do óleo essencial de citronela em sementes de Erva-doce (*Foeniculum vulgare* Mill.). **Revista Verde**, Mossoró, v.7, n.1, p. 189–195, 2012.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.
- BALARDIN R.S., JAROSZ A.M., KELLY J.D. Virulence and Molecular Diversity in *Colletotrichum lindemuthianum* from South, Central, and North America. **Phytopathology** 87: 1184-1191, 1997.
- BAYOUMI, Y.; TAHA, N.; SHALABYA, T.; ALSHAALD, T.; EI-RAMADYD, H. Sulfur promotes biocontrol of purple blotch disease via *Trichoderma* spp. and enhances the growth, yield and quality of onion. **Applied Soil Ecology**, 2018, 10p.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, p.333-349, 2005.

BORKERT, C. M.; LANTMANN, A. F. Enxofre e micronutrientes na agricultura brasileira. Londrina, EMBRAPA-CNPSo/IAPAR/CBCS, 1988, 317p.

BRASIL - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009 a. 399 p.

BRITO, N.M.; NASCIMENTO, L.C.; COELHO, M.S.E.; FÉLIX, L.P. Efeito de óleos essenciais na germinação de sementes de *Cereus jamacaru*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.5, n.2, p.207-211, 2010.

BRUM, R. B. C. S. Efeito de óleos essenciais no controle de fungos fitopatogênicos. Dissertação (mestrado). Universidade Federal do Tocantins, 2012, 135p.

CAMPA, A.; RODRÍGUEZ-SUÁREZ, C.; GIRALDEZ, R.; FERREIRA, J.J. Genetic analysis of the response to eleven *Colletotrichum lindemuthianum* races in a RIL population of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **BMC Plant Biology**, v.14:115, p.1-12, 2014.

CASTRO, H. G.; BARBOSA, L. C. A.; LEAL, T. C. A. B.; SOUZA, C. M.; NAZARENO, A.C. Crescimento, teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.9, n.4, p.55-61, 2007.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. Contribuição ao estudo das plantas medicinais: Metabólitos secundários. 2ª Ed. Viçosa, MG: Visconde do Rio Branco, 2004a. 113 p.

CASTRO, H. G.; OLIVEIRA, L. O.; BARBOSA, L. C. A.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R.; NASCIMENTO, E. A. Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 55-57, 2004b.

CASTRO, H. G.; PERINI, V. B. M.; SANTOS, G. R.; LEAL, T. C. A. B. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2, p. 308-314, 2010.

CHAKRAVORTY, S.; RAYNERA, M. K.; KONINGA, C. B. de; VUUREN, S. F. van; OTTERLO, W. A.L. van. Synthesis and Antimicrobial Activity of the Essential Oil Compounds (E)- and (Z)-3-Hexenyl Nonanoate and Two Analogues. **Short Communication**, v.65, p.202-205, 2012.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Acompanhamento da safra Brasileira: grãos. **Monitoramento agrícola**. v. 6, n. 3, p.1- 127, 2018.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Acompanhamento da safra Brasileira: grãos. **Monitoramento agrícola**. v. 6, n. 4, p.1- 127, 2019.

CRUZ, M. F. A.; ARAUJO, L.; POLANCO, L. R.; RODRIGUES, F. de A. Aspectos microscópicos da interação feijoeiro-*Colletotrichum lindemuthianum* mediados pelo silício. **Bragantina**, Campinas. 2014, 8p.

DANIELLI, A.L.; FIALLOS, F.R.G.; TONIN, R.B.; FORCELINI, C.A. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja em função do tratamento químico de sementes e foliar no campo. **Ciencia y Tecnología**, v.4, n.2, p.29-37, 2011.

DARBEN, L. M. Identificação de genótipos de feijoeiro comum resistentes à antracnose por meio de avaliação das reações de incompatibilidade e marcadores moleculares SCAR. 2010. 96 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.

DE ARAÚJO, A. C.; TOLEDO, E. D.; SOARES, W. R. de O. Alternative products in control of *Colletotrichum* spp. isolated mango and banana. **Científic@ Multidisciplinary Journal**, v.5, n.3, p.104 – 112, 2018.

EDINGTON, L. V.; KHEN, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, Saint Paul. v.61 p.42-44, 1971.

ESFREDO, G. J.; LANTMANN, A.F. **Enxofre: Nutriente necessário para maiores rendimentos da soja**. Londrina: Embrapa Soja, Circular técnica 53, 2007, 6p.

FAOSTAT, Food and agriculture organization of the United Nations Statistics division. Data 2017. Disponível em:

<<http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC/visualize>> Acesso em: 05/02/2019.

FIALHO, R. de O.; PAPA, M. F. S.; PEREIRA, D. A. dos S. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Phakopsora euvtis*, agente causal da ferrugem da videira. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.82, p. 1-7, 2015.

FONSECA, M.C.M.; LEHNER, M.S.; GONÇALVES, M.G.; PAULA JÚNIOR, T.J.; SILVA, A.F.; BONFIM, F.P.G.; PRADO, A.L. Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatógenos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.17, n.1, p.45-50, 2015.

FORNEY, C.F.; JORDAN, M.A.; CAMPBELL-PALMER, L.; FILLMORE, S.; McRAE, K.; BEST, K. Sulfur fertilization affects onion quality and flavor chemistry during storage. **Acta Horticulture**, v.877, p.163-168, 2010.

GADAGA, S. J. C. Interação de *Colletotrichum lindemuthianum* com o feijoeiro e a detecção do patógeno em sementes por PCR. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2017, 72 p.

GARCIA, R.A.; JULIATTI, F.C.; BARBOSA, K.A.G.; CASSEMIRO, T.A. Atividade antifúngica de óleos e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, v. 28, p. 48-57, 2012.

GHOSH, S.; SAHA, J.; BISWAS, A. K. Interactive influence of arsenate and selante on growth and nitrogen metabolism in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. **Acta Physiol Plant** 35: 1873-1885, 2013.

- GOLDBECK, J. C.; VICTORIA, F. N.; MOTTA, A.; SAVEGNAGO, L.; JACOB, R. G.; PERIN, G.; LENARDÃO, E. J.; SILVA, W. P. da. Bioactivity and morphological changes of bacterial cells after exposure to 3-(p-chlorophenyl)thio citronellal. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, p. 813-819, 2014.
- GOMES, L. I. S.; Métodos de inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides* e efeito de óleos essenciais no controle da antracnose em frutos de mamoeiro. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Lavras, 2008, 54p.
- GONTIJO NETO, G. F.; ANDRADE, M. J. B. de; POZZA, E. A.; MARTINS, F. A. D.; SOARES, B. L.; BELAN, L. L.; CARDILHO, B. E. da S. Controle da antracnose e da mancha angular do feijoeiro comum com indutores de resistência. **Nucleus**, v.13, n.2, p. 199-208, 2016.
- GUÉDEZ, C.; CANIZALES, L.; AVENDANO, L.; SCORZA, J.; CASTILLO, C.; OLIVAR, R.; MÉNDEZ, Y.; SÁNCHEZ, L. Actividad antifúngica del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis* L.) sobre hongos postcosecha en frutos de lechosa (*Carica papaya* L.). *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, v. 34, p. 81-85, 2014.
- HASANUZZAMAN, M.; FUJITA, M. Selenium pretreatment upregulates the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system and confers enhanced tolerance to drought stress in rapeseed seedlings. **Biology Trace Element Res** 143: 1758-1776, 2011.
- HILLEN, T.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; MESQUINI, R.M.; CRUZ, M.E.S.; STANGARLIN, J.R.; NOZAKI, M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicos *in vitro* e no tratamento de sementes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, n.3, p.439- 445, 2012.
- IAPAR - Instituto Agrônômico do Paraná. **Principais características das cultivares de feijão com sementes, 2010**. Disponível em: <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=1363>>. Acesso em: 14 de março de 2019.
- ISHIKAWA, F. H.; RAMALHO, M. A. P.; SOUZA, E. A. Common bean lines as potential differential cultivars for race 65 of *Colletotrichum lindemuthianum*. **Journal of Plant Pathology**, Berlin, v. 93, n. 2, p. 461-464, 2011.
- ITAKO, A. T.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; SILVA CRUZ, M. E. Controle de *Cladosporium fulvum* em tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.1, p.75- 83, 2009.
- JIANG, C.; ZU, C.; LU, D.; ZHENG, Q.; SHEN, J.; WANG, H.; LI, D. Effect of exogenous selenium supply on photosynthesis, Na⁺ accumulation and antioxidative capacity of maize (*Zea mays* L.) under salinity stress. **Scientific Reports**, 2017, 14p.

- JUNGES, E.; MUNIZ, M.F.B.; BASTOS, B.O.; ORUOSKI, P.; MICHELON, C.J. Techniques microbiolization seed forager radish with *Trichoderma* spp. and *Bacillus subtilis*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.12, n.2, p.135-141, 2017.
- KUZNETSOV, V. V.; KHOLODOVA, V. P.; YAGODIN, B. A. Selenium regulates the water status of plants exposed to drought. **Dokl Biology Science**, 390: 266-268, 2003.
- LEHOTAI, N.; KOLBERT, Z.; PETO, A.; FEIGL, G.; OERDOEG, A.; KUMAR, D.; TARI, I.; ERDEI, L. Selenite-induced hormonal and signalling mechanisms during root growth of *Arabidopsis thaliana* L. **Journal Exp Botanical**, 63: 5677-5687, 2012.
- LENARDÃO, E.J.; SILVA, W. P. da; JACOB, R.G.; Maia, D.S.V.; GOLBECK, C.J.; FONSECA, S. F. Semi-synthetic compounds as antimicrobial agents in food preservation. **Formatex**, p. 576-583, 2015.
- LENNÉ, J.M. Colletotrichum diseases of legumes. In: BAILEY, J.A.; N JEGER, M.J. **Colletotrichum: Biology, Pathology and Control**. CAB international: Wallingford, 1992. Cap7, p.134-166.
- LOVATO, F.; KOWALESKI, J.; SILVA, S.Z.; HELDT, L.F.S. Composição centesimal e conteúdo mineral de diferentes cultivares de feijão biorfortificado (*Phaseolus vulgaris* L.). **Brazilian journal of food technology**, v.21, 2018, 6p.
- MACHADO, R. M. A.; MUSSI-DIAS, V.; SOUZA, C. L. M. de; SILVA, L. B. da; FREIRE, M. das G. M. Avaliação de óleos essenciais sobre o crescimento *in vitro* do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. **Perspectivas online: biologia e saúde**, v.8, p. 64-75, 2013.
- MAFFIA L.A.; MIZUBUTI, E.S.G.; ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. Quantificação de doenças em planta. Capítulo 7. In: ALFENAS. A.C.; MAFIA. R.G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: Ed. UFV, 2007. 382 p.
- MAGUIRE, J. Speed of germination aid in selection and evolution for seedling and vigour. **Crop Science**, v.2, n.2, p.176-177, 1962.
- MALAVOLTA, E. Manual de nutrição mineral de plantas. São Paulo: Ed Agronômica Ceres, 2006, p.396-401.
- MALAVOLTA, E. Potássio, magnésio e enxofre nos solos e culturas brasileiras. Piracicaba: Instituto da Potassa & Fosfato, 3ª ed., 1982, 91p.
- MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 45 de 17 de setembro de 2013. Publicado no D.O.U em 18/09/2013. Disponível em: < <http://apasem.com.br/site/index.php/instrucao-normativa-no-45/>> Acesso em: 11/12/2018.
- MARASCHIN-SILVA, F. **Extração aquosa de aleloquímicos e bioensaios laboratoriais de alelopatia**. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2004, 87p.

MARCENARO, D.; VALKONEN, J.P.T. Seedborne pathogenic fungi in common bean (*Phaseolus vulgaris* cv. INTA Rojo) in Nicaragua. **Plos One**, v.11, n.12, p.1-18, 2016.

MARTINS, S. J.; FARIA, A. F. de; PEDROSO, M. P.; CUNHA, M. G.; ROCHA, M. R. da; MEDEIROS, F. H. V. de. Microbial volatiles organic compounds control anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) **Biological Control**, v.131, p.36-42, 2019.

MCCALLEY D.; TORRES-GRIFOL J.F. Analysis of volatiles in good and bad conditions by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. **Analyst, Washington**, v.117, p.721-725, 1992.

MENTEN, J. O. M.; MORAES, M. H. D. de; NOVENBRE, A D. da L. C.; ITO, M. A. Qualidade das sementes de feijão no brasil. **Pesquisa & Tecnologia**, vol. 3, n.2, 2006, 7p.

MICROBIOLOGY SOCIETY, Microbiology online, Observing fungi in a petri dish. Disponível em: < <https://microbiologyonline.org/teachers/observing-microbes/observing-fungi-in-a-petri-dish>>. Acesso em: junho/2017.

MIGLIORINI, P. Recobrimento de sementes com silício e seu efeito no desenvolvimento da antracnose e murcha de *Fusarium* na cultura do feijão. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Pelotas, 2018, 134p.

MONDO, V.H.V.; NASCENTE, A.S.; CARDOSO NETO, M.O. Common bean seed vigor affecting crop grain yield. **Journal of Seed Science**, v.38, n.4, p.365-370, 2016.

MOREIRA, C. G. A.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; BONALDO, S. M.; STANGARLIN, S. M.; CRUZ, M. E. S. Caracterização parcial de frações obtidas de extratos de *Cymbopogon nardus* com atividade elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja e efeito sobre *Colletotrichum lagenarium*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 4, p. 332-337, 2008.

MOTA, S. F. Variabilidade de *Colletotrichum* spp. no feijoeiro comum. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Lavras, 2013, 92p.

MUNSELL SOIL COLOR CHARTS. Baltimore, Munsell Color Macbeth Division of Kollmorgen Corporation, 1979.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.2-21.

NASCIMENTO, D. M. do. Efeito do tratamento de sementes de pimentão com óleos essenciais sobre o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* e o potencial fisiológico das sementes. Dissertação (mestrado). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu. 2016, 64p.

NAWAZ, F.; AHMAD, R.; ASHRAF, M.Y.; WARAICH, E.A.; KHAN, S.Z. Effect of selenium foliar spray on physiological and biochemical processes and chemical

constituents of wheat under drought stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.113, p.191-200, 2015.

OLANDA, G. B. de. Uso de plantas bioativas no controle da antracnose na cultura do feijão. Dissertação (mestrado em agronomia). Universidade Federal de Pelotas, 2014, 52p.

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

OLIVEIRA, S.; BRUNES, A.P.; LEMES, E.S.; TAVARES, L.C.; MENEGHELLO, G.E.; LEITZKE, I.D.; MENDONÇA, A.O. Tratamento de sementes de arroz com silício e qualidade fisiológica das sementes. **Revista de Ciências Agrárias**, v.39, n. 2, p.202-209, 2016.

OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W. S.; MELLO, A. V.; DIDONET, J.; PORTELLA, A. C. F.; NASCIMENTO, I. R.; Toxicidade de óleos essenciais de eucalipto e citronela sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.27, n.4, p.609-618, 2011.

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

PADDER, B.A.; SHARMA, P.N.; AWALE, H.E.; KELLY, J.D. *Colletotrichum lindemuthianum*, the causal agent of bean anthracnose. **Journal of Plant Pathology**, v.99, n.2, p.317-330, 2017.

PASTOR-CORRALES M.; TU J.C. Anthracnose. In: Schwartz H.F., Pastor-Corrales M.A. (eds). Bean Production Problems in Tropics, pp. 77-104. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia, 1989.

PENNANEN, A.; XUE, T.; HARTIKAINEN, H. Protective role of selenium in plant subjected to severe UV irradiation stress. **Journal Appl Botanical**, 76: 66-73, 2002.

PEREIRA, A. L.; SILVA, G. S.; RIBEIRO, V. Q. Caracterização fisiológica, cultural e patogênica de diferentes isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 6, p. 572-578, 2006.

PEREIRA, H.S.; FARIA, L.C.; WENDLAND, A.; COSTA, J.G.C.C.; SOUZA, T.L.P.O.; MELO, L.C. Genotype by environment interaction for disease resistance and other important agronomic traits supporting the indication of common bean cultivars. **Euphytica**, v.214, n.12. p.1-11, 2018.

PEREIRA, R. B.; LUCAS, G. C.; PERINA, F. J.; RESENDE, M. L. V.; ALVES, E. Potential of essential oils for the control of brown eye spot in coffee plants. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 115-123, 2011.

PIPER, P. CALDERON, C.O.; HATZIXANTHIS, K.; MOLLAPOUR, M. Weak acid adaptation: the stress response that confers resistance to organic acid food preservatives. **Microbiology**, Washington, v. 147, n. 10, p. 2635-2642, 2001.

POLANCO, L. R. Controle da antracnose do feijão com silício e molibdênio e mecanismos de resistência potencializados pelo silício. Tese (doutorado). Universidade Federal de Viçosa, 2011, 115p.

PRAUCHNER, C. A. A importância do Selênio para a agropecuária e saúde humana. Santa Maria, Ed. UFSM, 2014, 376p.

QUINTANA-RODRIGUEZ, E.; RIVERA-MACIAS, L. E.; ADAME-ALVAREZ, R. M.; TORRES, J. M.; HEIL, M. Shared weapons in fungus-fungus and fungus-plant interactions? Volatile organic compounds of plant or fungal origin exert direct antifungal activity in vitro. **Fungal Ecology**, n. 33, p. 115-121, 2018.

RAMOS, K.; ANDREANI JUNIOR, R.; KOZUSNY- ANDREANI, D.I. Óleos essenciais e vegetais no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.18, n.2, supl. I, p.605-612, 2016.

REIS, A.R.D.; EL-RAMADY, H.; SANTOS, E.F.; GRATÃO, P.L.; SCHOMBURG, L. Overview of selenium deficiency and toxicity worldwide: affected areas, selenium-related health issues, and case studies. In: PILON-SMITS, E.A.H.; WINKEL, L.H.E.; LIN, Z.Q. Selenium in Plants: Molecular, Physiological, Ecological and Evolutionary Aspects. **Springer International Publishing**, Cham, 2017, p. 209-230.

REIS, H.P.G.; BARCELOS, J.P.Q.; JUNIOR, E.F.; SANTOS, E.F.; SILVA, V.M.; MORAES, M.F.; PUTTI, F.F.; Reis, A.R. Agronomic biofortification of upland rice with selenium and nitrogen and its relation to grain quality. **Journal of Cereal Science Cereal**, v.79, p.508-515, 2018.

REY, M. dos S.; LIMA, N. B.; SANTOS, J. dos; PIEROBOM, C. R.; BALARDIN, R. S. Inoculação de sementes de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) com *Colletotrichum lindemuthianum* usando diferentes níveis de restrição hídrica. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v.14, n 4-4, p.112-116, 2008.

REY, M.S.; LIMA, N.B.; DOS SANTOS, J.; PIEROBOM, C.R. Transmissão semente-plântula de *Colletotrichum lindemuthianum* em feijão (*Phaseolus vulgaris*). **Arquivo Instituto Biológico**, v. 76, n.3, p. 465-470, 2009.

RIBEIRO, T.; ESTEVES, J. A. de F.; SILVA, D. A.; GONÇALVES, J. G. R.; CARBONELL, S. A. M.; CHIORATO, A. F. Classification of *Colletotrichum lindemuthianum* races in differential cultivars of common bean. **Acta Scientiarum Agronomy**. Maringá, v. 38, n. 2, p.179-184, 2016.

RONG-YU, L.; XIAO-MAO, W.; XIAN-HUI, Y.; YOU-HUA, L.; MING, L. Naturally produced citral can significantly inhibit normal physiology and induce cytotoxicity on *Magnaporthe grisea*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 118, p. 19–25, 2014.

RUFINO, C.A.; TAVARES, E.C.; RAMOS, P.M.; VIEIRA, J.F.; ABREU JUNIOR, J.S.; SILVA, F.J.A.; CORREA, M.F.; GIL, J.M. Performance of soybean seedlings ufon

nutrient application by seed coating. **Brazilian Archives of Biology And Technology**, v.60, p.1-11, 2017.

SANTOS, G. R. dos; BRUM, R. B. C. S.; CASTRO, H. G. de; GONÇALVES, C. G.; FIDELIS, R. R. Effect of essential oils of medicinal plants on leaf blotch in Tanzania grass. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 3, p. 587-593, 2013.

SANTOS, G.R. dos; COSTA, H.; PELÚZIO, J.M.; MIRANDA, G.V. Transporte, transmissibilidade e patogenicidade da micoflora associada às sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**, vol. XLIII, nº 249, 1996.

SARMENTO-BRUM, R. B. C.; SANTOS, G. R. dos; CASTRO, H. G. de; GONÇALVES, C. G.; JÚNIOR, A. F. C.; NASCIMENTO, I. R. do. Effect of essential oils of medicinal plants on the anthracnose of sorghum. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, Supplement 1, p.1549-1557, 2013.

SEFU, G.; SATHEESH, N.; BERECHA, G. Effect of essential oils treatment on anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) disease development, quality and shelf life of mango fruits (*Mangifera indica* L). **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Science**, v. 15, n. 11, p. 2169-2169, 2015.

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

SILVA, M. G. da. Influência de restos de cultura na antracnose do feijoeiro a partir de sementes com diferentes níveis de inóculo. Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Lavras, 2011, 58p.

SILVA, M. R. da; POLETINE, J. P.; SILVA, A. F. M.; SAPIA, J. G.; MACIEL, C. D. G. Identificação de raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* na cultura do feijoeiro comum em municípios do estado do paraná. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama-PR, v.2, n.2, p.118-131, 2013.

SILVA, M.G.; POZZA, E.A.; MACHADO, J.C. Influence of contaminated crop remains and seed health quality on the intensity of bean anthracnose. **Journal of Agricultural Science**, v.5, n.10, p.56-66, 2013.

SINGH, S.P.; SCHWARTZ, H.F. Breeding common bean for resistance to diseases: a review. **Crop Science**, v.50, p.2199-2223, 2010.

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

SOUZA, B. O. de; SOUZA, E. A. de; MENDES-COSTA, M. C.; Determination of variability in isolates of *Colletotrichum lindemuthianum* based on morphological and cultural markers. **Ciência agrotécnica**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1000-1006, 2007.

SOUZA, D. C.; VILELA, G. R.; MORAES, M. H. D.; MENTEN, J. O. M.; ITO, M. A. Efeito de óleos no crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum* e

- Rhizoctonia solani*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS, 3. 2006, Belém. **Anais...** Belém: UFP, 2006.
- SOUZA, E. A. D.; CAMARGO JÚNIOR, O. A.; PINTO, J. M. A. Sexual recombination in *Colletotrichum lindemuthianum* occurs on a fine scale. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 3, p. 1759-1769, 2010.
- STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; SCHWANESTRADA, K. R. F.; PASCHOLATI, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.10, n.1, p. 18-46, 2011.
- SUTTON, B. C. The genus *Glomerella* and its Anomorph *Colletotrichum*. In BAYLEY, J. A.; JEGER, M. J. (Ed.). **Colletotrichum, biology, pathology and control**. Wallingford: C. A. B. international, 1992, p. 1-26.
- SUZANA, C.S.; KULCZYNSKI, S.M.; ROSA, G.M.; MIGLIORINI, P.; KIRSCH, V.G.; ROSA, F.T. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes salvas de feijão produzidas no Médio Alto Uruguai, RS, Brasil. **Agrotrópica**, v. 29, p. 157-166, 2017.
- TAK, J. H.; JOVEL, E.; ISMAN, M. B. Contact, fumigant, and cytotoxic activities of thyme and lemongrass essential oils against larvae and an ovarian cell line of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. **Journal of Pest Science**, v. 89, p.183-193, 2016.
- TEIXEIRA, G.A.; ALVES, E.; AMARAL, D.C.; MACHADO, J.D.; PERINA, F.J. Essential oils on the control of stem and ear rot in maize. **Ciência Rural**, v.43, n.11, p.1945-1951, 2013.
- TRABANCO, N.; CAMPA, A.; FERREIRA, J.J. Identification of a new chromosomal region involved in the genetic control of resistance to anthracnose in common bean. **The Plant Genome**, v.8, n.2, p.1-11, 2015.
- TUITE, J. Plant Pathological Methods - Fungi and Bacteria. In: **Media and their ingredients**. Ed. Burgess Publishing Company, 1969, cap. 2, 49 p.
- TUNES, L.V.M.; FONSECA, D.A.R.; MENEGHELLO, G.E.; REIS, B.B.; BRASIL, V.D.; RUFINO, C.A.; VILLELA, F.A. Qualidade fisiológica, sanitária e enzimática de sementes de arroz irrigado recobertas com silício. **Revista Ceres**, v.61, n.5, p.675-685, 2014.
- VELOSO, R. A.; CASTRO, H. G. de; CARDOSO, D. P.; SANTOS, G. R. dos; BARBOSA, L. C. de A; SILVA, K. P. da. Composition and fungitoxicity of essential oil of citronella grass as affected by organic fertilization. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.47, n.12, p.1707-1713, 2012.
- VICTORIA, F. N.; ANVERSA, R.; PENTEADO, F.; CASTRO, M.; LENARDÃO, E. J.; SAVEGNAGO, L. Antioxidant and antidepressant-like activities of semi-synthetic α -phenylseleno citronellal. **European Journal of Pharmacology**, v. 742, p. 131-138, 2014.
- VICTORIA, F. N.; RADATZ, C. S.; SACHINI, M.; JACOB, R. G.; ALVES, D.; SAVEGNAGO, L.; PERIN, G.; MOTTA, A. S.; SILVA, W. P.; LENARDÃO, E. J.

Further analysis of the antimicrobial activity of α -phenylseleno citronellal and α -phenylseleno citronellol. **Food Control**, v. 23, p. 95-99, 2012.

VICTORIA, F. N.; RADATZ, C.; SACHINI, M.; JACOB, R. G.; PERIN, G.; SILVA, W. P. KF/Al₂O₃ and PEG-400 as a recyclable medium for the selective α -selenation of aldehydes and ketones. Preparation of potential antimicrobial agents. **Tetrahedron Letters**, v. 50, p. 6761-6763, 2009.

YESUF, M.; SANGCHOTE, S. Seed transmission and epidemics of *Colletotrichum lindemuthianum* in the major common bean growing areas of Ethiopia. **Kasetsart Journal (Nat. Science)**, n. 39, p. 34-45, 2005.

XAVIER, M.V.A.; OLIVEIRA, C.R.F.; BRITO, S.S.S.; MATOS, C.H.C.; PINTO, M.A.D.S.C. Viabilidade de sementes de feijão caupi após o tratamento com óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, p.250-254, 2012.

ZHOU, H.; TAO, N.; JIA, L. Antifungal activity of citral, octanal and α -terpineol against *Geotrichum citri-aurantii*. **Food Control**, v. 37, p. 277-283, 2013.

Anexos

Anexo 1. Características morfológicas das colônias do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* após submetido aos tratamentos com os compostos semissintéticos em diferentes concentrações (1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,0625%, 0,03125%, 0,015625%, 0,0078125%, 0,00390625%).

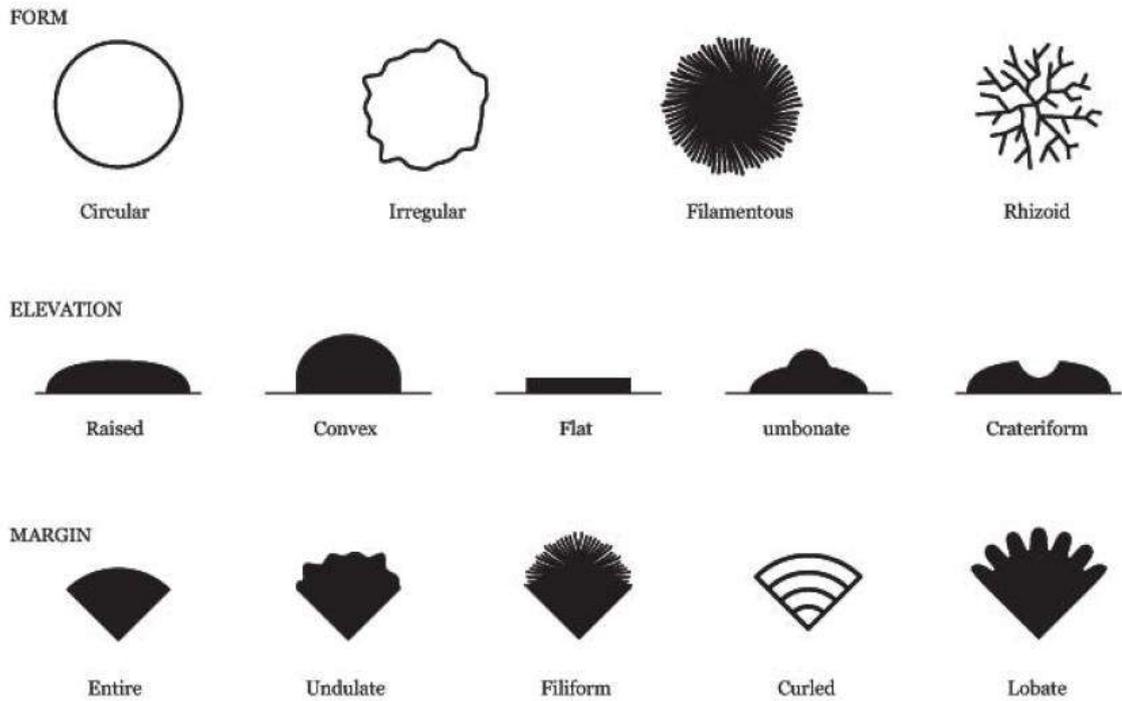
Tratamento	Coloração*	Margem**	Elevação**	Formato**
[] 1%				
TESTEMUNHA	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
DMSO	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
Phenyl S Citral	Dark greenin gray - Gley 1 3/5Gy	Lobate	Raised	Irregular
Phenyl Se Citronellal	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3 SGY	Lobate a circular	Raised	Irregular
Citral	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3 SGY	Lobate a circular	Raised	Irregular
[] 0,5%				
TESTEMUNHA	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
DMSO	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
Phenyl S Citral	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Circular	Plano	Circular
Phenyl Se Citronellal	NÃO CRESCEU			
Citral	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
[] 0,25%				
TESTEMUNHA	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
DMSO	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
Phenyl S Citral	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
Phenyl Se Citronellal	Dark greenin gray - Gley 1 3/5Gy	Circular	Raised	Circular
Citral	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
[] 0,125%				
TESTEMUNHA	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
DMSO	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
Phenyl S Citral	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
Phenyl Se Citronellal	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
Citral	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
[] 0,0625%				
TESTEMUNHA	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
DMSO	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
Phenyl S Citral	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
Phenyl Se Citronellal	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
Citral	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
[] 0,03125%				
TESTEMUNHA	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
DMSO	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
Phenyl S Citral	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Circular	Plano	Circular
Phenyl Se Citronellal	Dark greenin gray - Gley 1 3/5Gy	Circular	Raised	Circular
Citral	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular

Anexo 1 (Continuação). Características morfológicas das colônias do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* após submetido aos tratamentos com os compostos semissintéticos em diferentes concentrações (1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,0625%, 0,03125%, 0,015625%, 0,0078125%, 0,00390625%).

Tratamento	Coloração*	Margem**	Elevação**	Formato**
TESTEMUNHA	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
DMSO	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
Phenyl S Citral	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
Phenyl Se Citronellal	Dark greenin gray - Gley 1 3/5Gy	Circular	Raised	Circular
Citral	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
[] 0,0078125%				
TESTEMUNHA	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
DMSO	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
Phenyl S Citral	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
Phenyl Se Citronellal	Dark greenin gray - Gley 1 3/5Gy	Circular	Raised	Circular
Citral	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
[] 0,00390625%				
TESTEMUNHA	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
DMSO	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
Phenyl S Citral	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
Phenyl Se Citronellal	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular
Citral	Very Dark Greenish Gray - Gley 1 3/10Y	Concêntrica	Plano	Circular

* Forma, margem e elevação com base à chave descrita por Microbiology Society (2016).

** Coloração das colônias com base à escala de solos de Mussel (1954).

Anexo 2. Chave utilizada para descrições das colônias em fungos.

Fonte: Microbiology society (2016).