



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO PIAUÍ CAMPUS
COCAL
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM AGROECOLOGIA**

OTÁVIO PEREIRA ARAUJO

**POTENCIAL DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CINCO ESPÉCIES NATIVAS DO
ECÓTONO AMAZÔNIA-CAATINGA NO CONTROLE DE *Fusarium verticillioides*
EM SEMENTES DE MILHO**

COCAL - PI

2020

OTÁVIO PEREIRA ARAUJO

**POTENCIAL DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CINCO ESPÉCIES NATIVAS DO
ECÓTONO AMAZÔNIA-CAATINGA NO CONTROLE DE *Fusarium verticillioides*
EM SEMENTES DE MILHO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como exigência
parcial para obtenção do diploma
do Curso Superior de Tecnologia
em Agroecologia do Instituto
Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Piauí – Campus
Cocal.

Orientador: Prof. Dr. Jean
Herllington de Araujo Monteiro.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Araújo, Otávio Pereira

A663p Potencial de óleos essenciais de cinco espécies nativas do ecótono
Amazônia-Caatinga no controle de fusarium verticillioides em sementes de
milho / Otávio Pereira Araújo. - 2020.
30 p.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Agroecologia) - Instituto
Federal do Piauí, Campus Cocal, 2020.

Orientador : Prof. Dr. Jean Herllington de Araujo Monteiro.

1. Fusarium verticillioides. 2. Zea mays. 3. Controle alternativo. I. Título.

CDD - 630

Elaborado por Cinthia Rachel Alves Rodrigues CRB 3/1348

OTÁVIO PEREIRA ARAUJO

**POTENCIAL DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CINCO ESPÉCIES NATIVAS DO
ECÓTONO AMAZÔNIA-CAATINGA NO CONTROLE DE *Fusarium verticillioides*
EM SEMENTES DE MILHO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como exigência
parcial para obtenção do diploma
do Curso Superior de Tecnologia
em Agroecologia do Instituto
Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Piauí – Campus
Cocal.

Aprovado em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jean Herllington de Araujo Monteiro (Orientador)
Instituto Federal do Piauí (IFPI)

Profa. Esp. Roseane Cássia Galeno Oliveira
Secretaria Estadual do Piauí (SEDUC – PI)

Prof. Me. Nailton Rodrigues de Castro
Instituto Federal do Piauí (IFPI)

Prof. Dr. Joseph Jonathan Dantas de Oliveira
Instituto Federal do Piauí (IFPI)

Aos meus pais, Rita Pereira e Vicente Vieira por todo apoio e incentivo dado a mim. Aos meus Padrinhos, Valdênia, Jefferson, Cláudio, Wallison, Felipe e Valdeí, por todo apoio e companheirismo. *In memoriam* ao meu colega de curso Francisco Teles e ao meu amigo Clemerson que também fizeram parte dessa conquista. Ao meu orientador, Jean Herlligton por toda dedicação e compreensão. E aos meus amigos e familiares.

Dedico a Vocês!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder o dom da vida e está sempre presente me dando forças para enfrentar as batalhas que surgiram durante essa jornada, guiando-me sempre com muito amor e proteção.

Aos meus pais, Rita Pereira Araujo e Vicente Vieira Araujo por todo amor, compreensão e valores transmitidos, por serem minha fortaleza, fonte de carinho e inspiração.

Aos meus Padrinhos, Valdênia, Jeferson, Cláudio, Wallison, Felipe e Valdeí pelo apoio que me deram nessa jornada, por me acompanharem sempre e compartilharem comigo momentos inesquecíveis.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, *Campus Cocal*, pela oportunidade e gozo da realização da Graduação. E ao quadro de professores que foram grandes colaboradores em minha formação acadêmica, em especial Joseph, Flávio, Nailton, Raul, Sandro, Vandenberg, Francisca e Ronaldo, por todo incentivo e motivação.

Em especial ao meu extraordinário orientador e pai de coração o Professor Doutor Jean Herllington de Araújo Monteiro por todo ensinamento, respeito, dedicação e paciência em compartilhar os ensinamentos e experiências.

Aos meus amigos, Roseane Oliveira, Mauricélia, Warley Martins, Lilian Miranda, Tiago Barroso, Caroline Chaves, Thaís Carvalho, William Aguiar por terem sido meus fiéis companheiros sempre me apoiando e me dando o suporte que eu precisava e a minha amiga Katriane, parceira de pesquisas.

A todos vocês o meu muito obrigado!

“Cada dia a natureza produz o suficiente para nossa carência. Se cada um tomasse o que lhe fosse necessário, não havia pobreza no mundo e ninguém morreria de fome.”

(Mahatma Gandhi).

POTENCIAL DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CINCO ESPÉCIES NATIVAS DO ECÓTONO AMAZÔNIA-CAATINGA NO CONTROLE DE *Fusarium verticillioides* EM SEMENTES DE MILHO

Otávio Pereira Araujo¹
Jean Herllington de Araujo Monteiro²

RESUMO

Objetivou-se avaliar o potencial de óleos essenciais de cinco espécies nativas sobre o desenvolvimento de *Fusarium verticillioides*, seu efeito na germinação e na sanidade das sementes da cultura do milho. Este trabalho foi desenvolvido no laboratório de Agricultura do IFPI *campus* Cocal. A extração dos óleos essenciais foi realizada através da técnica por arraste. A contagem de conídios foi realizada com auxílio da câmara de Neubauer. Com os dados do crescimento calculou-se a Área Abaixo da Curva do Crescimento Micelial - AACCM. No teste de germinação e incidência, as sementes de milho foram submetidas à inoculação e tratamento (0,5, 0,65, e 0,75 mL) dos extratos das plantas medicinais. Foram quantificadas três espécies de fungos, *F. verticillioides*, *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. sendo o último, presente em 60% das amostras, *F. verticillioides* 30% e *Penicillium* spp. 10 % respectivamente. Carnaúba (CA) e Marmeleiro (MA) apresentaram melhor desempenho em comparação à redução do crescimento micelial de *F. verticillioides*, apresentando valor de 45,5% de redução. Seguido pela Imburana com 27,7% de redução do crescimento de *F. verticillioides*. Além da redução do crescimento micelial do *Fusarium*, foi observado que cerca de 95% das sementes germinaram. 100% dos tratamentos tiveram resultados semelhantes em relação AACCM de *F. verticillioides*, ou seja, houve em todos os tratamentos aumento do crescimento em reação ao dia anterior. Concluímos que, os tratamentos com óleos de Açoita-cavalos (AC), Aroeira (AR) e Imburana (IM) não afetaram a porcentagem de germinação das sementes no decorrer do experimento. No entanto, percebemos que os resultados obtidos se mostraram satisfatórios com o uso dos óleos essenciais de CA e MA, pois afetaram significativamente o desenvolvimento dos micélios de *Fusarium*. Com base na análise do efeito da germinação das sementes de milho, é possível observar que, houve comportamento semelhante entre os óleos essenciais de CA e MA. Nos testes sob a concentração de 0,65 mL destes óleos essenciais, das cinco sementes testadas, três e duas germinaram respectivamente. Porém, quando submetidas a concentração de 0,75 mL de CA e MA, percebemos que 100% das sementes germinaram. Portanto, abre-se precedente para novos trabalhos para investigar qual porcentagem ideal desses produtos naturais para se reduzir as atividades fungitóxicas de *F. verticillioides* no desenvolvimento da planta no campo.

Palavras chave: *Fusarium verticillioides*; *Zea mays*; Controle alternativo.

¹ Graduado em Licenciatura Plena em Geografia pela Universidade Federal do Piauí – UFPI, Graduando em Tecnologia em Agroecologia pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia *Campus* Cocal, e-mail: araujo.otavio1994@gmail.com

² Graduado em Agronomia pela Universidade Federal do Ceará- UFC, Mestrado em Agronomia (Fitopatologia) pela Universidade Federal de Lavras- UFLA e Doutorado em Fitopatologia pela Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFPE, email: jean.herllington@ifpi.edu.br

POTENTIAL OF ESSENTIAL OILS OF FIVE NATIVE SPECIES OF COCAL-PI THE CONTROL OF *Fusarium verticillioides* IN CORN SEEDS

ABSTRACT

The objective was to evaluate the potential of essential oils of five native species on the development of *Fusarium verticillioides* and its effect on germination and seed health of maize. This work was developed in the Agriculture laboratory of the IFPI campus Cocal. The extraction of essential oils was carried out using the drag technique. Conidium counting was performed with the aid of the Neubauer chamber. With the growth data, the Area Below the Mycelial Growth Curve - ABMGC was calculated. In the germination and incidence test, corn seeds were subjected to inoculation and treatment (0.5, 0.65, and 0.75 mL) of the extracts of medicinal plants. Three species of fungi were quantified, *F. verticillioides*, *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. the latter being present in 60% of the samples, *F. verticillioides* 30% and *Penicillium* spp. 10% respectively. CA and MA showed better performance when compared to the reduction of the mycelial growth of *F. verticillioides*, with a value of 45.5% reduction. Followed by Imburana with a 27.7% reduction in the growth of *F. verticillioides*. In addition to the reduction of *Fusarium* mycelial growth, it was observed that about 95% of the seeds germinated. 100% of the treatments had similar results in relation to *F. verticillioides* AACCM, that is, in all treatments there was an increase in growth in reaction to the previous day. We conclude that the treatments with AC, AR and IM oils did not affect the germination percentage of the seeds during the experiment. However, we realized that the results obtained were satisfactory with the use of CA and MA essential oils, as they significantly affected the development of *Fusarium* mycelia. Based on the analysis of the germination effect of corn seeds, it is possible to observe that there was a similar behavior between the essential oils of Carnaúba (CA) and Marmeleiro (MA). In the tests under the concentration of 0.65 mL of these essential oils, of the five seeds tested, three and two germinated respectively. However, when subjected to a concentration of 0.75 mL of CA and MA, we noticed that 100% of the seeds germinated. Therefore, a precedent is set for new works to investigate which ideal percentage of these natural products to reduce the funxitoxic activities of *F. verticillioides* in the development of the plant in the field.

Keywords: *Fusarium verticillioiedes*, *Zea mays*, alternative control.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	- Incidência de fungos em sementes de milho cultivados em Cocal.....	19
Figura 2	- Efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial de <i>F. verticillioides</i>	20
Figura 3	- Área abaixo da curva de crescimento micelial - AACCM nos testes com os óleos essenciais.....	21
Figura 4	- Percentagem de sementes de milho germinadas em relação aos óleos essenciais empregados.....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Efeito dos óleos essenciais a 0,5% em relação a AACCM de <i>Fusarium verticillioides</i>	22
Tabela 2	– Efeito dos óleos essenciais a 0,65% em relação a AACCM de <i>Fusarium verticillioides</i>	22
Tabela 3	– Efeito dos óleos essenciais a 0,75% em relação a AACCM de <i>Fusarium verticillioides</i>	23

LISTA DE ABREVIACÕES

AACCM	Área Abaixo da Curva do Crescimento Micelial
A.D.E	Água Destilada Estéril
AC	Açoita Cavalo
AR	Aroeira
CA	Carnaúba
<i>F.</i>	<i>Fusarium</i>
IFPI	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí
IM	Imburana
MA	Marmeleiro

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1 CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA.....	13
1.2 Objetivo geral	14
1.3 Objetivos específicos	14
2. METODOLOGIA	15
2.1 OBTENÇÃO DAS SEMENTES DE MILHO	15
2.2 AVALIAÇÃO DA SANIDADE DE SEMENTES DE MILHO E OBTENÇÃO DO FUNGO <i>Fusarium verticillioides</i>	15
2.2 EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS PLANTAS NATIVAS DE COCAL-PI... 16	
2.3 AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTOS MICELIAL E CONTAGEM DOS CONÍDIOS.....	16
2.4 AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO DAS SEMENTES INOCULADAS ARTIFICIALMENTE COM <i>Fusarium verticillioides</i> TRATADAS COM EXTRATOS VEGETAIS.....	17
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
3.1 AVALIAÇÃO DA SANIDADE DE SEMENTES.....	18
3.2 AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL.....	19
3.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO	23
4. CONCLUSÕES.....	24
REFERÊNCIAS	25
APÊNDICES	27

1. INTRODUÇÃO

1.1 CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA

A planta do milho (*Zea mays*) é uma gramínea que pertence à família das Poaceae e essa espécie ocupa grande parte das atividades agrícolas rurais. Porém, ao se utilizar variedades suscetíveis a patógenos e o manejo incorreto dos modelos produtivos, podem ocasionar o aumento de problemas fitossanitários nas variedades do milho (CRUZ et al., 2011).

O conhecimento da dinâmica das doenças no campo e a interferência dos fatores climáticos em seu desenvolvimento são de grande importância para um manejo fitopatológico adequado das plantas. Grande parte dos problemas fitossanitários do milho estão associados aos fungos. Durante o período de germinação, as plântulas de milho são atacadas por fungos do solo podendo levar a morte da plântula (REIS, CASA E BRESOLIN, 2004).

Dentre os patógenos associados às sementes, destaca-se o *Fusarium verticillioides*, uma espécie de fungo que pode causar diversos problemas como a morte de plântulas, podridão de espiga e colmo, podendo levar a reduções na produtividade (REIS, CASA E BRESOLIN, 2004).

O plantio de sementes de boa qualidade sanitária na semeadura é de fundamental importância para o desenvolvimento da lavoura, uma vez que as sementes podem se tornar fonte de inóculo (MENTEN, 1995).

As principais práticas empregadas para o controle de fungos associados as sementes de milho são os defensivos químicos (BETTIOL, 2015). Há praticamente meio século, vem se utilizando essa prática, a fim de controlar injúrias nas sementes. O uso abusivo do método de controle químico vem causando, através dos tempos, uma série de prejuízos tanto no ambiente quanto em humanos (CRUZ et al., 2011).

Entretanto, as estratégias de manejo alternativo têm como função, controlar doenças e pragas, sem ter o mesmo efeito problemático dos agrotóxicos (BETTIOL, 2015). Nos dias atuais, tem se verificado a necessidade de estudos sobre o uso do método de controle alternativo por meio de plantas nativas e medicinais sobre *Fusarium verticillioides*, fungo que pode ocasionar grandes perdas em áreas produtoras de milho, além de problemas relacionados com a intoxicação alimentar por

animais e seres humanos através das micotoxinas sintetizadas pelo fungo. Em sementes, esse patógeno pode gerar reduções na qualidade de grãos e na redução do poder germinativo.

Segundo Bizzo et al. (2009), vários estudiosos têm se dedicado em pesquisas com produtos alternativos que apresentam em sua composição substâncias antifúngicas e que possam ser utilizadas em experimentos visando o controle de agentes patogênicos causadores de danos nas culturas, mas, que esses produtos possam ser menos agressivos aos locais ambientais e à saúde humana. De acordo com Vigan (2010), os óleos essenciais são produtos naturais alternativos que apresentam características satisfatórias no manejo de doenças de plantas. Estes produtos são compostos gerados a partir de metabólitos secundários de plantas. Muitos desses óleos naturais são importantes devido a pouca toxicidade a humanos, logo, podem ser utilizados com bastante segurança.

Diante do exposto, pode-se levar em consideração que o uso de estratégias mais ecológicas e que causam menos danos aos fatores socioambientais podem diminuir a demanda da aplicação de agrotóxicos nos sistemas de produção agrícola, o que resulta em várias vantagens ambientais e saudáveis aos produtores e consumidores de alimentos que buscam soberania alimentar.

Nesse contexto, objetvou-se com este trabalho avaliar o potencial de cinco óleos essenciais: Açoita Cavalo (*Luehea divaricata*), Aroeira (*Myracrodruon urundeuva*), Carnaúba (*Copernicia prunifera*), Imburana (*Commiphora leptophloeos*) e Marmeleiro (*Croton blanchetianus* Baill) no controle de *Fusarium verticillioides* em sementes de milho.

1.2 Objetivo geral

Avaliar o potencial de óleos essenciais sobre *Fusarium verticillioides* em sementes de milho do município de Cocal-Pi

1.3 Objetivos específicos

- Preparar óleos essenciais através da técnica por arraste;
- Quantificar o crescimento micelial em meio de cultura e a esporulação dos conídios de *Fusarium verticillioides* em diferentes concentrações dos extratos

de plantas nativas;

- Avaliar a germinação e a sanidade de sementes de milho inoculadas artificialmente com *Fusarium verticillioides* e tratadas com os extratos das plantas medicinais de Cocal-Pi.

2. METODOLOGIA

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Agricultura do Instituto Federal do Piauí - *Campus* Cocal, entre os meses de dezembro de 2019 a maio de 2020.

2.1 OBTENÇÃO DAS SEMENTES DE MILHO

As sementes de milho foram obtidas do município de Cocal-Pi, nas comunidades Boiba, Pedra Preta e Angico Branco na safra 2019/2020, sendo obtidas cerca de 100 sementes por comunidade. O material foi colocado em sacos de papel e transferidas para o Laboratório de Agricultura do Instituto Federal do Piauí - *Campus* Cocal. Em seguida, foram desinfestadas por meio da imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1%, durante 3 minutos. Posteriormente, as sementes foram lavadas com água esterilizada e secas à temperatura ambiente.

2.2 AVALIAÇÃO DA SANIDADE DE SEMENTES DE MILHO E OBTENÇÃO DO FUNGO *Fusarium verticillioides*.

A análise sanitária e o isolamento do fungo *F. verticillioides* foram realizadas com sementes de milho descritas no item 2.1. A sanidade seguiu o procedimento descrito no Manual de Análise Sanitária de Sementes (BRASIL, 2009), o qual foi avaliada a presença de fungos associados a cultura do milho.

O teste da sanidade de sementes foi realizado em placas de Petri, onde foi adicionado meio de cultura batata-dextrose-água (BDA). Estas foram depositadas sobre o BDA, sendo utilizadas cinco sementes por placa. Em seguida as amostras foram incubadas a 25°C e fotoperíodo 12 horas, sendo avaliadas após sete dias. Logo após, o material foi examinado individualmente com auxílio de lupa estereoscópica e microscópio ótico de luz e realizada uma avaliação quantitativa dos patógenos presentes nas mesmas. As sementes de milho que apresentaram sinais de presença

de *F. verticillioides* foram submetidas a isolamento do patógeno. Após a obtenção do isolado, o mesmo foi cultivado em meio de cultura BDA e mantido a 25°C e fotoperíodo de 12 horas.

2.2 EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS PLANTAS NATIVAS DE COCAL-PI

A extração dos óleos essenciais foi realizada pelo método do arraste, que consistiu em submeter o material vegetal tais, como: folhas de Marmeleiro (*Croton blanchetianus* Baill), cascas de Açoita Cavalo (*Luehea divaricata*), Imburana (*Commiphora leptophloeos*) e Aroeira (*Myracrodruon urundeuva*), e raiz de Carnaúba (*Copernicia prunifera*), à ação do vapor d'água, resultando na extração dos óleos essenciais.

Inicialmente, colocou-se a matéria-prima em um balão de fundo redondo misturado com água destilada. O balão foi aquecido em uma manta térmica até o processo de ebulição. O vapor da água arrastou as substâncias aromáticas voláteis e chegou ao condensador, passando pela etapa de resfriamento, cuja mistura voltou para o estado líquido gerando assim os óleos essenciais. Por fim, os óleos essenciais foram armazenados em recipientes de 10 mL e acondicionados no laboratório de agricultura do IFPI- *Campus Cocal*.

2.3 AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTOS MICELIAL E CONTAGEM DOS CONÍDIOS

Os extratos brutos obtidos conforme o item 2.2 foram incorporados ao meio de cultura e distribuídos em placa de Petri. Após a sua solidificação, um disco de micélio com 5 mm de diâmetro de *F. verticillioides*, com 10 dias de idade, foi repicado para o centro de cada placa que foram vedadas e incubadas em câmara de crescimento.

As avaliações foram realizadas diariamente, através da medição do diâmetro das colônias previamente marcadas na parte externa do fundo das placas (a média de duas medidas diametralmente opostas). Cada placa correspondeu a uma repetição, totalizando cinco placas de Petri. As medidas foram efetuadas até que o tratamento controle atingisse mais que 100% da placa. Para o cálculo da Área Abaixo da Curva de Crescimento Micelial (AACCM) foi utilizada a fórmula descrita por (MEDEIROS; VIANA; ALBUQUERQUE, 2012).

$$AACCM = \frac{\mu \text{ Testemunha} - \mu \text{ Tratamento}}{\mu \text{ Testemunha}} * 100$$

Onde:

AACCM= Área abaixo da Curva de Crescimento Micelial (adimensional);

μ Testemunha= crescimento micelial médio do tratamento água destilada (cm);

μ Tratamento= crescimento micelial médio do tratamento de interesse (cm).

Para a avaliação de esporulação dos conídios de *F. verticillioides* foi realizada utilizando a câmara de Neubauer (ALFENAS; MAFIA, 2007). A contagem foi feita via uma suspensão de conídios obtidos das placas de Petri do experimento da avaliação do crescimento micelial. Foram adicionadas 10 mL de água destilada nas colônias, em seguida foi raspada com auxílio da alça de Drigalski e a suspensão foi filtrada em gaze. A contagem dos conídios foi realizada em câmara de Neubauer com auxílio de um microscópio ótico.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) utilizando plantas medicinais em arranjo fatorial de 5 x 3, sendo cinco plantas nativas (Açoita Cavalo, Aroeira, Carnaúba, Imburana e Marmeleiro) e três concentrações (0,5, 0,65 e 0,75mL) e cinco repetições. Cada parcela foi constituída por uma placa de Petri. Os dados foram sujeitos à análise de variância, e em seguida, análise de regressão para as concentrações dos óleos essenciais a 5% de probabilidade. Para a análise dos dados foi utilizado o programa STATISTIX 9.0.

2.4 AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO DAS SEMENTES INOCULADAS ARTIFICIALMENTE COM *Fusarium verticillioides* TRATADAS COM EXTRATOS VEGETAIS

Para avaliar a germinação das sementes, estas foram desinfestadas em uma solução de hipoclorito de sódio 1% por 3 minutos. Após o tratamento das sementes com as concentrações de cada extrato em um período de 10 minutos, as sementes foram imersas em suspensão de conídios de *F. verticillioides* (10^6 conídios /mL) por 10 minutos.

Após os tratamentos das sementes, foi realizado o teste padrão de germinação em placas de Petri, os quais quatro amostras contendo 5 sementes, por tratamento, foram semeadas igualmente espaçadas sobre três folhas de papel tipo germitest, as

quais foram embebidas em água destilada. Em seguida, as placas foram colocadas na câmara de crescimento, com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas. A contagem de sementes germinadas e mortas foi realizada no 7º dia (BRASIL, 2009a).

O delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial (5 x 3), sendo cinco plantas nativas (Açoita Cavalo, Aroeira, Carnaúba, Imburana e Marmeleiro) e três concentrações (0,5, 0,65 e 0,75mL) e cinco repetições. Cada parcela foi constituída por uma placa de Petri. Os dados foram submetidos à análise de variância, e em seguida, submetidos ao teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para a análise dos dados foi utilizado o programa STATISTIX 9.0.

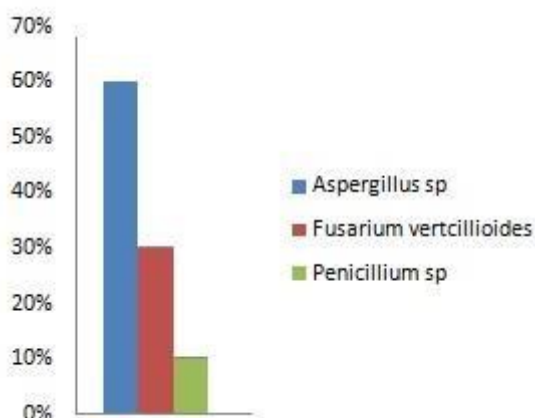
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nessa perspectiva, e preocupados com essa realidade local também são apresentadas possíveis estratégias de controle alternativo no controle do fitopatógeno.

3.1 AVALIAÇÃO DA SANIDADE DE SEMENTES

Na figura 1 são apresentados os resultados da incidência de fungos nas sementes de milho cultivadas em Cocal.

Figura 1 Incidência de fungos em sementes de milho cultivadas em Cocal, IFPI, 2020.



Fonte: autor

Foram quantificadas três espécies de fungos, *F. verticillioides*, *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. sendo *Aspergillus* spp., presentes em 60% das amostras, *Fusarium verticillioides* 30% e *Penicillium* spp. 10 % respectivamente. Segundo Brasil (2011), os fungos associados a sementes de milho são causadores de vários problemas, sendo a podridão das sementes o mais comum. Segundo Mendes et al. (2012) além da podridão de sementes de milho, estes gêneros de fungos causam danos físicos nos grãos deteriorando as sementes e ocasionando perdas.

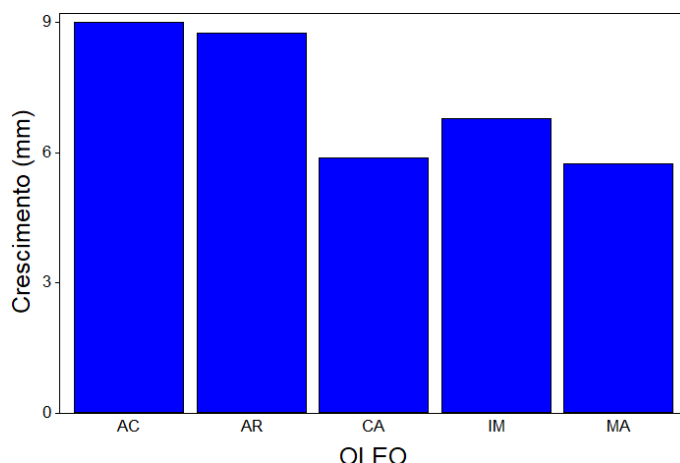
Dentre os fungos associados às sementes de milho, o *F. verticillioides*, merece destaque por ser classificado como fungo causador de podridão de sementes, causar danos nas mudas, ocasionar podridão do colmo e apodrecer os grãos armazenados (LANZA et al., 2016). Segundo Mendes et al. (2012), *F. verticillioides* é de extrema importância, pois o mesmo associado com as sementes dependendo das condições ambientais pode favorecer a produção de micotoxinas que podem causar danos à saúde humana e animal. O plantio de milho com sementes infestadas por *F. Verticillioides*, pode interferir na germinação das sementes e no desenvolvimento da cultura do milho, causando danos nas plântulas e podridões radiculares e no colmo, reduzindo a produtividade.

A incidência desses fungos está principalmente relacionada com a temperatura de armazenamento e o momento em que foi realizada a colheita das sementes, que podem ter afetado diretamente sua umidade o que favoreceu o crescimento desses patógenos na matéria prima analisada.

3.2 AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL

Na figura 2 são apresentados os resultados do efeito dos óleos essenciais de plantas nativas (Açoita Cavalo – AC, Aroeira – AR, Carnaúba - CA, Imburana - IM e Marmeleiro MA) do município de Cocal.

Figura 2 Efeito dos óleos essenciais sobre o crescimento micelial de *F. verticillioides*, IFPI, 2020.



AC= óleo essencial de obtido da planta açoita cavalo, AR= óleo essencial de obtido da Aroeira, CA= óleo essencial de obtido da Carnaúba, IM = óleo essencial de obtido da Imburana e MA= óleo essencial de obtido da Marmeleiro.

Fonte: autor

Conforme a figura 2, Carnaúba e Marmeleiro apresentaram melhor desempenho em relação à redução do crescimento micelial de *F. verticillioides*, apresentando valor de 45,5% de redução. Seguidos pela Imburana com redução de 27,7% de redução do crescimento de *F. verticillioides*. Além da redução do crescimento micelial do *F. verticillioides*, foi observado que cerca de 95% das sementes germinaram.

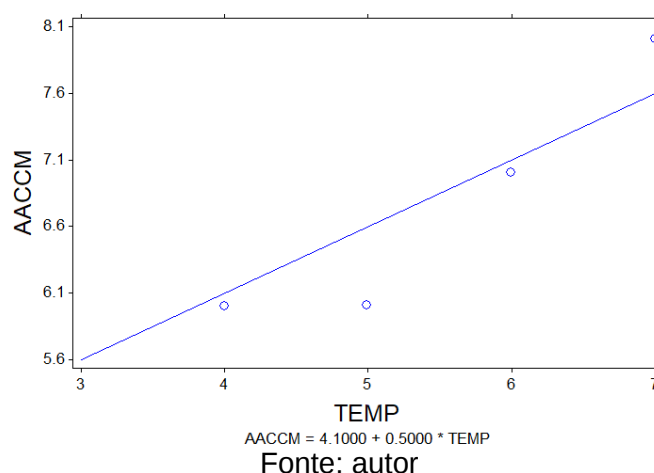
Os resultados obtidos corroboram com Hillen et al. (2012) logo, foi observado o efeito dos óleos essenciais empregados em seu experimento cujo houve efeito positivo na redução do crescimento micelial de fungos associados a semente de milho e em sua germinação. No trabalho realizado por Rossi et al. (2012) sementes de milho tratadas com óleo essencial de planta nativa local apresentou melhoramento na germinação das sementes de milho. Em contrapartida, a pesquisa realizada por Gomes et al. (2016) obtiveram efeito contrário em relação a germinação de sementes e na redução do vigor das plântulas. Este resultado pode ter ocorrido devido à alta concentração utilizada pelos pesquisadores.

Na literatura, encontram-se trabalhos sobre o uso de métodos naturais para o manejo de fungos associados às sementes, dentre elas o milho. Consoante com os trabalhos, o uso de óleo essencial contribui na redução do uso de produtos químicos, ao qual, contaminam o agricultor, deixam resíduos nos produtos agrícolas, prejudicam o solo, diminuindo a microbiota, contaminando a água e o meio ambiente (BETTIOL, 2015), e (MARIANI; HENKES, 2015).

As informações sobre área abaixo da curva de crescimento micelial estão

apresentadas na figura 3 e nas tabelas 1, 2 e 3.

Figura 3 Área abaixo da curva de crescimento micelial - AACCM nos testes com os óleos essenciais. IFPI, 2020



Todos os tratamentos tiveram resultados semelhantes em relação à Área Abaixo da Curva de Crescimento Micelial (AACCM) de *F. verticillioides*, ou seja, houve em todos os tratamentos aumento do crescimento em reação ao dia anterior (figura 3). Estes resultados corroboram com os experimentos realizados por Rissato et al. (2016) onde AACCM de *Fusarium solani*, não houve diferença em relação aos tratamentos utilizados. Entretanto, nas tabelas 1, 2 e 3, os resultados observados separadamente já apresentam diferenciações em relação à redução do crescimento micelial do *F. verticillioides*.

Tabela 1 Efeito dos óleos essenciais a 0,5% em relação a Área Abaixo da Curva de Crescimento Micelial - AACCM de *Fusarium verticillioides*. IFPI, 2020

TRATAMENTO	CONCENTRAÇÃO	TAXA DE AACCM EM MM
Açoita Cavalo	0,5 mL	7,3
Aroeira		7,0
Carnaúba		5,7
Imburana		6,6
Marmeleiro		5,7
Testemunha A.D.E		7, 6

Fonte: autor

Na concentração 0,5 mL de óleos essenciais de Carnaúba e Marmeleiro, a taxa de crescimento micelial de *F. verticillioides* foi de 5,7 mm, o que mostra boa redução de AACCM. Quando submetido ao óleo essencial da Imburana, o *Fusarium* não conseguiu ocupar todo o espaço da placa de Petri, tendo o seu crescimento retardado.

Já os óleos essenciais de Açoita Cavalo e Aroeira apresentaram AACCM próximo da Testemunha A.D.E, o que mostra que esses tratamentos não foram eficazes para controlar o fungo *F. verticillioides*.

Tabela 2 Efeito dos óleos essenciais a 0,65% em relação a Área Abaixo da Curva de Crescimento Micelial - AACCM de *Fusarium verticillioides*. IFPI, 2020

TRATAMENTO	CONCENTRAÇÃO	TAXA DE AACCM EM MM
Açoita Cavalo	0,65 mL	7,3
Aroeira		7,3
Carnaúba		5,4
Imburana		6,6
Marmeleiro		5,4
Testemunha A.D.E		7,6

Fonte: autor

Na concentração de 0,65 mL, os óleos essenciais de Açoita Cavalo, Aroeira e Imburana foram equivalentes à testemunha, o que mostra a não eficiência no controle do fungo. Verificou-se uma redução de AACCM de *F. verticillioides* quando submetido ao óleo essencial de Imburana. Observou-se que, os tratamentos Carnaúba e Marmeleiro apresentaram resultados condizentes ao esperado. Mesmo não controlando totalmente o *Fusarium verticillioides*, estes óleos reduziram o crescimento do fungo.

Tabela 3 Efeito dos óleos essenciais a 0,75% em relação a área abaixo da curva de crescimento micelial - AACCM de *F. verticillioides*. IFPI, 2020

TRATAMENTO	CONCENTRAÇÃO	TAXA DE AACCM EM MM
Açoita Cavalo	0,75 mL	7
Aroeira		5,9
Carnaúba		5
Imburana		6,4
Marmeleiro		5,0
Testemunha A.D.E		7,6

Fonte: autor

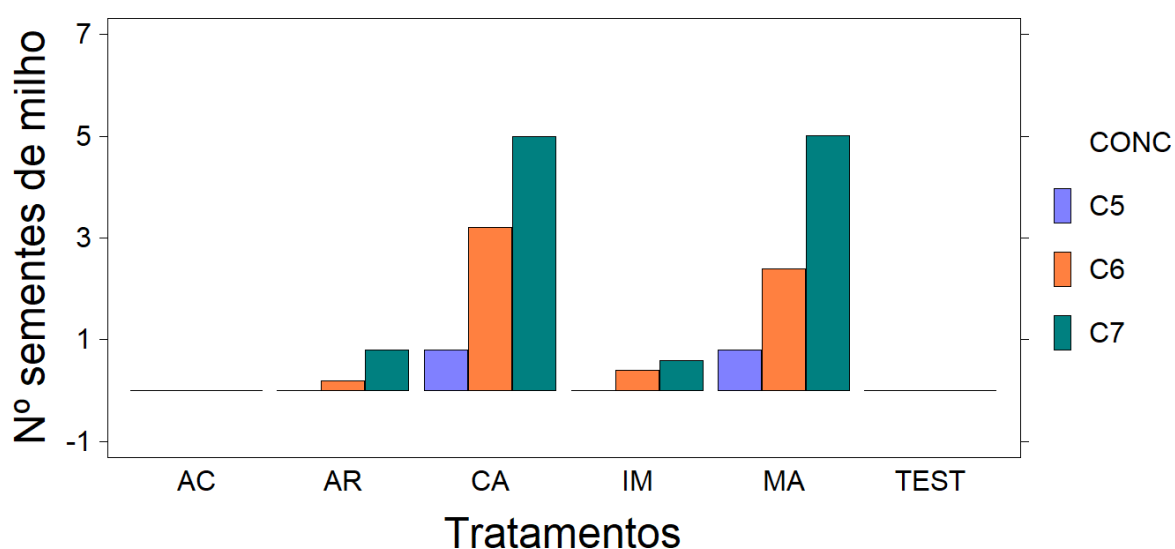
Os resultados obtidos no presente trabalho mostram total eficácia dos óleos essenciais de Carnaúba e Marmeleiro no controle de *F. verticillioides*. Pois, estes óleos, ao serem utilizados na concentração de 0,75 mL, conseguiram inibir totalmente o crescimento micelial do fungo. Os óleos essenciais de Imburana e Aroeira quando comparados aos tratamentos Açoita Cavalo e a Testemunha A.D.E também mostraram bons resultados de redução do crescimento micelial de *Fusarium spp.*, mas

não o suficiente para a redução total de crescimento micelial. Foi possível perceber que, quanto maiores forem as doses dos óleos essenciais utilizados no experimento maior será a probabilidade de controle de *F. verticillioides*.

3.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO

A seguir, são apresentados os resultados em relação a germinação de sementes de milho tratados com os óleos essenciais.

Figura 4 Percentagem de sementes de milho germinadas em relação aos óleos essenciais empregados. IFPI, 2020



AC= óleo essencial obtido da planta açoita cavalo, AR= óleo essencial obtido da Aroeira, CA= óleo essencial obtido da Carnaúba, IM= óleo essencial obtido da Imburana e MA= óleo essencial obtido do Marmeleiro, C5= concentração a 0,5 mL, C6= concentração a 0,65 mL, C7= concentração 0,75 mL.

Fonte: autor

Com base na análise do efeito da germinação das sementes de milho, é possível observar que, houve comportamento semelhante entre os óleos essenciais de Carnaúba (CA) e Marmeleiro (MA). Nos testes sob a concentração de 0,65 mL destes óleos essenciais, das cinco sementes testadas, três e duas germinaram respectivamente. Porém, quando submetidas a concentração de 0,75 mL de CA e MA, percebemos que 100% das sementes germinaram. Mesmo com a presença de *F. verticillioides*. O que representa resultados satisfatórios e primordiais para a pesquisa.

Nos outros tratamentos ocorreu redução na germinação das sementes e presença de fungos associados, já que os testes com óleos essenciais de Aroeira (AR) e Imburana (IM), apresentaram 60% e 40% de germinação das sementes de milho, respectivamente. Enquanto o tratamento com óleo essencial de açoita cavalo (AC) não apresentou germinação das sementes. Isso sugere que houve efeito fitotóxico sobre a germinação das sementes de milho. Os experimentos realizados com os óleos essenciais testados, diferiram da testemunha (TEST), com exceção do tratamento com o óleo Açoita Cavalo (AC) devido o efeito fitotóxico sobre a germinação. Os dados do trabalho corroboram com os resultados de Hillen et al. (2012), onde observaram que os efeitos dos óleos utilizados nos seus tratamentos melhoraram o percentual de germinação das sementes avaliadas.

Mesmo que ainda sejam preliminares os resultados deste estudo demonstram um grande potencial para utilização no preparo das sementes de milho para plantio no município de Cocal (PI), porém mais análises são necessárias para observação de outras concentrações e identificações dos princípios ativos presentes em cada óleo testado, bem como aos métodos e frequência de aplicação das concentrações no controle do agente causal das doenças das sementes do milho e no desenvolvimento da planta em condições de campo.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que, *Aspergillus* spp. *Fusarium verticillioides* e *Penicillium* spp, foram os fungos que apresentaram maior incidência nas sementes de milho em estudos realizados no município de Cocal-PI.

Os tratamentos com óleos essenciais de Aroeira e Imburana não afetaram a porcentagem de germinação das sementes no decorrer do experimento.

No entanto, percebemos que os resultados foram satisfatórios com os óleos essenciais de Carnaúba e Marmeleiro, pois afetaram significativamente o crescimento micelial de *F. verticillioides*.

Com isso, abre-se precedente para novos trabalhos para investigar qual porcentagem ideal do óleo essencial para se reduzir a ação do *F. verticillioides* no desenvolvimento da planta no campo.

Portanto, acredita-se que essas estratégias de manejo podem reduzir os custos de produção. Além de ser economicamente viável e ecologicamente correta.

REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em Fitopatologia**. Viçosa: Editora UFV, 2007.
- BETTIOL, W. Controle alternativo. **Embrapa Meio Ambiente**, Belém-PA, p. 43-158, out.2015.
- BETTIOL, W. Controle alternativo. Agência Embrapa de Informação Tecnológica, Curitiba-SC, 2015.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análises de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de análise sanitária de sementes**. Brasília-DF, 2009a.
- BRASIL. Estabelece o Regulamento Técnico do Milho. **Instrução Normativa Mapa Nº 60 de 22/12/2011**. Brasília: MAPA/SDA/CGAL, 2011.
- CRUZ, J. C. MAGALHÃES, P. C., ISRAEL FILHO, I. A., MOREIRA, J. A. A. (Ed.). **Milho: O produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa, 2011.
- FERNANDES, C.D.; MARCHI, C.E.; JERBA, V.F.; BORGES, M.F. (2005) Patógenos associados às sementes de forrageiras tropicais e estratégias de controle. In: Zambolim, L. **Sementes, qualidade fitossanitária**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. p.183 -213.
- GOMES, R.S.S.1; NUNES, M.C.; NASCIMENTO, L.C.; SOUZA, J.O.; PORCINO, M.M. Eficiência de óleos essenciais na qualidade sanitária e fisiológica em sementes de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.18, n.1, p.279-287, 2016.
- HILLEN, T. SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; MESQUINI, R.M.; CRUZ, M.E.S.; STANGARLIN, J.R.; NOKAZI, M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicos *in vitro* e no tratamento de sementes. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.14, n.3, p.439-445, 2012.
- LANZA, F.E., ZAMBOLIM, L., COSTA, R. V., SILVA, D. D., QUEIROZ, V. A. V., PARREIRA, D. F., MENDES, S. M., SOUSA, A. G. C. e COTA, L. V. Aplicação foliar de fungicidas e incidência de grãos ardidos e fumonisinas totais em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 638-646,2016
- MARIANI,C.M; HENKES, J.A. Agricultura orgânica x agricultura orgânica agricultura

x agricultura convencional formas de minimizar o uso de pesticida industrial // convencional soluções para minimizar o uso de insumos industrializados. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental. Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental** V3(N2 (2014)):315 – 338, 2015.

MEDEIROS, E. V.; VIANA, M. G.; ALBUQUERQUE, C. C. Extrato etanólico de *Senna alata* no controle de *Fusarium oxysporum*, causador da murcha-de-fusarium do meloeiro. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**, Botucatu, v. 16, n. 11, p. 1166-1170, 2012.

MENDES, M. C., GARCIA, V. P. R., RESENDE, V. P. E. V., VENTURA, F. M. Comportamento de híbridos de milho inoculados com os fungos causadores do complexo grãos ardidos e associação com parâmetros químicos e bioquímicos. **Ambiência**, v. 8, n. 2, p. 275-292, 2012.

MENTEN, J.O.M. Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico. São Paulo: **Ciba Agro**, 1995. p.115- 136.

REIS, E. M.; CASA, R.T. Doenças dos cereais de inverno: diagnose, epidemiologia e controle. 2. ed. Lages: Graphel, 2007. 176 p.

RISSATO, B. B., STANGARLIN, J. R., COLTRO-RONCATO, S., DILDEY, O. D. F., GONÇALVES, E. D. V., LORENZETTI, E. Atividade *in vitro* de medicamentos homeopáticos contra *Sclerotinia sclerotiorum*. **Revista Scientia Agraria Paranaensis**. Pernambuco, v.15, 2016.

ROSSI, E., COSIMI, S., LONI, A. Bioactivity of essential oils from Mediterranean plants: Insecticidal properties on *Sitophilus zeamais* and effects on seed germination. **Journal of Entomology**, v.9, n.6, p.403-412, 2012.

VIGAN, M. Essential oils: renewal of interest and toxicity. **European Journal of Dermatology**, v. 20, n. 6, p. 685-92, 2010.

PÊNDICES

APÊNDICE A: Avaliação da Sanidade de Sementes de Milho e Obtenção do Fungo

Fusarium verticillioides



Fonte: autor

APÊNDICE B: Identificação dos Fungos Presentes nas Sementes da Cultura do Milho



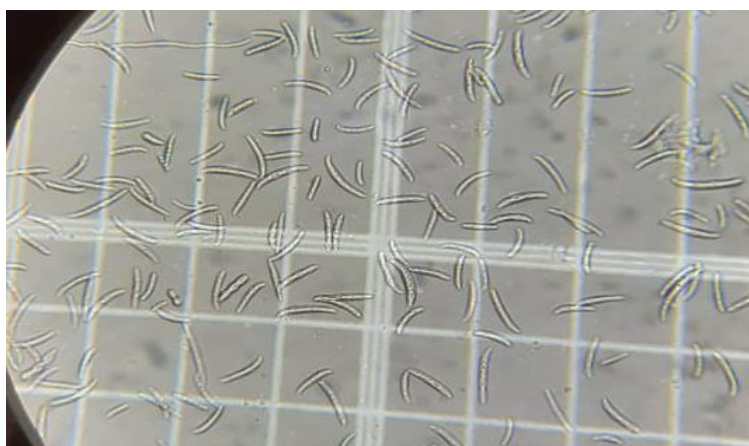
Fonte: autor

APÊNDICE C: Extração de Óleos Essenciais Pela Técnica de Arraste

Fonte: autor

APÊNDICE D: Repicagem do Fungo *Fusarium verticillioides* sob meio de cultura BDA

Fonte: autor

APÊNDICE E: Quantificação do Número de Conídeos Com Auxílio do Microscópio Óptico

Fonte: autor

APÊNDICE F: Avaliação do Crescimento Micelial e Esporulação do Fungo *Fusarium verticillioides*



Fonte: autor