

UFRRJ
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

TESE

**USO DE ZEÍNA, ÓLEOS ESSENCIAIS E VEGETAL NO
REVESTIMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO-VAGEM NO
ARMAZENAMENTO**

Renata Brito

2017



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**USO DE ZEÍNA E ÓLEOS ESSENCIAIS NO REVESTIMENTO DE
SEMENTES DE FEIJÃO-VAGEM NO ARMAZENAMENTO**

RENATA BRITO

Sob a orientação do Professor

Higino Marcos Lopes

e Co-orientação da pesquisadora

Maria do Carmo de Araújo Fernandes

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, Área de Concentração em Produção Vegetal/Ciência e Tecnologia da Produção de Sementes.

Seropédica, RJ

Junho, 2017

B849u

Brito, Renata, 1980-

Uso de Zeína, óleos essenciais e vegetal no revestimento de sementes de feijão-vagem no armazenamento / Renata Brito. - 2017.

146 f.: il.

Orientador: Higino Marcos Lopes.

Coorientadora: Maria do Carmo de Araújo Fernandes. Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Pós Graduação em Fitotecnia, 2017.

1. Revestimento de Sementes. 2. Feijão-vagem. 3. óleos essenciais. 4. óleos vegetais. 5. Agricultura orgânica. I. Lopes, Higino Marcos, 1963-, orient. II. de Araújo Fernandes, Maria do Carmo, -, coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Pós Graduação em Fitotecnia. IV. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

RENATA BRITO

Tese submetida ao Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia.**

TESE APROVADA EM: 23/06/2017

Higino Marcos Lopes - Dr. UFRRJ
Orientador

Luiz Beja Moreira- Dr. UFRRJ

Anelise Dias-Dra. UFRRJ

Monica Souza Cortes-Dra. UEMG

Ednaldo da Silva Araújo- Dr. EMBRAPA AGROBIOLOGIA

*“Não creia nos mestres que te aparecem...
E nem com eles no caminho queira andar...
Creia somente em seu Jesus...
Que Ele é quem tem para te dar...”*

*Meu Mestre aqui a vós eu peço, para Vós me guiar...
Me guie no caminho da Santa Luz...
Não deixe ninguém me atacar...”
(Hinário, Padrinho Sebastião)*

DEDICATÓRIA

Aos meus amados avós Regina Maria de Jesus Brito e Reinaldo Francisco Brito (in memoriam), pelo exemplo de amor e caráter que me ofereceram por toda a vida, dedico.

AGRADECIMENTOS

Sou imensamente grata à Deus, pela linda oportunidade que tive de aprimorar meus conhecimentos acadêmicos em uma Universidade que carrego em meu coração.

Ao meu Jesus, por ter me guiado e permacido sempre ao meu lado.

Os agradecimentos se estendem à muitas pessoas que participaram e colaboraram de para que eu chegasse até o final desta jornada. Agradeço aos meus pais que sempre me incentivaram a permanecer e persistir nos caminhos do estudo, me dando carinho e apoio nas horas mais complicadas. A tia Sônia Britto, por todo incentivo, carinho e exemplo.

Agradeço ao meu esposo Danillo pelo imenso amor e apoio, me dando força e incentivo quando mais precisei. À toda equipe do Laboratório de Controle de Qualidade de Sementes (UFRRJ/Instituto de Agronomia), que além de colegas de trabalho, sempre foram muito parceiros em todas as atividades, Antonio Amorim, Renata Fonte, Rafael Hydalgo, Felipe Leão, Carolina Olga, Alexandre Carou e em especial a Elania Rodrigues que sempre foi uma pessoa atenciosa e amável com todos.

Aos funcionários e equipe de pesquisadores da Pesagro-Rio, em especial, Maria do Carmo de Araújo Fernandes, minha querida co-orientadora que sempre me atendeu com atenção e carinho quando solicitada. Ao Luiz Augusto Aguiar, Alzimiro Marcelo, Pedro Paulo Dias e Elizabeth Frota Morenz que me auxiliaram em atividades laboratoriais sempre com presteza e boa vontade.

Ao professor José Fracisco Lopes Neto e Monica Souza Cortes da Unesp, pela atenção e oportunidade de ampliar meus conhecimentos.

Aos professores e os funcionários da secretaria do PPGF, por todo apoio e atenção ao longo desses anos.

Ao Cnpq e PPGF por financiarem meu projeto.

Ao colega de profissão Hagabo Honorato de Paulo, por toda colaboração e atenção ao meu projeto.

Ao professor e orientador Higino Marcos Lopes, por todo incentivo, atenção, apoio e confiança em meu trabalho.

Ao universo, por ter me conduzido neste lindo caminho do saber e ter colocado pessoas maravilhosas ao meu redor que me ajudaram a chegar até o fim!

Muito obrigada!

RESUMO GERAL

BRITO, Renata. **Uso de zeína, óleos essenciais e vegetal no revestimento de sementes de feijão-vagem no armazenamento.** 2017. 146 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

Apesar do crescimento do setor de agricultura orgânica, ainda existem muitos entraves a serem enfrentados, principalmente no que se refere à produção e tratamento de sementes com métodos e produtos compatíveis com a agricultura ecológica. Diante deste contexto, justifica-se a necessidade de estudos de metodologias substitutivas às convencionais, para o tratamento de sementes produzidas sob manejo orgânico. Os objetivos desse trabalho foram avaliar o efeito fungicida *in vitro* dos óleos essenciais de capim limão, citronela e o óleo vegetal de nim, no crescimento micelial de fungos de armazenamento; avaliar o uso do polímero natural zeína, óleos essenciais e vegetal no revestimento de sementes de feijão-vagem, cultivar Alessa, produzidas em sistema orgânico. As sementes de feijão-vagem, foram revestidas com óleos e armazenadas durante doze meses em ambiente de refrigerador e realizadas avaliações da qualidade fisiológica e fitossanitária. Para o tratamento com o polímero zeína, as sementes foram revestidas com o filme polimérico na concentração de 5% p/v, e armazenadas por oito meses em diferentes ambientes, em refrigerador a 10°C e em temperatura e umidade relativa ambiente, em condições de laboratório. Em ambos os experimentos foram realizadas avaliações bimestral de determinação do teor de água, testes de germinação, primeira contagem, comprimento de plântulas, massa seca, infestação por insetos e infecção por fungos através do Blotter test. Além destas avaliações, foi testada a aplicação dos óleos no controle de insetos-praga de armazenamento. O óleo essencial de capim limão destacou-se por preservar a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de feijão-vagem durante o armazenamento. O revestimento de sementes com zeína mostrou-se capaz de preservar a qualidade fisiológica das sementes quando utilizada a concentração de 5% p/v. e armazenadas em ambiente refrigerado, e apresentou diminuição da incidência de *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. ao longo do armazenamento.

Palavras-chave: óleos essenciais, armazenamento, manejo orgânico.

GENERAL ABSTRACT

BRITO, Renata. **Use of zein, essential oils and vegetable in the coating of bean pod on storage**. 2017. Thesis (Doctorate in Crop Science). Institute of Agriculture, Department of Crop Science, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

Despite the growth of the organic agriculture sector, there are still many obstacles to be faced, especially as regarding to the production and treatment of seeds With methods and products compatible in ecologic agriculture. Then, it has justified avaluate substitutive methodologies to the conventional. The objectives of this study were to evaluate the fungicidal effect in vitro of the essential oils of lemon grass, citronella and plant neem oil, the mycelial growth of storage fungi; test the use of natural polymer zein, essential oils and vegetable in the coating of bean pod seeds, cv. Alessa, produced in organic system. The bean seeds were coated with oils and stored for twelve months in a refrigerator environment and carried out physiological and phytosanitary quality assessments. For the treatment with the zein polymer, the seeds were coated with the polymer film at 5% w / v concentration, and stored for eight months in different environments, in a refrigerator at 10 ° C and at room temperature and relative humidity, under conditions laboratory. In both experiments were performed bi-monthly assessments of moisture content, germination tests, first count, seedling length, dry matter weight, insect infestation and fungal infection through Blotter test. In addition to these evaluations, the application of the oils in the control of insect-pest storage was tested. Lemon grass essential oil was distinguished by preserving the physiological and sanitary quality of the bean seeds during storage. The seed coating with zein proved capable of preserving the seed quality when used at a concentration of 5% w / v. and stored in a refrigerated environment, and presented a decrease in the incidence of *Aspergillus* sp. and *Penicillium* sp. during storage.

Keywords: essential oils, storage, organic cropping.

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Espécies vegetais utilizadas para obtenção dos óleos.....	17
Tabela 2. Propriedades físico-químicas do óleo de nim.....	19
Tabela 3. Constituintes do óleo essencial de capim-limão (<i>Cymbopogon citratus</i>) identificados por CG/EM e seus respectivos teores expressos em normalização de área (%). UFRRJ-Seropédica-RJ, 2017.	265
Tabela 4. Constituintes do óleo essencial de citronela (<i>Cymbopogon winterianus</i>) identificados por CG/EM e seus respectivos teores expressos em normalização de área (%).UFRRJ-Seropédica-RJ, 2017..	26
Tabela 5. Teor de água (%), primeira contagem (%), germinação (%), peso de massa seca (g/pl), comprimento de plântulas (cm) e infestação por insetos (%) em sementes de feijão- vagem, cultivar Alessa, produzidas sob manejo orgânico.....	28
Tabela 6. Porcentagem de fungos (%) em sementes de feijão-vagem produzidas sob manejo orgânico e tratadas com óleo essencial de capim-limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween 80 e testemunha.	28
Tabela 7. Crescimento micelial (cm) de <i>Penicillium</i> sp. submetido a diferentes concentrações de óleo essencial de capim limão, tween e testemunha do terceiro ao quinto dia de avaliação.	32
Tabela 8. Crescimento micelial (cm) de <i>Penicillium</i> sp. submetido a diferentes concentrações de óleo essencial de citronela, tween e testemunha do terceiro ao quinto dia de avaliação.	33
Tabela 9. Crescimento micelial (cm) de <i>Aspergillus</i> sp. submetido a diferentes concentrações de óleo essencial de capim limão, tween e testemunha do terceiro ao quinto dia de avaliação.	35
Tabela 10. Crescimento micelial (cm) de <i>Aspergillus</i> sp. submetido a diferentes concentrações de óleo essencial de citronela, tween e testemunha do terceiro ao quinto dia de avaliação.	35
Tabela 11. Crescimento micelial (cm) de <i>Penicillium</i> sp. submetido a diferentes concentrações de óleo vegetal de nim, tween e testemunha do terceiro ao quinto dia de avaliação.	37
Tabela 12. Crescimento micelial (cm) de <i>Aspergillus</i> sp. submetido a diferentes concentrações de óleo de nim, tween e testemunha do terceiro ao quinto dia de avaliação.	37

Tabela 13. Número de adultos sobreviventes de <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say) submetidos aos tratamentos óleo essencial de capim limão (0,5%), óleo essencial de citronela (0,5%), óleo de nim (4%) e controle, em sementes de feijão-vagem, cultivar Alessa.	39
Tabela 14. Primeira contagem da germinação (%) das sementes de feijão vagem Alessa, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween e testemunha.....	40
Tabela 15. Germinação (%) das sementes de feijão-vagem Alessa, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, Captan, detergente tween 80 e testemunha.....	42
Tabela 16. Comprimento de plântulas (cm) de feijão-vagem Alessa, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween 80 e testemunha.....	43
Tabela 17. Comprimento de plântulas (cm) das sementes de feijão-vagem Alessa, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, Tween e testemunha durante o armazenamento.	44
Tabela 18. Massa seca (g/plântula) das plântulas de feijão-vagem Alessa, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida, Captan, Tween 80 e testemunha.	47
Tabela 19. Infestação por insetos (%) em sementes de feijão-vagem Alessa, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, Tween 80 e testemunha.	48
Tabela 20. Teor de água (%) em sementes de feijão-vagem Alessa, tratadas com óleo essencial de capim-limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, Tween 80 e testemunha.....	48
Tabela 21. Incidência de <i>Fusarium</i> sp. (%) em sementes de feijão-vagem Alessa, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween e testemunha.	50
Tabela 22. Incidência de <i>Fusarium</i> sp. (%) em sementes de feijão-vagem Alessa, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween 80 e testemunha durante o armazenamento.....	51
Tabela 23. Incidência de <i>Aspergillus</i> sp. (%) em sementes de feijão-vagem Alessa, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente Tween 80 e testemunha.	53

Tabela 24. Incidência de <i>Aspergillus</i> sp. (%) em sementes de feijão-vagem Alessa, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween 80 e testemunha durante o armazenamento.	53
Tabela 25. Incidência de <i>Penicillium</i> sp. (%) em sementes de feijão-vagem Alessa, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween 80 e testemunha.....	56
Tabela 26. Incidência de <i>Penicillium</i> sp. (%) em sementes de feijão-vagem Alessa, submetidas aos tratamentos com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween 80 e testemunha durante o armazenamento..	56
Tabela 27. Incidência de <i>Cladosporium</i> sp. (%) em sementes de feijão-vagem Alessa ,tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween 80 e testemunha.....	59
Tabela 28. Incidência de <i>Cladosporium</i> sp. (%) em sementes de feijão-vagem Alessa, submetidas aos tratamentos com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween 80 e testemunha durante o armazenamento..	59
Tabela 29. Médias de temperatura e umidade relativa do ar (UR %) do ambiente de de laboratório onde as sementes permaneceram armazenadas. Seropédica/RJ.....	711
Tabela 30. Teor de água (%) inicial e após o tratamento das sementes de feijão-vagem com diferentes concentrações de zeína.....	72
Tabela 31. Primeira contagem, germinação, comprimento de plântulas, peso de massa seca e infestação por insetos em sementes de feijão-vagem submetidas à diferentes concentrações de zeína, e sem tratamento após 24 h de tratamento.....	73
Tabela 32. Primeira contagem da germinação (%) das sementes de feijão-vagem, revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C.....	75
Tabela 33. Germinação (%) das sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C	76
Tabela 34. Comprimento de plântulas (cm) das sementes de feijão-vagem, revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C.....	78
Tabela 35. Comprimento de plântulas (cm) das sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.	79

Tabela 36. Massa seca (g/plântulas) das plântulas de feijão-vagem, revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C	81
Tabela 37. Massa seca (g/plântulas) das plântulas de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação	82
Tabela 38. Teor de água (%) em sementes de feijão-vagem, revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C	84
Tabela 39. Teor de água (%) em sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação	85
Tabela 40. Infestação por insetos (%) em sementes de feijão-vagem, revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C	86
Tabela 41. Infestação por insetos (%) em sementes de feijão vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.	87
Tabela 42. Porcentagem de fungos (%) em sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C	89
Tabela 43. Incidência de <i>Aspergillus</i> sp. em sementes de feijão-vagem. revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação	90
Tabela 44. Incidência de <i>Penicillium</i> sp. em sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação	91

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tratamento das sementes com os óleos utilizados no experimento.....	21
Figura 2. Sementes expostas a secagem e armazenadas em refrigerador a 10°C.....	21
Figura 3. Montagem do experimento com <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say).....	23
Figura 4. Montagem do experimento para avaliar o efeito inseticida dos óleos.	23
Figura 5. Resultados Blotter test. Sementes sem tratamento.....	30
Figura 6. Resultados Blotter test. Sementes tratadas com óleo essencial de capim limão	31
Figura 7. Dados médios de porcentagem de plântulas (%) normais na primeira contagem da germinação em sementes de feijão-vagem, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween e sem tratamento durante o período de armazenamento.....	40
Figura 8. Dados médios da germinação (%) das sementes de feijão-vagem tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween e sem tratamento durante o período de armazenamento.	41
Figura 9. Dados médios do comprimento de plântulas (cm) de feijão-vagem tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween e sem tratamento durante o período de armazenamento..	43
Figura 10. Comprimento de plântulas (cm) de feijão-vagem em sementes submetidas aos tratamentos com óleos essenciais de citronela, capim limão, óleo vegetal de nim, tween 80%, fungicida Captan e sem tratamento durante o armazenamento.	45
Figura 11. Dados médios de massa seca de plântulas (g) de feijão-vagem submetidas aos tratamentos com óleos essenciais de citronela, capim limão, óleo vegetal de nim, tween 80%, fungicida Captan e sem tratamento durante o armazenamento.....	46
Figura 12. Dados médios da incidência de <i>Fusarium</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp. e <i>Cladosporium</i> sp. em sementes de feijão-vagem submetidas aos tratamentos com óleos essenciais de citronela, capim limão, óleo vegetal de nim, tween 80%, fungicida Captan e sem tratamento durante o armazenamento.....	50
Figura 13. Incidência de <i>Fusarium</i> sp. em sementes de feijão-vagem, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween e sem tratamento durante o armazenamento.	52
Figura 14. Incidência de <i>Aspergillus</i> sp. em sementes de feijão-vagem, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween e sem tratamento durante o armazenamento.	55
Figura 15. Incidência de <i>Penicillium</i> sp. em sementes de feijã-vagem tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween e sem tratamento durante o armazenamento.	58

Figura 16. Incidência de <i>Cladosporium</i> sp. em sementes de feijão-vagem tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween e sem tratamento durante o armazenamento.	61
Figura 17. Zeína em pó e o filme de zeína a 5%.	69
Figura 18. Sementes revestidas com zeína.	69
Figura 19. Sementes revestidas com zeína.	69
Figura 20. Dados médios da primeira contagem da germinação (%) em sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.	76
Figura 21. Dados médios da germinação (%) em sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.	77
Figura 22. Dados médios do comprimento de plântulas (cm) em plântulas de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.	78
Figura 23. Comprimento de plântulas (cm) de feijão-vagem revestidas com zeína, sem tratamento e armazenadas em diferentes ambientes aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses.	80
Figura 24. Dados médios de massa seca (g) em plântulas de feijão-vagem revestidas com com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.	81
Figura 25. Massa seca (g) em plântulas de feijão-vagem revestidas com zeína, armazenadas em diferentes ambientes e sem tratamento durante o armazenamento.	83
Figura 26. Dados médios do teor de água (%) em sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.	84
Figura 27. Teor de água em sementes de feijão-vagem revestidas com zeína e armazenadas em temperatura ambiente e a 10°C aos 2, 4, 6, e 8 meses.	85
Figura 28. Dados médios de infestação por insetos (%) em sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.	87
Figura 29. Infestação por insetos (%) em sementes de feijão-vagem revestidas com zeína e armazenadas em temperatura ambiente aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses.	88

Figura 30. Dados médios da incidência de <i>Penicillium</i> sp. e <i>Aspergillus</i> sp. em sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.	89
Figura 31. Incidência de <i>Aspergillus</i> sp. em sementes de feijão-vagem revestidas com zeína, sem tratamento e armazenadas em temperatura ambiente aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses.	90
Figura 32. Incidência de <i>Penicillium</i> sp. em sementes de feijão-vagem revestidas com zeína, sem tratamento e armazenadas em temperatura ambiente e ambiente refrigerado aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses.	92

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 CAPÍTULO I . USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E VEGETAL NO TRATAMENTO E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO-VAGEM.....	2
RESUMO	3
ABSTRACT	4
2.1 REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1.1 A importância do tratamento de sementes.....	5
2.1.2 O metabolismo secundário das plantas e a formação de substâncias utilizadas em óleos essenciais: metabólitos primários e secundários	6
2.1.3 Óleos essenciais.....	7
2.1.4 Biossíntese e composição química dos óleos essenciais	8
2.1.5 Uso de óleos essenciais e vegetais no tratamento de sementes	8
2.1.6 Ação de óleos essenciais e óleo de nim no controle de fungos de armazenamento	9
2.1.7 Insetos que atacam grãos e sementes durante o armazenamento	11
2.2 Deterioração e armazenamento de sementes.....	12
2.3 Características e qualidade de sementes de feijão-vagem (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) .	13
2.4 Espécies vegetais utilizadas para obtenção dos óleos	14
3 OBJETIVOS.....	16
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
4.1 Análise cromatográfica dos óleos utilizados	17
4.2 Efeitos do uso de óleos <i>in vitro</i> no crescimento micelial de fungos contaminantes de sementes de feijão-vagem.....	19
4.3 Efeitos dos óleos sobre as sementes armazenadas durante 12 meses.....	20
4.4 Efeitos do uso de óleos na mortalidade e oviposição de <i>Acanthoscelides obtectus</i> (say).	22
4.5 Avaliações	23
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25

5.1 Análises cromatográficas dos óleos utilizados no experimento	25
5.2 Caracterização da qualidade fisiológica e fitossanitária do lote de sementes de feijão-vagem, cultivar Alessa.....	27
5.3 Avaliação da qualidade fitossanitária inicial das sementes de feijão-vagem, cultivar Alessa. Fotos Blotter test.	30
5.4 Efeito <i>in vitro</i> de óleos essenciais e óleo vegetal de nim no crescimento micelial de <i>Aspergillus</i> sp e <i>Penicilium</i> sp.....	31
5.5 Efeitos do uso de óleos em insetos-pragas de armazenamento	38
5.6 Efeito do tratamento de sementes com óleos essenciais e vegetal sobre a qualidade fisiológica das sementes e a incidência de fungos o longo do armazenamento.	39
5.6.1 Primeira contagem do teste de germinação	39
5.6.2 Germinação (%).....	41
5.6.3 Comprimento de plântulas.....	42
5.6.4 Massa seca de plântulas (g/plântulas).....	46
5.6.5 Infestação por insetos (%)	47
5.6.6 Teor de água (%)	48
5.7 Avaliação da qualidade sanitária das sementes de feijão-vagem ao longo do armazenamento.....	49
6 CAPÍTULO II . USO DE ZEÍNA NO RECOBRIMENTO E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO-VAGEM.....	62
RESUMO	63
ABSTRACT	64
6.1 REVISÃO DE LITERATURA	65
6.1.1 Tratamento e revestimento de sementes com polímeros naturais	65
6.1.2 Zeína	66
7 OBJETIVOS.....	67
8 MATERIAL E MÉTODOS.....	68
8.1 Testes preliminares	68
8.2 Preparação e solução do filme de zeína a 5%	68

8.3 Primeiro ensaio: tratamento das sementes em diferentes concentrações da solução de zeína.....	68
8.4 Fotos da preparação da solução e filme de zeína a 5% e a aplicação sobre as sementes	69
9 RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
9.1 Temperatura e umidade relativa do ar registrada no ambiente de armazenamento..	71
9.2 Primeiro ensaio: avaliação da qualidade fisiológica das sementes de feijão-vagem revestidas com zeína em diferentes concentrações.....	71
9.2.1 Avaliação da qualidade fisiológica inicial das sementes após 24 horas de tratamento com diferentes concentrações de zeína.....	73
9.3 Segundo ensaio: avaliação da qualidade fisiológica das sementes de feijão-vagem revestidas com a concentração de zeína a 5%, armazenadas por oito meses em dois ambientes.....	74
9.3.1 Primeira contagem do teste de germinação (%).....	74
9.3.2 Germinação (%).....	76
9.3.3 Comprimento de plântulas (cm)	77
9.3.4 Massa seca (g/plântula)	80
9.3.5 Teor de água (%)	83
9.3.6 Infestação por insetos (%)	86
10 Avaliação da qualidade sanitária de sementes revestidas com zeína e armazenadas durante oito meses em dois ambientes	88
11 CONCLUSÕES GERAIS	93
12 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
13 ANEXO.....	109

1 INTRODUÇÃO GERAL

Após a segunda guerra mundial, surgiu um modelo de agricultura baseado nos preceitos da “Revolução verde”. A proposta era mecanização pesada do solo, implantação de monoculturas, com o emprego de adubações químicas abusivas e venenos para a eliminação de pragas e doenças das plantas. Os resultados desastrosos surgiram na forma de solos erodidos, desmatados, rios poluídos, contaminações ambientais de diversos espectros, incluindo danos à saúde humana, como doenças iatrogênicas.

Estas práticas agrícolas promoveram o surgimento de outros problemas, como o aumento da incidência de pragas e doenças, além da persistência de microorganismos que criaram mecanismos de resistência aos agroquímicos aplicados. O resultado herdado deste modelo de agricultura despertou maior consciência das pessoas quanto à importância da preservação dos recursos naturais e da boa alimentação. A preocupação da sociedade com esses impactos no ambiente e no emprego massivo de agrotóxicos está proporcionando mudanças no cenário agrícola.

A agricultura orgânica e suas técnicas que valorizam a terra, o homem e o alimento estão impulsionando essas transformações. Dentre uma das alternativas para diminuição do uso de agrotóxicos, tem-se o manejo ecológico de pragas e doenças. Incluindo práticas como o uso de extratos vegetais, polímeros naturais, óleos essenciais e agentes de controle biológico de insetos e fitopatógenos.

Em função de preocupações com contaminações em geral, houve incentivo para que pesquisadores e produtores buscassem novos caminhos para o controle de doenças nas mais diferentes culturas e também no tratamento de sementes. A literatura atual descreve o uso de diversas metodologias substitutivas às convencionais, aplicadas ao tratamento de sementes e plantas.

As sementes são codificadoras de material genético e também podem servir de veículo para a disseminação de doenças. Para impedir que doenças sejam propagadas através de sementes, utiliza-se o tratamento de sementes. Na agricultura orgânica, é preconizado o uso de tratamentos sem o uso de agrotóxicos, radiações ionizantes e transgenia. O uso de óleos essenciais e vegetais, extratos vegetais e polímeros naturais em práticas agrônômicas têm sido explorados.

Os óleos essenciais caracterizam-se por ser compostos voláteis, e possuem diferentes técnicas de extração. Apresentam importância no controle de microorganismos, como fungos, leveduras e bactérias e podem ser utilizados como substitutos aos agroquímicos. Principalmente para atender à demanda de práticas aplicadas na agricultura orgânica, onde é expressamente proibido o uso de agrotóxicos.

Com este enfoque, subprodutos como óleos essenciais e vegetais, polímeros naturais, extratos brutos e tinturas, oriundos principalmente de plantas medicinais devem ser estudados.

CAPÍTULO I

2 USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E VEGETAL NO TRATAMENTO E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO-VAGEM

RESUMO

Os objetivos deste trabalho foram avaliar a eficiência de óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), citronela (*Cymbopogon winterianus*) e do óleo vegetal de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) no tratamento de sementes para a preservação da qualidade fisiológica e fitossanitária durante o período de armazenamento. Para o experimento, foram utilizadas sementes de feijão-vagem, cultivar Alessa, produzidas sob manejo orgânico em campo experimental do Centro Estadual de Pesquisa em Agricultura Orgânica (CEPAO)/PESAGRO-RIO, situada em Avelar/Paty do Alferes, na região médio serrana do estado. A ação fungicida dos óleos essenciais e do óleo vegetal de nim foi avaliada *in vitro* diretamente sobre isolados de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Após, as sementes foram submetidas ao revestimento com os óleos e acondicionadas em garrafas Pet para o armazenamento em refrigerador (10°C) durante doze meses. Para a avaliação da qualidade fisiológica, foram realizados testes bimestrais de germinação, primeira contagem, comprimento de plântulas, peso de massa seca, infestação por insetos e determinação do teor de água nas sementes. A avaliação da qualidade sanitária foi realizada através do Blotter test. O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6 x 7 (seis tratamentos x sete períodos de avaliação durante os doze meses de armazenamento), com quatro repetições, para cada tratamento. Os dados foram submetidos à análise estatística no programa Sisvar, usando regressão para períodos de armazenamento e teste de Tukey ($p < 0,05$) para os tratamentos. O efeito inseticida dos óleos foi avaliado em insetos da espécie *Acanthoscelides obtectus* (Say), considerados insetos de importância no armazenamento de sementes. Para tanto, foi avaliada a mortalidade dos adultos 24, 48 e 72 horas após a pipetagem da solução dos óleos. A avaliação da oviposição e eclosão foi realizada aos sete e dez dias após o confinamento dos insetos. Os resultados *in vitro* indicaram redução do crescimento micelial para todos os óleos testados em função da concentração utilizada. O óleo essencial de capim limão destacou-se por preservar a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de feijão-vagem durante o armazenamento. O óleo essencial de citronela apresentou efeito na redução da sobrevivência dos insetos a partir de 48 horas.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L., qualidade fisiológica, armazenamento.

ABSTRACT

The objectives of this study were to evaluate the efficiency of the use of essential oils of lemongrass (*Cymbopogon citratus*), citronela (*Cymbopogon winterianus*) and neem (*Azadirachta indica* A. Juss) on snap beans seeds of cv Alessa for the preservation of physiological and phytosanitary quality during storage period. The seed lot under organic cropping at the experimental Station of the Agricultural research company of the state of Rio de Janeiro, located in Avelar, medium mountain region of the state. Essential oils chosen were tested *in vitro* directly on isolated the fungi *Aspergillus* and *Penicillium*. After the *in vitro* evaluation and fungicidal action of identification, the seeds were submitted to the finish with the essential oils and packaged in PET bottles for refrigerator storage (10 ° C) for twelve months. For the evaluation of physiologic, bi-monthly tests of germination were carried out, first count, seedling length, weight of dry matter, insect infestation and determine the moisture content in the seeds. The evaluation of sanitary quality was done quarterly by the Blotter test. The experimental design was completely randomized in a factorial 6 x 7 (six treatments x seven-point evaluation during the twelve months of storage) with four replications for each treatment. Statistical analisys was performed by Sisvar software, storage periods were analysed using regression treatments were submitted to Tukey test ($p < 0,05$). It was also tested the insecticidal effect of essential oils directly on insects of the species *Acanthoscelides obtectus* (Say) considered importance of insects in seed storage. For this, the mortality of adults 24, 48 and 72 hours after pipetting the solution was evaluated. The evaluation of oviposition and hatching was performed seven and ten days after insect confinement. *In vitro* results indicated reduction of mycelial growth for all oils tested as a function of the concentration used. Lemon grass essential oil was distinguished by preserving the physiological and sanitary quality of the bean seeds during storage. The citronella essential oil had an effect on the reduction of insect survival after 48 hours.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L., physiological quality, storage.

2.1 REVISÃO DE LITERATURA

2.1.1 A importância do tratamento de sementes

Aproximadamente 90% das culturas são propagadas por sementes, por isso, o tratamento de sementes é uma etapa considerada fundamental para a manutenção da qualidade. O tratamento, no sentido amplo, é a aplicação de processos e substâncias que preservem ou aperfeiçoem o desempenho das sementes, permitindo que as culturas expressem todo seu potencial genético (MENTEN e MORAES, 2010). O tratamento de sementes pode proporcionar um estande de plantas saudáveis e estáveis, retardar o início de epidemias e assegurar aumento do rendimento num âmbito geral (MACHADO, 2010).

Existem diversos tipos de tratamentos de sementes, os mais utilizados são a aplicação de defensivos químicos (fungicidas e inseticidas), produtos biológicos, inoculantes, estimulantes, e também tratamentos térmicos ou processos físicos. Além dos tratamentos de sementes classificados como “convencionais”, surgiram os tratamentos denominados como “alternativos aos convencionais”. Estes surgiram como uma das formas de diminuir a intensiva aplicação de fungicidas (CAMPANHOLA & BETTIOL, 2003).

Para o tratamento químico, utilizam-se fungicidas, que sejam persistentes estáveis e que são aplicados, principalmente, via úmida, através de molhagem rápida da semente (5-40 mL/Kg). O tratamento químico dispõe de 19 ingredientes ativos de fungicidas registrados, além de cinco misturas duplas e uma mistura tripla. Entre os tratamentos químicos muito utilizados em sementes, tem-se o fungicida Thiram. No entanto, em 2008, o Thiram foi incluído na lista de reavaliação de agrotóxicos da Anvisa, sob suspeita de ocasionar efeitos no desenvolvimento e desregulação do sistema endócrino (ANVISA, 2014). Mas em 2015, a Anvisa avaliou os desfechos toxicológicos apontados pela Nota Técnica de reavaliação elaborada pela Fiocruz, e resultou em nova decisão. De acordo com o parecer, o Thiram não se enquadrava nas características proibitivas de registro. Este desfecho resultou em uma consulta pública realizada em 2016. Em 2017 está prevista nova reavaliação da Anvisa para o agrotóxico Thiram (ANVISA, 2017).

Alguns parâmetros irão determinar a eficiência do tratamento das sementes. A eficácia do tratamento está relacionada ao tipo e localização do patógeno, ao vigor da semente e da disponibilidade de substâncias e processos adequados (MENTEN & MORAES, 2010). O tratamento de sementes apresenta benefícios imediatos e a médio/longo prazo. O benefício maior será a médio/longo prazo, quando o sistema de produção atingir o equilíbrio.

Na literatura atual, destacam-se alguns tipos de tratamentos de sementes que podem ser denominados tratamentos “substitutivos aos convencionais”, que surgiram principalmente para atender ao sistema de manejo orgânico. Para estes métodos, são utilizados, por exemplo, extratos em pó vegetais, extratos vegetais em solução e a aplicação de óleos fixos e essenciais. No presente trabalho, destacar-se-á o uso de óleos essenciais e o óleo vegetal de nim no tratamento das sementes, além do uso do polímero natural Zeína.

2.1.2 O metabolismo secundário das plantas e a formação de substâncias utilizadas em óleos essenciais: metabólitos primários e secundários

O metabolismo primário caracteriza-se por inúmeras reações que desencadeiam a produção de compostos, como açúcares, aminoácidos, nucleotídeos e polímeros. São reações que estão condicionadas aos processos fotossintéticos. Podem-se agrupar as reações fotossintéticas em duas categorias: a fase luminosa e a fase bioquímica (Reação de Calvin), onde as moléculas de ATP e NADPH servirão como fonte de energia e força redutora no processo de fixação do CO₂, que será convertido em glicose (SANTOS, 2004; CSEKE et al., 2006; DE LA ROSA et al., 2010). Após o metabolismo da glicose, serão formados todos os metabólitos primários e secundários. Os compostos primários irão garantir a sobrevivência das plantas. Estão diretamente relacionados à manutenção da vida, por isso são considerados provenientes do metabolismo primário (MORAIS, 2009).

Com a evolução, as plantas foram adquirindo mecanismos de defesas para sua sobrevivência, esse desenvolvimento proporcionou o surgimento de vias biossintéticas, que atualmente são denominadas metabolismo secundário. O metabolismo secundário é responsável por produzir substâncias de defesa que são consideradas nocivas e tóxicas para diversos parasitas, predadores e microorganismos. As propriedades terapêuticas dos vegetais são atribuídas aos metabólitos secundários, que surgiram para conferir, além de proteção, mecanismos de adaptabilidade às plantas.

Os metabólitos secundários se diferem dos primários principalmente pelo fato de a produção dessas substâncias consideradas nocivas e de defesas, se limitarem a um número menor de espécies. O metabolismo secundário é influenciado por alguns fatores, como as informações de origem genética do vegetal, e também pela ação de fatores bióticos e abióticos. Estresses causados ao vegetal podem interferir na síntese do metabolismo secundário.

As principais funções dos metabólitos secundários são atuar contra organismos patogênicos, insetos fitófagos e herbívoros predadores, além de atuar como agentes de competição sejam na germinação ou crescimento de algumas espécies vegetais. Além disso, podem servir como atraentes de animais polinizadores e dispersores de sementes. São consideradas classes representativas dos metabólitos secundários, os alcalóides, terpenos, acetofenonas, cromanos, quinonas, esteróides, flavonóides, cumarinas, xantonas, lignanas, entre outros (SIMÕES et al., 2004).

Para melhor entendimento, exemplifica-se a formação de metabólitos secundários, a partir da glicose (no mecanismo fotossintético). Após a formação da glicose há a conversão em moléculas de ácido pirúvico que podem seguir duas vias diferentes (BASER, 2012). As moléculas de piruvato entram na via ácido chiquímico e formam os metabólitos secundários aromáticos (alcalóides indólicos, quinolínicos, isoquinolínicos, ligninas e lignanas, cumarinas e taninos hidrossolúveis) (CSEKE et al., 2006). Em outra via, o piruvato é oxidado até formar moléculas de acetil-coenzima A (acetil-coA) (BASER, 2012). Estas moléculas podem seguir três vias diferentes: a do ácido cítrico, a do mevalonato e a da condensação do acetato. Os alcalóides pirrolidínicos, tropânicos, pirrolizidínicos, piperidínicos e quinolizidínicos serão formados na via do ácido cítrico (DE LA ROSA et al., 2010). Os terpenos são oriundos da via do mevalonato. Os terpenos são componentes dos óleos essenciais.

Algumas espécies de plantas produzem compostos secundários com grande potencial para o desenvolvimento de defensivos naturais ou ainda são precursores químicos para novos produtos (MORAIS, 2009).

2.1.3 Óleos essenciais

O uso de óleos essenciais teve início no Oriente, antes de Cristo. A produção era realizada na Pérsia, Índia, Egito e outros países daquela região. Mas somente com o advento da química fina, foram surgindo destilarias que exploravam os óleos essenciais, proporcionando o uso destes em diversas aplicações científicas (SAROYA, 2011). De acordo com a International Organization Standardization ISO (1997), citada por Simões e Spitzer, os óleos essenciais são definidos como produtos obtidos de matérias-primas vegetais por meio de destilação por arraste de vapor. Caracterizam-se por misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas, colorações amareladas ou incolores e são instáveis na presença de luz, calor e umidade (SIMÕES & SPITZER, 2004).

O Brasil está em posição de destaque entre os principais países produtores de óleos essenciais. E é um dos grandes exportadores de óleos cítricos para a União Européia e EUA, encontrando-se entre os grandes exportadores internacionais (BIZZO, 2009).

Os principais constituintes dos óleos essenciais são os fenilpropanóides e terpenóides, sendo estes com maior predominância. Os pesquisadores vêem nestas substâncias uma fonte promissora de princípios ativos diretos ou precursores na síntese de outros compostos de maior importância e valor agregado, como o safrol, eugenol, citral, citronelal entre outros (DE LA ROSA et al., 2010).

A técnica empregada na extração dos óleos voláteis é determinada de acordo com a localização do óleo na planta. A metodologia utilizada para a extração de óleos voláteis de pericarpos de frutos cítricos é denominada prensagem ou expressão. Nesta técnica, são utilizados jatos de água que exercem uma ação abrasiva no pericarpo, rompendo células excretoras, e o óleo é extraído por centrifugação (SIMÕES e SPITZER, 2004). O método de extração denominado hidrodestilação caracteriza-se por extrair os óleos voláteis por arraste através de vapor. O material vegetal fica em contato com a água, no estado líquido, e os óleos voláteis, possuem tensão de vapor mais elevada que a da água e são assim, arrastados. Para a hidrodestilação é utilizado o aparelho do tipo Clevenger (KELEN e TEPE, 2008).

Deve-se considerar a importância dos óleos essenciais no desenvolvimento de novos produtos para a agricultura. A partir de plantas vem sendo descobertos novos compostos químicos que apresentam propriedades de controlar a incidência e crescimento de fitopatógenos. Alguns compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleos essenciais de plantas medicinais expressam atividade antimicrobiana e /ou elicitoras de defesa, e mostram-se como uma forma alternativa potencial para controle de insetos e microorganismos (SCHWAN-ESTRADA e STANGARLIN, 2005).

O controle de fitopatógenos através dos óleos essenciais ocorre devido à ação fungitóxica direta, fungistática, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos e pela indução de fitoalexinas. Existem relatos que descrevem a atividade direta de extratos e óleos essenciais de plantas sobre fitopatógenos como insetos, fungos, bactérias e o efeito alelopático (FIORI et al., 2000; MOTOYAMA et al., 2003; KAGALE et al., 2004) ou a ação indireta ativando os mecanismos de defesa das plantas aos patógenos (FRANZENER et al., 2003; SCHWAN-ESTRADA e STANGARLIN, 2005; WINK e VAN WYK, 2008). Os óleos voláteis são instáveis e sujeitos à degradação na presença de luz, calor, oxigênio atmosférico e umidade. Por este motivo recomenda-se que a análise de sua composição seja realizada

imediatamente após a extração, e o armazenamento deve ser feito em congelador e ao abrigo sem luz (SIMÕES e SIPTZER, 2004; THORMAR, 2012).

Nas Angiospermas, ocorrem em menos frequência nas monocotiledôneas, incluindo as famílias Poaceae e Zingiberaceae (AZIMOVA, 2012), citando como exemplo o *Cymbopogon nardus*, vulgarmente conhecida como citronela e o *Zingiber officinale*, o gengibre (SCHNITZLER et al., 2007). Portanto, os óleos voláteis ocorrem com maior frequência nas angiospermas dicotiledôneas, nas famílias Asteraceae, Apiaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Piperaceae e Rutaceae.

2.1.4 Biossíntese e composição química dos óleos essenciais

A composição química dos óleos essenciais varia de acordo com a espécie, no entanto, em sua maioria os fenilpropanóides e/ou terpenóides estão presentes. Os fenilpropanóides apresentam um anel benzênico com uma cadeia lateral de três carbonos, que são derivados do ácido chiquímico. Os terpenóides são constituintes de uma grande variedade de substâncias vegetais, sendo este termo empregado para substâncias cuja origem biossintética deriva de unidades de isopreno, que por sua vez é originário do ácido mevalônico (SIMÕES et al., 2004).

Na via do mevalonato ocorre a condensação de duas unidades de acetoacetil-coA, gerando posteriormente 3-hidroxi 3-metilglutaril-coA, após sofrer hidrólise. A enzima 3-hidroxi-3metilglutaril-CoA redutase reduz esse produto a ácido mevalônico, que é convertido a isopentil pirofosfato (IPP) ou isopreno ativo e seu isômero ativo dimetilalil-pirofosfato (DMAPP). Esses irão condensar-se, gerando o trans-geranil-pirofosfato, que dará origem aos monoterpenos e sesquiterpenos (SANTOS, 2004).

Em 90% dos óleos voláteis são encontrados os compostos terpênicos na forma de monoterpenos, seguidos de sesquiterpenos. Os diterpenos são encontrados apenas em óleos essenciais extraídos com solventes orgânicos. Os monoterpenos são considerados a classe mais simples dos terpenóides, e são componentes da maioria dos óleos essenciais. Além disso, apresentam efeitos inseticidas e farmacológicos (DEY & HARBONE, 1997). Temos como exemplos mais comuns encontrados em óleos voláteis, o linalol, cânfora, limoneno e geraniol. Entre os sesquiterpenos mais comuns são o farnesol, neurolidol, bisaboleno (SIMÕES et al., 2004). Os sesquiterpenos são conhecidos por apresentarem propriedades biológicas e antibióticas.

2.1.5 Uso de óleos essenciais e vegetais no tratamento de sementes

Existem inúmeros relatos na literatura do uso de óleo essenciais e vegetais no tratamento de sementes. No entanto, existem algumas diferenças sutis entre os óleos essenciais e vegetais. A começar pelo processo de extração dos mesmos. Os óleos essenciais têm seus compostos aromáticos, voláteis extraídos das plantas por processos de destilação à vapor, pressão da casca no caso dos cítricos ou extração com o uso de solventes.

Os óleos vegetais, geralmente são obtidos através da prensagem a frio das sementes de plantas oleaginosas, por isso são mais densos e ricos em lipídeos. Os óleos vegetais não evaporam e não são solúveis em álcool. Por apresentarem menor concentração de ingredientes

ativos, se comparados aos óleos essenciais, são usados em concentrações maiores quando aplicados aos tratamentos de fitopatógenos e sementes.

A literatura relata diversos trabalhos que empregaram o uso de óleos essenciais e vegetais no tratamento de sementes. Oliveira et al. (2015) avaliaram os efeitos do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon nardus*) sobre a qualidade fisiológica e sanitária de sementes de feijão. O óleo essencial foi aplicado diretamente nas sementes nas doses de 0,25; 5,0; 0,75; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; e 3,5 mL/100 g de sementes, testemunha (sem tratamento) e tratada com o fungicida sintético (Carbendazim+Thiram). Os resultados obtidos apontaram que o óleo de citronela diminuiu significativamente a incidência de *Chaetomium* sp. e *Fusarium* sp. em sementes de feijão. Entretanto, neste estudo, a presença do óleo reduziu de maneira expressiva a qualidade fisiológica das sementes.

Jardinetti et al. (2011) avaliaram o efeito de óleos essenciais de *Eucalyptus* sp, *Allium sativum*, *Oncimum basilicum*, *Cymbopogon citratus*, *Mentha* sp, *Thymus vulgaris* L. e *Pelargonium graveolens* na sanidade e germinação de sementes de milho (*Zea mays*). As sementes de milho foram imersas por cinco minutos. Verificou-se que houve diminuição da porcentagem de germinação quando foi utilizado o óleo essencial de hortelã e tomilho. No teste de sanidade, os óleos essenciais de eucalipto, capim-limão e tomilho apresentaram redução da incidência de *Fusarium* sp. e *Aspergillus* sp.

Queiroga et al. (2012) estudaram a qualidade de sementes de feijão carioca (*Phaseolus vulgaris* L.) tratadas com óleos vegetais de mamona, soja e oiticica, durante cinco meses de armazenamento. Avaliou-se a qualidade fisiológica das sementes e a repelência dos óleos em *Zabrotes subfasciatus*. Para o estudo foram utilizadas dosagens diferentes dos óleos. Mediante os resultados obtidos concluiu-se que os óleos vegetais utilizados no tratamento das sementes foram eficientes na manutenção da viabilidade das sementes e controle da infestação pelo inseto-praga de armazenamento *Zabrotes subfasciatus*, nos cinco meses de armazenamento. O óleo de oiticica foi o que apresentou melhor média de germinação, frente às tratadas com óleo de mamona e soja. O óleo de oiticica também foi o mais eficaz no controle do inseto. Verificou-se ainda, a redução da eficiência dos óleos à medida que a dosagem utilizada era menor.

Silva et al. (2014) realizaram ensaios que avaliaram o efeito do óleo de nim na germinação de sementes de feijão caupi. Foram preparadas diluições de 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 g dm⁻³ do óleo de nim em água destilada e testemunha, só com água. Foram utilizadas sementes de três cultivares de feijão-caupi: a cultivar Serrinha, proveniente da cidade de Timon-MA, a cultivar Maranhão, da cidade de Viana – MA, e a cultivar BR 17, obtida junto à Embrapa Meio Norte, na cidade de Teresina–PI. Os resultados apontaram que na cultivar Maranhão houve aumento no índice da germinação de 13 e 17,5% em relação à testemunha e, na cultivar Serrinha, somente a concentração 0,5% diferiu da testemunha com redução no índice de germinação de 6,49%. Portanto, o índice de germinação aumentou na cultivar Maranhão e diminuiu na cultivar Serrinha.

2.1.6 Ação de óleos essenciais e óleo de nim no controle de fungos de armazenamento

Gênero *Aspergillus* e *Penicillium*

Os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* representam anamorfos (fase assexuada e mitótica) de ascomicetos classificados na família Trichocomaceae, ordem Eurotiales, com 200 e 150 espécies, respectivamente. São espécies facilmente encontradas nos solos, grãos e sementes armazenadas, matéria orgânica em decomposição e alimentos (CHAULFON, 2003). Consideradas espécies de importância agrícola, por causarem prejuízos, pois são considerados fungos de armazenamento. Atuam no processo de deterioração de alimentos, grãos e sementes armazenadas.

As espécies do gênero *Aspergillus* apresentam propriedades bioquímicas capazes de produzir enzimas que são utilizadas no setor alimentício, como na panificação e cervejaria, também é utilizado para antibióticos e ácidos orgânicos. No entanto, algumas espécies produzem metabólitos secundários tóxicos que são denominados micotoxinas, substâncias altamente nocivas para a saúde animal e humana (CHAULFON, 2003). Quando presentes nas sementes, os fungos deste gênero causam perdas significativas na germinação (FONSECA, 2008).

O gênero *Penicillium* apresenta espécies que são mais frequentes em regiões de baixas temperaturas, e as espécies de *Aspergillus* são mais encontradas em locais de clima quente. Algumas espécies de *Penicillium* são consideradas psicotróficas e causam deterioração em alimentos de refrigeração (PITT & HOCKING, 1997). No gênero *Aspergillus*, é possível encontrar espécies termotolerantes (DOMSCH, et al., 1980). Diversos estudos publicados relatam a eficácia do uso de óleos no controle de fungos de armazenamento.

O efeito dos óleos essenciais de manjeriço (*Oncimum* sp.), dois tipos de capim limão (*Cymbopogon flexuosus* e *Cymbopogon citratus*) e melaleuca (*melaleuca* sp.) foram verificados por Moraes et al. (2008) em sementes de feijão cariquinho (*Phaseolus vulgaris* L.). Os resultados indicaram que o óleo essencial de *C. citratus* reduziu o percentual de germinação nas sementes, no entanto, foi eficiente na redução da incidência da *Aspergillus* spp e *Penicillium* spp. O óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* diminuiu a incidência de *Cladosporium* sp.

Estudos realizados por Brito et al. (2012) avaliaram o efeito dos óleos essenciais de *C. nardus*, *E. citriodora* e do composto citronelal sobre micoflora associada, germinação e desenvolvimento inicial de plantas de milho (*Z. mays*) nas doses de 5, 10 e 15% para todos os testes. Após avaliação do método de detecção de fungos através do Blotter test, foi possível verificar que os tratamentos testemunha apresentaram uma alta incidência do fungo *Aspergillus* sp. Os resultados obtidos indicaram que os óleos essenciais de citronela (*C. nardus*), eucalipto (*E. citriodora*) e composto citronelal, inibiram drasticamente os fungos associados às sementes de milho, indicando toxicidade para esses microrganismos. Os óleos inibiram drasticamente os fungos associados às sementes, inibindo satisfatoriamente *Aspergillus* sp. e levaram a incidência de *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp. igual a zero, com a maior dose (15%), indicando toxicidade para esses microrganismos.

Silva et al. (2012) estudaram o efeito do óleo de nim em sementes de feijão caupi. O óleo de nim foi testado nas concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 g dm⁻³ em água destilada. Os fungos foram identificados pelo método do papel de filtro (Blotter test). Os resultados indicaram a alta incidência de *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. e comprovou-se a eficácia do uso do óleo de nim nestes gêneros de fungos, principalmente quando utilizada a concentração de 4,0 g dm⁻³.

2.1.7 Insetos que atacam grãos e sementes durante o armazenamento

Acanthoscelides obtectus (Say)

Durante o armazenamento, as sementes, grãos e seus subprodutos, estão sujeitos aos ataques de insetos-pragas. Estes ataques ocasionam perdas significativas, reduzindo os valores nutricionais e comerciais destes produtos (SANTOS et al., 2007). De acordo com Lorini (2012) as perdas podem atingir até 30% no caso de sementes e grãos armazenados. A cultura do feijoeiro é suscetível ao ataque de inúmeras pragas, e dentre elas destacam-se aquelas que atacam os grãos e sementes armazenadas, popularmente conhecidas como carunchos, gorgulhos ou bichos do feijão.

Dentre os insetos de maior importância, destacam-se os insetos da família Bruchidae (ordem Coleoptera) alimentam-se de sementes, especialmente as leguminosas, são originárias das regiões tropicais e subtropical e da América Central e Sul. Os adultos desta família são reconhecidos por apresentarem seu corpo recoberto de pelos curtos, sendo compacto e globular. O *Acanthoscelides obtectus* (Say) é uma das principais espécies de pragas de sementes de leguminosas armazenadas.

De acordo com Gallo et al. (1988) os adultos de *Acanthoscelides obtectus* apresentam forma ovóide, com 2 a 4 mm de comprimento e coloração pardo-escura, com pontuações avermelhadas na parte vertical do abdome e no pigídio, pernas e antenas. As larvas são de coloração branco-leitosa com 3 a 4 mm de comprimento e as pupas são da mesma cor, passando a marrom quando próximas à emergência dos adultos.

Para o controle destes insetos-pragas utilizando técnicas para a agricultura orgânica, têm sido avaliadas diversas metodologias como o uso de óleo essenciais e vegetais. Muitos produtos de origem botânica que apresentam efeitos inseticidas estão ganhando destaque, pois possuem substâncias com diferentes estruturas químicas, desempenhando um papel importante na interação da planta com o meio ambiente (CASTRO et al., 2005).

Campos et al. (2014) estudaram o efeito do óleo essencial de carqueja doce (*Bacharis articulata*) sobre o caruncho do feijão *Acanthoscelides obtectus* (Say). Para o estudo, avaliaram o efeito inseticida e a repelência do óleo sobre insetos com idade entre 20 e 50 dias. Os resultados demonstraram efeitos significativos na mortalidade e na repelência do produto sobre os insetos. São inúmeros os trabalhos de pesquisa que reportam a eficiência do uso de plantas bioativas para o controle de insetos de armazenagem (HAMEED et al., 2012; QUEIROGA et al., 2012; COITINHO et al., 2011; SOUZA et al., 2010).

2.2 Deterioração e armazenamento de sementes

As sementes são capazes de manter a viabilidade e sobreviverem até que o clima e o local estejam adequados para o início de uma nova geração. Porém, estas funções vitais não conseguem se preservar indefinidamente. Em sementes, define-se deterioração como o desequilíbrio funcional de tecidos ativos, que provocará a inativação progressiva do

metabolismo, conseqüente culminando com a morte (MARCOS FILHO, 2005). Na ocasião da maturidade fisiológica, as sementes atingem sua máxima qualidade, e a partir deste ponto, estão sujeitas a diversas mudanças degenerativas de ordem bioquímica, fisiológica e física. Este processo está associado à redução do vigor e perda de capacidade germinativa das sementes (NASCIMENTO, 2009).

A perda da germinação deve ser considerada como um indicativo importante da redução da qualidade, no entanto, esta manifestação é a última consequência do processo de deterioração. O potencial fisiológico das sementes advém também de seu genótipo. Algumas cultivares são mais ou menos propensas à deterioração. Algumas sementes diferem seu potencial fisiológico entre lotes de uma mesma cultivar, e até mesmo entre sementes de um mesmo lote. No entanto, as características da espécie como de ordem genética e composição química, aliadas à qualidade inicial, teor de água das sementes e condições ambientais serão responsáveis por acelerar ou retardar a velocidade e intensidade de deterioração (MARCOS FILHO, 2005).

A deterioração é detectada com maior frequência na ocasião do armazenamento. A taxa de deterioração é influenciada pela interação entre fatores bióticos e abióticos. Durante o armazenamento, os fatores temperatura e umidade relativa do ar podem acelerar o processo de deterioração. Entre os mecanismos do processo de deterioração, estão as alterações em tecidos de reservas, membranas celulares e organelas. Diversos estudos apontam que os danos nas membranas, ou seja, a perda de sua integridade, seria o fator chave no processo de deterioração das sementes (NASCIMENTO, 2005).

No sistema de produção de sementes, todas as etapas devem ser consideradas em conjunto, para que se obtenha sementes de alta qualidade. No entanto, alguns fatores são determinantes para a conservação das sementes. Neste sentido, o armazenamento é dependente de todas as etapas que o precedem. O armazenamento não é capaz de elevar a qualidade das sementes, ele tem por finalidade preservá-la com o mínimo de deterioração possível, quando realizado de maneira adequada (GOLDFARB e QUEIROGA, 2013).

De acordo com Delouche (2002) e Baudet (2003) se o armazenamento for realizado em condições controladas de temperatura e umidade relativa do ar, as sementes podem ser conservadas por longos períodos. A umidade relativa do ar apresenta relação direta com o teor de água das sementes, e a temperatura está associada à velocidade dos processos bioquímicos (DELOUCHE et al., 2002). Portanto, o período de viabilidade das sementes pode ser estendido não apenas pela redução da umidade relativa do ar, mas também pela diminuição da temperatura de armazenamento.

Estudos realizados por Forti et al. (2010) relataram, através dos testes de germinação e vigor, a influência do ambiente de armazenamento não controlado em sementes de soja. As sementes armazenadas em ambiente não controlado, apresentaram maior redução do potencial fisiológico quando comparadas às sementes armazenadas em câmara seca (50% UR e 20°C) e com a câmara fria (90%UR e 10°C). Por fim, estes aspectos devem ser levados em consideração quando o objetivo é preservação da qualidade das sementes durante o processo de armazenagem.

2.3 Características e qualidade de sementes de feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.)

Aspectos gerais da cultura:

O feijão vagem é uma leguminosa hortícola. A planta é anual, herbácea, produz sementes em vagens, pode ter o caule tipo trepador mais de 2,5 metros de altura (trepadora ou de crescimento indeterminado) ou tipo anão com até 0,50 metros de altura (tipo anão ou de crescimento determinado). É uma cultura de larga adaptação a climas quentes a amenos, dentro de uma ampla faixa térmica de 18 a 30 °C. Em temperaturas superiores a 35°C, há deficiência de polinização, o que resulta em vagens deformadas e queda significativa na produtividade. Por outro lado, é intolerante a baixas temperaturas (menor que 15 °C) e à geada, sendo o frio o fator limitante do cultivo durante o inverno, ocasionando baixa germinação e desenvolvimento retardado das plantas. Os rendimentos médios de sementes de feijão-vagem de crescimento determinado, no Brasil, variam de 800 a 1200 kg.ha⁻¹, podendo atingir até 1600 kg.ha⁻¹. A média nacional é de 1300 kg.ha⁻¹ para as arbustivas (crescimento determinado) (BLANCO et al., 1997).

As sementes certificadas são aquelas resultantes da reprodução de sementes genéticas (obtidas a partir de processo de melhoramento de plantas) ou de sementes básicas (obtidas da multiplicação de semente genética), produzidas e comercializadas por produtores registrados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (RENASSEM). As sementes certificadas possuem duas categorias: C1 (primeira geração) e C2 (segunda geração). As sementes S1 e S2 são categorias de sementes anteriormente denominadas "sementes fiscalizadas". A semente S1 é produzida a partir de semente C2; A semente S2 é produzida a partir de semente S1. Apesar de não serem certificadas, são produzidas e comercializadas por produtores registrados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (FAEP, 2006).

De acordo com a associação de produtores e comerciantes de sementes e mudas do RS (APASSUL, 2008), são descritos os padrões de qualidade exigidos para a comercialização de sementes de feijão-vagem para sementes básicas, C1, C2, S1 e S2. O peso máximo do lote deve ser (kg): 25.000. Peso amostra submetida ou média (g): 1000. Amostra de trabalho para análise de pureza (g): 700. Amostra de trabalho para a determinação de outras sementes por número (g): 1000. Sementes puras (% mínima): 98% para todas as categorias. Sementes infestadas (% máxima): 3% para todas as categorias. Germinação (% mínima): 70% básica e 80% demais categorias.

2.4 Espécies vegetais utilizadas para a obtenção dos óleos

Citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt)

A citronela é uma planta medicinal aromática, pertencente ao gênero *Cymbopogon*, família Poaceae, subfamília Panicoideae. A citronela é muito semelhante ao capim-cidreira. Este gênero é constituído de oitenta e cinco espécies (CASTRO et al., 2007). É uma planta conhecida por ser capaz de produzir um óleo com propriedades repelentes, que apresenta mais

de 80 constituintes, destacando-se o citronelal, geranial e limoneno. O citronelal é utilizado como material básico para a síntese de importantes compostos químicos denominados iononas e para a síntese de vitamina A (CASTRO et al., 2010). De acordo com Ketoh et al. (2002) os teores de óleo essencial na matéria seca e na matéria fresca, são de 1,4 e 0,8% respectivamente. Ainda de acordo com os autores, os óleos essenciais de citronela, contêm de 70 a 90% de geraniol.

O óleo essencial de citronela apresenta atividade repelente a insetos e ação fungicida e bactericida. Ele é também utilizado na fabricação de perfumes e cosméticos (BILLERBECK et al., 2001; MUMCUOGLU et al., 2004; REIS et al., 2006; TRONGTOKIT et al., 2005; WONG et al., 2005).

Estudos realizados por Rios et al. (2013) demonstraram que o óleo essencial de citronela apresentou diminuição do crescimento micelial do fungo *Coletotrichum acutatum*, quando testado *in vitro*. As concentrações de 5%, 10% e 15% reduziram parcialmente o crescimento micelial, enquanto que a concentração de 20% proporcionou a inibição total deste crescimento. De acordo com Scortichini & Rossi (2001), o óleo essencial de citronela apresenta um fitoconstituente conhecido como terpeno, que é responsável pelo antagonismo de bactérias como *Erwinia amylovora* (Burril).

Capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Staf)

É uma planta originária da Índia, família Poaceae, muito difundida no Brasil e nas Américas (SOUZA e LORENZI, 2005). É muito utilizada com fins medicinais e também empregada no plantio em curvas de nível, para prevenção da erosão no solo. Há algum tempo que autores vêm estudando o efeito do óleo essencial de capim-limão no controle fitossanitário. É uma planta aromática cultivada para a produção comercial de óleo essencial, o qual também é utilizado como material de partida para síntese da vitamina A (Vieira, 2006).

O óleo essencial de capim limão geralmente apresenta como constituintes majoritários os monoterpenos citral (mistura isomérica de neral e geranial) e o mircenolol (GUIMARÃES et al., 2011).

Estudos realizados por Devi et al. (2002) observaram o efeito letal no desenvolvimento micelial de *Rhizoctonia solani* quando utilizaram as doses de 0,4% de concentração do óleo sobre *C. reflexus*. De acordo com Nguetack et al. (2004) houve redução de 64% no crescimento micelial de *F. moniliforme* em avaliação *in vitro*, quando a concentração do óleo utilizado foi de 200 ppm. Para *Aspergillus flavus*, diminuição de 48% e *Aspergillus fumigatus*, de 77% quando a concentração testada foi de 500 ppm.

Nim (*Azadirachta indica*)

O nim, *Azadirachta indica* A. Juss., árvore da família Meliaceae, é conhecida há séculos, principalmente na Índia, por sua ação medicinal, e nas últimas décadas seu estudo têm se difundido devido às substâncias inseticidas presentes nas folhas e frutos. Dentre os mais de 40 terpenóides já identificados na planta que possuem ação contra insetos, a azadiractina é o composto mais eficiente.

Esses compostos têm grande potencial no controle de pragas, apresentam toxicidade extremamente baixa aos vertebrados, sendo praticamente inócuos, causando baixo impacto ao ambiente. O plantio do nim está crescendo rapidamente no Brasil, com o objetivo de exploração da madeira e também para a produção de folhas e frutos, de onde se retira a matéria prima para produtos inseticidas, para uso medicinal, veterinário ou na indústria de cosméticos (MARTINEZ, 2002).

Além dos diversos usos já citados, o nim tem apresentado potencial para o controle de fitopatógenos (CARNEIRO, 2012). O efeito do nim sobre fungos é variável, dependendo, entre outros fatores, do patógeno alvo. Govindachari et al. (2013), estudando a atividade antifúngica de terpenóides constituintes do óleo de nim, observaram que a azadiractina não afetou o crescimento de três fungos fitopatogênicos, enquanto que a salanina, nimbina, epoxiazadiradiona, deacetilnimbina e azadiradiona, apresentaram diferentes níveis de controle. Esses cinco terpenóides que foram eficazes no controle de fungos apresentaram maior ação quando em mistura do que quando testados isoladamente.

Nos últimos anos, vários artigos foram publicados avaliando a eficácia do nim para o controle de fungos como *Pyricularia oryzae* (AMADIOHA, 2010), *Erysiphe pisi*, *Plasmopara viticola* e *Alternaria helianthi*, causadores de importantes doenças em culturas agrícolas. Carneiro (2013) observou que o óleo de nim a 0,25% ou 0,5% controlou o oídio do tomateiro em casa de vegetação. Bhutta et al. (2011) avaliaram o efeito do nim no controle de fungos em sementes de girassol. Os autores verificaram que uma solução a 1% obtida a partir de sementes de nim reduziu em quase 100% a porcentagem de incidência de *Aspergillus alternata* nas duas cultivares estudadas, além de controlar outros fungos como *Fusarium* spp.

3 OBJETIVOS

Avaliar a ação fungicida, *in vitro*, de óleos essenciais de capim limão (*Cymbopogon citratus*), citronela (*Cymbopogon winterianus*), e do óleo vegetal de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) no crescimento micelial dos fungos *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. que contaminam sementes de feijão-vagem em ambiente de armazenamento.

Avaliar o efeito de óleos essenciais de capim-limão, citronela e do óleo vegetal de nim sobre a mortalidade e oviposição de insetos da espécie *Acanthoscelides obtectus* (Say) em sementes de feijão-vagem.

Avaliar a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de feijão vagem, revestidas com óleos essenciais de capim limão, citronela e óleo vegetal de nim, durante armazenamento de 12 meses.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O Trabalho foi conduzido nos anos de 2015 e 2016, no laboratório de Análise de sementes do Instituto de Agronomia da UFRRJ e no laboratório de qualidade de sementes do CEPAO da Empresa de pesquisa agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-RIO), em Seropédica-RJ

As as sementes do feijão-vagem, cultivar Alessa, utilizadas neste experimento, foram produzidas sob sistema orgânico no campo experimental do CEPAO/ PESAGRO-RIO, em Avelar/Paty dos Alferes-RJ (região médio serrana do Estado do Rio de Janeiro), e colhidas no período de Julho de 2015. Após a colheita, foi realizada a caracterização da qualidade fisiológica e sanitária do lote de sementes utilizado.

Para o tratamento das sementes foram utilizados óleos essenciais e vegetal comerciais.

Tabela 1. Espécies vegetais utilizadas para a obtenção dos óleos

Espécie botânica	Nome popular	Parte utilizada para extração de óleo
<i>Azadirachta indica</i> A. Juss	Nim	Frutos
<i>Cymbopogon citratus</i> (DC)	Capim Limão	Folhas
<i>Cymbopogon winterianus</i>	Citronela	Folhas

4.1 Análise cromatográfica dos óleos essenciais e análise do óleo de nim

Análises cromatográficas dos óleos essenciais e substâncias isoladas foram realizadas usando um sistema de cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa (Shimazu CG-EM, CG-17A/QP2010 Plus). As análises foram realizadas em coluna capilar Factor Four-VF-5ms (30mx 0,25mm de diâmetro interno x 0,25 mm de espessura de filme); com programação de temperatura de 60°C a 260°C (3°C min⁻¹), depois 10°C/min até 290°C, temperatura do injetor a 220°C, interface de 310°C, fonte de íons a 220°C e energia de impacto de 70 eV. O gás carreador hélio com vazão de 1 mL min⁻¹, razão de split 1:30 e 1,0µL de óleo essencial injetado em diclorometano. Os fragmentos foram analisados na faixa de varredura de 40-500 u.m.a.

A identificação dos componentes do óleo essencial foi realizada por meio dos seus índices de retenção (RI), calculados para cada constituinte por meio da injeção de uma série de padrões de hidrocarbonetos lineares (c8-c20) nas mesmas condições da amostra, e comparados

com o valor tabelado (ADAMS, 2007), bem como o banco de dados da biblioteca (NIST, 2008).

As análises quantitativas foram feitas utilizando cromatógrafo em fase gasosa equipado com um detector de ionização de chamas (CG-DIC), utilizando-s um aparelho HP-5890-Série II, nas mesmas condições experimentais e temperatura do tecetor de 280°C. A quantidade relativa (%) de cada componente do óleo foi expressa como percentagem da área do pico em relação à área total dos picos no extrato.

Análise do óleo de Nim

A metodologia de análise do óleo de nim foi retirada da Literatura (BENÍCIO, 2010). Obtenção das propriedades físico-químicas do óleo:

O óleo de Nim é caracterizado por meio: (a) densidade específica - uso de picnômetro a 25°C, (b) índice de refração – uso de refratômetro Bausch e Lomb (ABBÉ-3L), (c) índice de acidez (%) em ácido oléico (p/p) - titulação com hidróxido de sódio 0,1 N usando fenolftaleína como indicador, (d) índice de peróxido (mEq/Kg óleo) - titulação com tiosulfato de sódio 0,1 N usando amido como indicador, (e) índice de iodo (método de Hübl, g I₂/100g óleo) – titulação indireta do iodo com solução de tiosulfato de sódio 0,1 N usando amido como indicador e (f) índice de saponificação (mg KOH/g óleo) – titulação indireta do hidróxido de potássio com solução de ácido clorídrico 0,5 N, usando fenolftaleína como indicador (São Paulo, 1985).

Análise físico-química do óleo de Nim

As plantas são constituídas também por óleos e gorduras. Em sementes oleaginosas esses componentes são estocados como reserva energética. Existem ainda, outras substâncias e grupos de substâncias presentes nestas sementes, como mono e diglicerídeos (FARIA et al., 2012). Os triglicerídeos são compostos importantes destes óleos e gorduras vegetais. Benício et al., (2010) estudaram a amêndoa (fruto) do Nim, e visualizaram elevados índices de lípidios e proteínas. O óleo de Nim, ao contrário do óleo de citronela e de capim limão, não é considerado um óleo essencial. Diferem bastante em vários aspectos, inclusive na forma de avaliação de constituintes.

A análise de características físico-químicas do óleo de nim foi retirada da literatura atual (Tabela 2) (BENÍCIO, 2010). Vários trabalhos são unânimes quanto a composição do óleo de nim. O procedimento de análise deste tipo de óleo, é diferenciada da análise cromatográfica dos óleos essenciais. A análise do óleo de sementes de nim (perfil cromatográfico), é realizada: através da extração das azadiractinas do óleo de semente de nim com hexano, cartuchos CN e metanol. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Fase estacionária: coluna C18 com pré-coluna; Fase móvel: H₂O: ACN: MeOH:THF (51:37:7:5); Detector: UV a 217 nm. Após o procedimento de extração, a análise é relativa aos picos das azaractinas A e B (ANVISA, 2017).

De acordo com Benício et al. (2010) é importante ter conhecimento sobre as características físico-químicas de óleos e gorduras, pois essa informação permite o estabelecimento da identidade de um determinado lipídeo através da análise do conjunto dos vários índices que lhe são específicos. Este conhecimento também possibilita uma estimativa do tipo de ácidos graxos que estão presentes e (índice de saponificação) e seu grau de instauração (índice de iodo). As características físico-químicas do óleo de Nim estão na tabela abaixo.

Tabela 2- Propriedades físico-químicas do óleo de nim.

Propriedades	Valores
Densidade	0,8918 + 0,169
Índice de refração	1,461 + 0,005
Índice de acidez (ácido oleico p/p)	0,990 + 0,03
Índice de saponificação (mg KOH/g óleo)	168,38 + 3,227
Índice de peróxidos (mEqO ₂ /kg)	1,342 + 0,161
Índice de iodo (g I ₂ /100g) (Hubl)	72,8 + 0,14

Fonte: Benício et al. (2010)

Estes resultados corroboram com os encontrados por Souza et al. (2008), onde a densidade encontrada foi de 0,8918. O índice de saponificação de 168,38 mg KOH/g óleo, demonstra um óleo composto principalmente de ácidos graxos de cadeias alifáticas longas, e o índice de refração (1,461) encontra-se dentro da faixa prevista para os óleos de *Glycine max*, *Elaeis guineensis*, *Gossypium hirsutum*, *Arachis hypogaea* L. (BENÍCIO, 2011). Quanto ao índice de acidez, o valor encontra-se superior ao índice de 0,3 estabelecido para óleos que passam por processamento e desodorização (máximo de 0,3).

4.2 Efeitos do uso de óleos *in vitro* no crescimento micelial de fungos contaminantes de sementes de feijão-vagem.

Foram realizados testes *in vitro* visando avaliar a ação inibitória do crescimento micelial dos óleos sobre patógenos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*.

Avaliação da ação inibitória dos óleos sobre o crescimento micelial

Inicialmente, foi ativado o crescimento de fungos contaminantes de sementes (isolados de *Aspergillus* sp. de *Penicillium* sp.), em placas de Petri contendo o meio de cultura BDA. Estes microrganismos pertencem à micoteca do CEPAO/PESAGRO-RIO e se encontravam preservados em tubos de ensaio contendo BDA e óleo mineral. As placas foram mantidas em câmara de crescimento BOD por sete dias, na temperatura de 25°C e 12 horas de fotoperíodo.

Os óleos essenciais de Capim-limão e Citronela foram avaliados nas soluções com concentrações de 0,0; 0,25; 0,50 e 1,0% v/v. O óleo vegetal de Nim foi testado nas concentrações de 0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 e 6,0% v/v. Foi adicionado o detergente Tween 80% na proporção de 1:1 ao meio de cultura BDA, após autoclavagem e antes de vertê-lo em placas de 9 cm de diâmetro, segundo descrito por Abreu (2006). A repicagem dos fungos para o meio BDA, contendo os tratamentos, foi realizada pela retirada de discos de 0,5 cm de

diâmetro dos bordos de suas colônias específicas e transferidos para o centro das placas de Petri. Após as repicagens, as placas foram mantidas em estufa incubadora refrigerada, tipo BOD, com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$, por 7 dias.

Três dias após a repicagem, iniciaram-se as avaliações aos 3, 4, 5, 6 e 7 dias, em que foi considerado o crescimento micelial linear dos fungos. Na ocasião, foram aferidos os diâmetros (cm) de suas colônias em dois sentidos perpendiculares entre si, tomando-se como valor de crescimento a média das duas medidas.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com concentrações variáveis dos preparados em três repetições, sendo cada repetição representada por uma placa. As análises estatísticas foram realizadas no programa Sisvar (FERREIRA, 2006). A comparação entre as médias foi efetuada pelo teste de Tukey a 5%, os dados foram transformados para $\sqrt{x+1}$ para homogeneizar as variâncias e as análises foram realizadas separadamente em relação aos fungos testados.

4.3 Efeitos dos óleos sobre as sementes armazenadas durante 12 meses

Para selecionar as concentrações das soluções dos óleos, foram realizadas avaliações preliminares das sementes por meio dos testes de germinação e vigor, utilizando a primeira contagem do teste de germinação conforme as Regras de Análises de Sementes (BRASIL, 2009). A escolha da concentração adequada teve por objetivo evitar fitotoxidez, que poderia causar alterações na germinação e diminuição do vigor das sementes. A partir dos resultados *in vitro*, foi escolhida a concentração de 0,5% v/v dos óleos essenciais de capim-limão e citronela, e de 4% v/v do óleo de nim, para tratamento e armazenamento das sementes de feijão vagem.

Tratamento das sementes (revestimento com os óleos)

Após a realização das avaliações preliminares, as sementes de feijão-vagem foram submetidas ao tratamento com os óleos essenciais e o óleo vegetal de Nim e fungicida Captan. Para solubilização dos óleos, foi utilizado o detergente Tween 80% na proporção de 1:1. A partir da mistura do óleo e Tween, foram feitas as diluições das concentrações desejadas. As sementes foram borrifadas com as soluções de óleos e submetidas à secagem por 48 horas em temperatura ambiente.

Portanto, este experimento consiste nos seguintes tratamentos:

T1- Sem tratamento

T2- Tween 80% (testemunha adicional)

T3- Óleo essencial de citronela (0,5%)

T4- Óleo essencial de Capim-limão (0,5%)

T5- Óleo vegetal de Nim (4%)

T6- Fungicida Captan (2,0 g i.a/ kg de semente)



Figura 1- Tratamento de sementes de feijão-vagem com os óleos utilizados no experimento.



Figura 2- Sementes expostas à secagem e armazenadas em refrigerador a 10°C.

Posteriormente ao período de tratamento e secagem, foi realizada a determinação do teor de água das sementes conforme as Regras de Análises de sementes (Brasil, 2009), e

avaliada a qualidade fisiológica das sementes por meio de teste de germinação e vigor. Após esta etapa, as sementes foram acondicionadas em garrafas PET de 600 mL e armazenadas por doze meses em refrigerador à temperatura de 10°C.

Durante o período de armazenamento, foram conduzidos bimestralmente os testes de germinação, primeira contagem, determinação de umidade, peso de massa seca, infestação por insetos e comprimento de plântulas e para a avaliação da qualidade fitossanitária, foram realizados Blotter tests.

O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6 x 7 (seis tratamentos x sete períodos de avaliação durante os doze meses de armazenamento), com quatro repetições, para cada tratamento. Os dados foram submetidos à análise estatística no programa Sisvar, usando regressão para períodos de armazenamento e teste de Tukey ($p < 0,05$) para os tratamentos. As variáveis infestação por insetos e incidência de fungos (Blotter test), com os dados expressos em porcentagem, para efeitos da análise de variância, foram transformados em raiz ($x+0,5$) a fim de ocorrer a homogeneização das variações.

4.4 Efeitos do uso de óleos na mortalidade e oviposição de *Acanthoscelides obtectus* (say).

Realizadas as etapas anteriores, os óleos foram aplicados em insetos da espécie *Acanthoscelides obtectus* (Say), considerados pragas de armazenamento de sementes, conforme metodologia descrita abaixo.

O experimento foi conduzido no CEPAO/PESAGRO-RIO, Seropédica, RJ. Em condições de temperatura 25 ± 2 °C, umidade relativa de 60 ± 10 %. Em potes plásticos de 250 ml, foram colocados 10 g de sementes de feijão vagem Alessa e 10 insetos adultos com até 48 horas de idade. Estes insetos foram obtidos da criação de *Acanthoscelides obtectus* (Say.) do laboratório de controle biológico da Pesagro. Os óleos essenciais utilizados, foram os mesmos testados em outras etapas do experimento. Os óleos foram distribuídos com pipeta graduada sobre papel de filtro, e este encaixado na tampa de cada recipiente, aplicado um volume de 1 ml de solução de cada tratamento. Os óleos foram solubilizados com o detergente Tween na proporção de 1:1, portanto, foram usadas as concentrações de 0.5% v/v para o óleo de citronela e capim limão e 4% v/v para o óleo de nim, e mais o controle água destilada +Tween 80%. Os potes foram mantidos vedados para avaliação da mortalidade dos adultos, realizada 24, 48 e 72 horas após a montagem dos testes.

Na avaliação da mortalidade dos insetos, considerou-se vivo todo o inseto que movimentou qualquer parte do corpo, mesmo que devagar quando estimulado. A avaliação da oviposição foi realizada sete e dez dias após o confinamento dos insetos. Os dados foram submetidos à análise estatística no programa Sisvar (FERREIRA, 2006). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).



Figura 3- Montagem do experimento com *Acanthoscelides obtectus* (Say).



Figura 4- Montagem do experimento para avaliar o efeito inseticida dos óleos.

4.5 Avaliações

Após o tratamento das sementes com os óleos, foram realizadas as seguintes avaliações:

a) Determinação do teor de água

O teor de água foi determinado pelo método da estufa a $105\pm 3^{\circ}\text{C}$, durante 24 horas, utilizando-se 4 repetições. Os resultados foram expressos em porcentagem. (BRASIL, 2009).

b) Teste de germinação

Conduzido com quatro sub amostras de 25 sementes que foram semeadas no substrato papel germitest, umedecido com 2,5 vezes o seu peso com água destilada e esterilizada. As sementes foram levadas para o germinador tipo BOD à temperatura alternada de $20\text{-}30^{\circ}\text{C}$. As contagens foram realizadas no quinto e nono dia após a montagem do teste, sendo computado o percentual de plântulas normais (BRASIL, 2009).

c) Primeira contagem de germinação

Realizado em conjunto com o teste de germinação, consiste na contagem das plântulas normais no quinto dia após a instalação do teste, conforme metodologia descrita por Marcos Filho et al (1999).

d) Comprimento de plântulas

Os valores médios foram obtidos de quatro repetições de 10 sementes semeadas em substrato areia e levadas para o germinador à temperatura constante de 25°C, conforme indicado para a espécie. Após a permanência de cinco dias no germinador, as plântulas normais obtidas foram medidas com auxílio de uma régua com graduação em cm. Foram tomadas as medidas da ponta da raiz até a inserção dos cotilédones e foi obtido o valor do comprimento médio da plântula (VIERIA e KRYZANOWSKI, 1999).

e) Peso de massa seca

Foram avaliadas as plântulas normais a partir dos testes de germinação. Foram excluídos os cotilédones. As repetições de cada tratamento foram acondicionadas em sacos de papel e levadas à estufa com circulação de ar forçada, mantida à temperatura de 80°C por um período de 24 horas (NAKAGAWA, 1999). Após este período, cada repetição teve a massa avaliada em balança com precisão de 0,001g, e os resultados médios expressos em gramas por plântula.

f) Avaliação da qualidade sanitária

Blotter test

As amostras com 100 sementes foram distribuídas em caixas gerbox, contendo duas folhas de papel de filtro esterilizado e umedecido com água esterilizada. Em seguida, as caixas foram colocadas para incubação sob BOD, à temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$, com 2000 lux no regime de 12 horas de luz e 12 horas de escuro por um período de sete dias, quando foi realizada a identificação dos patógenos. A avaliação da incidência de fungos nas sementes foi realizada sete dias após a instalação do experimento, com auxílio de microscópios estereoscópico e ótico, e os resultados foram expressos em porcentagem de incidência de fungos (BRASIL, 2009).

Exame de sementes infestadas

Quatro repetições de 100 sementes por tratamento foram retiradas ao acaso e examinadas individualmente observando a existência de orifícios de saída de insetos. As sementes perfuradas foram separadas, contadas, obtendo o número de sementes infestadas e a seguir, descartadas. As demais sementes de cada repetição, aparentemente não danificadas por insetos, foram imersas em água por tempo suficiente para amolecê-las, usualmente 12-24 horas. As sementes foram cortadas individualmente, de forma a assegurar uma perfeita observação das estruturas internas. O número de sementes de cada repetição que apresentarem ovo, larva, lagarta, pupa ou inseto adulto internamente foi registrado. Este número foi somado ao número de sementes perfuradas de cada repetição registrado anteriormente obtendo-se o número total de sementes danificadas por insetos. (BRASIL, 2009).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises cromatográficas dos óleos utilizados no experimento

Análise do óleo essencial de capim limão e citronela

Na avaliação da composição dos óleos essenciais (capim-limão e citronela, conforme Tabelas 3 e 4 pode-se verificar que as espécies contêm números variáveis de constituintes. No entanto, observa-se que apesar da quantidade variável das substâncias, sempre há predominância de algumas em maior quantidade nos óleos essenciais. Esses resultados conferem com os citados por Simões et al. (1999); Simões; Spitzer (2000) e Doran; Brophy, (1990), quando comentam que nos óleos essenciais ocorre sempre um ou mais composto majoritário, e outros em menores quantidades.

A Tabela 3 expressa os compostos encontrados no óleo essencial de capim-limão, seus respectivos teores (expressos em % de normalização de áreas) e os índices de Kovats. A composição química observada apresenta os monoterpenos como constituintes majoritários. No óleo essencial de *C. citratus*, o componente majoritário encontrado foi o geranial (46,91%), seguido do neral (34,34%). Estes dois compostos são estereoisômeros e a mistura constitui o citral. Assim, o citral é uma mistura isomérica de geranial [(2E) - 3,7-dimetilocta-2,6-dienal; citral A ou isômero E] e neral [(2Z) -3,7-dimetilocta-2,6-dienal; citral B ou isômero Z]. Estes resultados estão de acordo com diversos autores que avaliaram os constituintes do óleo essencial de capim-limão (CIMANGA et al., 2012; MARTINS et al., 2015; COSTA et al., 2015; BARBOSA et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2011).

Tabela 3- Constituintes do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) identificados por CG/EM e seus respectivos teores expressos em normalização de área (%). UFRRJ-Seropédica-RJ, 2017.

IK Calculado	Constituintes	Área (%)
991	Canfeno	1,02
1292	6-metil 5- heptona	1,28
1199	Linalol	0,82
1239	Citronelal	0,25
1051	Isomentol	1,81
1233	Nerol	0,45
1239	Neral	34,34
1245	Geraniol	3,52
1269	Geranial	46,91
1235	Acetato de Metila	6,30
1040	Alfa-trans bergamoteno	0,85
	Total	97,52

O estudo de óleos essenciais, seus constituintes e concentrações relativas, demonstram que os resultados não dependem somente da espécie da planta em questão. Existem alguns fatores que influenciam diretamente na composição química do óleo. Entre estes fatores, destacam-se os mais importantes, como a origem da planta, a parte da planta utilizada no estudo, o estágio de desenvolvimento da planta, as condições climáticas e de crescimento, como temperatura, solo e adubação e as condições de destilação e estocagem (OLIVEIRA et al., 2011).

De acordo com a Tabela 4, a análise do óleo essencial de *Cymbopogon Winterianus* por cromatografia gasosa, resultou na identificação de 10 substâncias. Pode-se classificar os compostos listados nos seguintes grupos: monoterpenos hidrocarbonetos (limoneno); monoterpenos oxigenados (linalol, citronelal, citronelol, geraniol, geranial, acetato de citronelida e acetato de geranila) e os sesquiterpenos oxigenados (elemol e bulsenol).

Contatou-se que os constituintes majoritários encontrados foram: citronelal (41,6%), seguido de geraniol (22,8%) e citronelol (11%). Os mesmos resultados ocorreram em estudo realizado por Oliveira et al. (2011), onde explicam que a maior concentração de citronelal ocorreu, provavelmente, devido à oxidação do citronelol, um álcool secundário, em citronelal. Resultados semelhantes foram obtidos em estudos realizados por Koffi et al. (2009), que identificaram o citronelal, o geraniol e o citronelol como constituintes majoritários. Singh et al. (2011) também identificaram os mesmos compostos citados como os majoritários em análises de óleo essencial de Citronela.

Tabela 4- Constituintes do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus*) identificados por CG/EM e seus respectivos teores expressos em normalização de área (%).UFRRJ-Seropédica-RJ, 2017.

IK Calculado	Constituintes	Área (%)
1025	Limonemo	2,0
1098	Linanol	0,8
1151	Citronelal	41,6
1230	Citronelol	11,0
1259	Geraniol	22,8
1051	Geranial	0,9
1355	Acetato de Citronelida	2,6
1386	Acetato de Geranila	3,0
1547	Elemol	2,2
1625	Bulsenol	1,3
Total		

No presente trabalho não foi realizada a análise cromatográfica do óleo de nim, no entanto, na literatura atual (2017), existem muitas referências quanto à avaliação de seus constituintes. Os autores são unânimes na citação de Azadiractina, considerada o composto mais importante do óleo de nim.

De acordo com Martinez (2012); Siddiqui et al. (2013) muitos triterpenóides com atividade biológica vem sendo isolados de extratos e óleos de sementes e folhas no Nim. A

azadiractina se concentra nos frutos aumentando ao longo do desenvolvimento, sendo máxima no amadurecimento (SIDDIQUE et al., 2013).

Segundo Maciel et al., (2010) os principais elementos químicos do óleo de Nim são uma mistura de três ou quatro compostos correlatos podem ser modificados em mais de 20 outros menores, porém não menos ativos. Estes compostos geralmente pertencem à classe dos triterpenos, mais especificamente limonóides, e muitos deles apresentam eficiência para bloquear o desenvolvimento de pragas agrícolas. Estudos realizados por este autor, evidenciaram novos triterpenóides que foram isolados de extratos de sementes e folhas de Nim.

A azadiractina é o triterpeno oxigenado mais promissor descoberto até agora. Este composto age juntamente com outros triterpenóides, com as geduinas, nimbinm, e limonóides, aumentando a ação inseticida do óleo de nim. Segundo Neves et al. (2008) foram isoladas seis substâncias do óleo do nim como Nemola (C₁₅H₃₀O₃S), Margosin (C₂₈H₄₈O₁₀), um glicosídeo, ácido palmítico, ácido tetradecóico e um ácido denominado D do Neem, Nimbin, Nimbinim e Nimbidim. Das flores do Nim Na, K, Ca, Cl, CO₂, SO₄ e SiO₂, além do Nimbosterol (C₂₀H₃₄O), glicosídeo Nimbosterim, flavonóide Nimbicetim (C₁₅H₆O₂(OH)) e sesquiterpenos.

De acordo com Ribeiro et al. (2008) os limonóides são os maiores representantes com atividade inseticida, possuem o sabor amargo e são denominados como meliacinas. Segundo Schumacher (2011) a azadiractina apresenta notável atividade biológica, e pode ser considerado o princípio ativo encontrado no nim que causa diversos efeitos nos insetos. Dentre esses efeitos, tem-se a ação deterrente, ação na alimentação, regulação do crescimento, fecundidade e antiovopositora.

Azadiractina é o termo aplicado a um grupo de compostos limonóides com ação inseticida, extraídos de sementes da árvore nim (*Azadirachta indica* A. Juss). O grupo de compostos não é completamente identificável e quantificável e, assim, a Azadiractina A refere-se ao principal composto do grupo, sendo utilizada como um dos dois fitomarcadores utilizados juntamente com a Azadiractina B (3-Tigloyl-azadirachtol) para identificação e quantificação do derivado vegetal (ANDRADE, 2013).

5.2 Caracterização da qualidade fisiológica e fitossanitária do lote de sementes de feijão-vagem, cultivar Alessa.

A colheita das sementes ocorreu em Julho de 2015 Campo experimental do CEPAO/PESAGRO-RIO em Avelar-RJ. Após, procederam-se os testes para avaliação da qualidade fisiológica e sanitária inicial do lote de sementes e determinação do teor de água conforme metodologias prescritas em RAS (2009).

A Tabela 5 indica os resultados obtidos após a realização de testes que caracterizaram a qualidade fisiológica do lote de sementes de feijão-vagem produzido sob manejo orgânico. São apresentados os resultados antes da instalação dos experimentos.

Tabela 5- Teor de água (%), primeira contagem (%), germinação (%), peso de massa seca (g/pl), comprimento de plântulas (cm) e infestação por insetos (%) em sementes de feijão-vagem, cultivar Alessa, produzidas sob manejo orgânico.

	Teor de água (%)	Primeira contagem (%)	Germinação (%)	Peso de Mat. Seca (g/pl)	Comprimento de plântulas (cm)	Infestação por insetos (%)
Feijão-vagem Cv. Alessa	11	79	88	0,192	11,6	1,2

Os resultados encontrados na caracterização da qualidade fisiológica do lote de sementes de feijão-vagem, são importantes referenciais na produção orgânica de sementes, onde o manejo do sistema não permite em nenhuma etapa, o uso de agroquímicos. Estes valores demonstraram a viabilidade da produção orgânica de sementes de feijão-vagem, identificando um lote com elevado potencial de vigor, que apresentou porcentagem de germinação maior do que o valor mínimo permitido para comercialização desta espécie, que é acima de 80%, de acordo com a Instrução Normativa n° 25, de 16 de Dezembro de 2005 (BRASIL, 2005).

Na Tabela 6 observa-se os resultados da análise fitossanitária inicial das sementes de feijão-vagem, cultivar Alessa, logo após ao tratamento com os óleos essenciais de capim limão, citronela e o óleo vegetal de Nim, detergente Tween 80% e testemunha. A análise de variância da tabela encontra-se em anexo.

Tabela 6- Porcentagem de fungos (%) em sementes de feijão-vagem produzidas sob manejo orgânico e tratadas com óleo essencial de capim-limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween 80 e testemunha.

Tratamentos	Fungos			
	<i>Fusarium</i> sp (%)	<i>Aspergillus</i> sp. (%)	<i>Penicillium</i> sp (%)	<i>Cladosporium</i> sp. (%)
Sem tratamento	3,41 C	3,93 E	3,93 E	4,26 C
Tween (80%)	3,82 C	3,27 C	3,73 DE	3,00 B
Capim limão (0,5%)	1,58 B	2,82 B	1,93 B	3,00 B
Citronela (0,5%)	1,80 B	3,60 D	2,73 C	0,70 A
Nim (4%)	1,22 AB	3,27 C	3,46 D	0,70 A
Fungicida Captan	0,70 A	0,70 A	0,70 A	0,70 A

Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não apresentam diferença significativa, a 5%, pelo teste de Tukey.

Na avaliação da qualidade fitossanitária do lote de sementes de feijão-vagem, após o tratamento com os óleos, observou-se maior incidência de *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp. *Penicillium* sp. e *Cladosporium* sp. Os fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, são considerados fungos contaminantes de sementes que ocorrem principalmente em ambiente de armazenamento.

As sementes e produtos armazenados, como grãos, podem ser alvos de alguns fungos, por apresentarem condições e servirem como substratos apropriados ao desenvolvimento de algumas espécies. Esses fungos são tipicamente fungos de armazenamento, muitos estudos apontam que estes fungos, principalmente espécies de *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., como os principais agentes de deterioração das sementes armazenadas. Nem todas as espécies de fungos são toxigênicas, mas sabe-se que mais de 300 espécies podem produzir algum tipo de toxina.

Dentre as principais micotoxinas encontradas em produtos alimentícios e grãos, têm-se a aflatoxina e a ocratoxina, produzidas por fungos de armazenamento dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, sendo os produtos mais afetados os cereais e fabáceas, e entre estas, o feijão (BENICIO, 2003).

Analisando-se os dados da qualidade fisiológica (Tabela 5) juntamente com os da incidência de fungos (Tabela 6), pode-se inferir que apesar da alta incidência dos fungos de armazenamento, a contaminação não influenciou a qualidade fisiológica do lote. No entanto, na maioria dos casos, a associação destes fungos às sementes afeta a qualidade fisiológica da semente com redução da germinação e vigor e nos grãos podem desenvolver-se e liberar micotoxinas que causam intoxicações (micotoxicoses) nos animais e no homem (MENTEN, 1995; PEREIRA, 1995, MALOZZE e CORREA, 1998).

O gênero *Aspergillus* consta de fungos toxigênicos, causadores de deterioração em grãos e sementes, são saprófitos cosmopolitas de disseminação fácil por seus esporos leves e secos. São xerofílicos ou xerotolerantes, ou seja, podem crescer em baixo potencial de água, sendo os primeiros a se desenvolverem nas condições de baixa umidade dos grãos e sementes assim facilitando o desenvolvimento de outros gêneros que necessitam mais umidade (NEERGAARD, 1979; BERJACK, 1987; MILLS, 1983; GRIFFIN, 1994; LUZ, 1995; PUZZI, 2000).

De modo geral, o período de armazenamento de sementes tem variação entre 6 e 8 meses, intervalo de tempo em que o gênero *Aspergillus* pode se desenvolver em condições de umidade mais baixas nas sementes; o que torna necessário monitorar a sua presença por testes a serem conduzidos no início, durante e ao final do armazenamento com objetivo de determinar a sua presença e tomar providências necessárias para sua manutenção (WETZEL, 2007).

Segundo Dhingra (2005) a quantidade de inóculo inicial presente em um lote de sementes, dentre outros fatores, poderá ser determinante para a transmissão ou não de doenças às plantas futuras, ou para reduzir a qualidade fisiológica de um lote de sementes. Porém, a importância da sanidade de sementes está no fato de que, aproximadamente 90% das culturas utilizadas para alimentação, tanto humana como animal, são propagadas por sementes (HENNING, 2005).

De acordo com os resultados do teste de sanidade (Tabela 6), observa-se também a alta incidência de *Cladosporium* sp. Muniz (2001) verificou, dentre outros fungos, a alta incidência

de *Cladosporium fulvum* em sementes de tomate sem danos ao potencial fisiológico. Neste experimento a alta incidência de *Cladosporium* sp. não influenciou na qualidade fisiológica do lote de sementes de feijão-vagem. A alta incidência de *Cladosporium* sp. neste experimento pode ser oriundo de contaminação de algum material ou equipamento utilizado, apesar de todas as medidas de assepsia terem sido tomadas.

Foram encontrados também fungos do gênero *Fusarium*. Na cultura do feijoeiro pode-se destacar a murcha-de-Fusarium, causada pelo agente etiológico *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. A murcha-de-Fusarium é uma doença vascular severa do feijoeiro comum, a qual foi relatada em todas as regiões produtoras de feijão do mundo (BURUCHARA e CAMACHO, 2010). O *Fusarium* também pode ser disseminado de um campo para outro principalmente através de sementes contaminadas.

É importante ressaltar que a dificuldade do monitoramento da qualidade de sementes e grãos armazenados reside na precisão e exatidão quando a população é pequena, mas que pode vir a contaminar todo o lote de sementes. Os fungos de armazenamento podem ser identificados pelo método do papel de filtro (Blotter test) que expressa a população fúngica da semente em presença apenas de umidade, combinando princípios *in vivo* e *in vitro*, permitindo a observação de fungos se desenvolvendo em condições naturais e podendo ser empregado para todas as sementes. É o mais utilizado pois permite número maior de repetições, não envolve trabalho de laboratório especializado, é teste relativamente simples e fornece visão ampla das condições fitossanitárias das sementes (ISTA, 1981; NEERGAARD, 1979, ONO et al., 1996).

Através dos resultados obtidos pelo Blotter test, é possível verificar a alta incidência de fungos de armazenamento, indicando a importância do monitoramento de fungos destes gêneros.

5.3 Avaliação da qualidade fitossanitária inicial das sementes de feijão-vagem, cultivar Alessa. Fotos Blotter test.



Figura 5- Resultados Blotter test. Sementes sem tratamento.



Figura 6- Resultados Blotter test. Sementes tratadas com óleo essencial de capim limão.

As fotos evidenciam os resultados obtidos nas avaliações realizadas pelo Blotter test. O uso do óleo essencial de capim limão, diminuiu significativamente a incidência de fungos quando comparado à amostra sem tratamento (Figuras 6 e 7).

5.4 Efeito *in vitro* de óleos essenciais e óleo vegetal de nim no crescimento micelial de *Aspergillus* sp e *Penicillium* sp.

De acordo com os resultados obtidos nesta etapa do experimento, é possível observar a ação antimicrobiana de todos os óleos testados, variando em função da concentração utilizada. As concentrações influenciaram significativamente no crescimento micelial. Observa-se o decréscimo do crescimento micelial, à medida que foram aumentadas as concentrações dos óleos testados. Diversas pesquisas têm demonstrado o potencial desses óleos como inibidor do crescimento micelial de fitopatógenos e também de fungos de armazenamento, conforme as espécies utilizadas neste estudo, *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. Souza Júnior et al. (2009) e Silva et al., 2009, observaram que os óleos essenciais de *L. sidoides*, *C. citratus* e *O. gratissimum* inibiram completamente o crescimento micelial de isolados de *Penicillium* sp a partir de 1 $\mu\text{L mL}^{-1}$.

Na tabela 7 são apresentados os resultados do crescimento micelial (cm) de *Penicillium* sp. submetido a diferentes concentrações de óleo essencial de capim limão, detergente tween, e sem tratamento em cinco dias de avaliação.

Tabela 7- Crescimento micelial (cm) de *Penicillium* sp. submetido a diferentes concentrações de óleo essencial de capim limão (CP), tween e testemunha, do terceiro ao sétimo dia de avaliação.

Crescimento micelial (cm) de <i>Penicillium</i> sp./dias de avaliação					
Tratamentos	3	4	5	6	7
Sem tratamento (BDA+H ₂ O)	1,25 B	1,88 B	2,35 B	2,87 B	3,45 B
Tween 80 (BDA+Tween)	1,23 B	1,85 B	2,37 B	2,85 B	3,57 B
CP (0,25 %)	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
CP (0,50%)	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
CP (1,00%)	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
Cv%	3,03	3,88	2,48	2,50	2,38

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si ($P>0,05$) pelo teste de Tukey.

Através dos resultados obtidos, observa-se que a concentração de 0,25% do óleo essencial de capim limão, foi letal e ocorreu diminuição total do crescimento micelial dos fungos de *Penicillium* sp. O potencial antifúngico do óleo está relacionado aos componentes químicos com ação antimicrobiana. De acordo com estudos realizados por Botelho et al. (2007), o citral apresenta ação bactericida e antifúngica. Segundo Combrinck et al. (2011) após avaliarem 18 óleos essenciais, incluindo o óleo essencial de capim limão, no controle *in vitro* de seis fitopatógenos, entre eles, o *Penicillium* sp., relataram a inibição do crescimento micelial com o uso de citral.

Garcia et al. (2008) avaliando o citral no crescimento micelial de *Aspergillus* sp, e de *Fusarium subglutinauns f.sp. ananas*, afirmam que esse componente inibiu completamente o crescimento micelial desses fungos. Ensaio realizado por Faria et al. (2012), também confirmam o efeito do citral e do eugenol na inibição do crescimento de *alternaria* sp. e *Penicillium chrysogenum*.

Na literatura atual, o óleo de capim limão apresenta importantes registros quanto à ação fungicida. Segundo Nguefack (2014) avaliando o efeito do óleo essencial de capim limão no crescimento micelial de fungos, observaram a redução de 64% do desenvolvimento de *Fusarium moniliforme* na concentração de 200 ppm, *Aspergillus flavus* em 48% e *Aspergillus fumigatus* em 77% na concentração de 500 ppm, além de inibição total em 300 ppm para *F. moniliforme* e 1200 ppm para *A. flavus* e *A. fumigatus*.

Diversas pesquisas têm demonstrado o potencial de óleos essenciais como inibidor do crescimento micelial de fitopatógenos. Carnellosi et al. (2009) e Anaruma et al. (2010),

avaliando a eficiência de óleos essenciais em fitopatógenos, verificaram que óleo de *C. citratus* foi o mais eficiente, principalmente na inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides*. Neri et al. (2006) após avaliarem os compostos voláteis do óleo de capim limão (trans-2-hexenal, carvacrol, trans-cinamaldeído e citral), concluíram que eles apresentaram expressiva atividade antifúngica sobre o crescimento micelial, germinação e esporulação de *Penicillium expansum*.

Teixeira (2011) avaliando o efeito do óleo essencial de capim limão em *Sternocarpella maydis* em sementes de milho, constatou que o óleo essencial de capim limão utilizado na concentração partir de 0,5% v/v inibiu o crescimento micelial da colônia. Souza et al. (2007) testando óleo essencial de *C. citratus* observaram o efeito deste no crescimento micelial e germinação de conídios de *Fusarium proliferatum* a partir da concentração de 0,5% v/v.

Ensaio realizados por Lorenzetti et al. (2011) revelaram que o óleo essencial de *C. citratus* inibiu completamente o crescimento micelial de *Botrytis cinerea*, isolado do morangueiro. Isso comprova a eficácia do óleo essencial de *C. citratus* tanto na inibição do crescimento micelial de fungos de armazenamento, quanto para o de fitopatógenos.

A Tabela 8 apresenta os resultados obtidos na avaliação do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon Winterianus*) e suas diferentes concentrações no crescimento micelial de fungos do gênero *Penicillium* sp. Nos dois ensaios, observa-se resultados semelhantes, à medida que se aumentava a concentração do óleo essencial de *C. winterianus*, a inibição do crescimento micelial progredia, chegando a total inibição do crescimento no terceiro dia de avaliação.

Tabela 8 - Crescimento micelial (cm) de *Penicillium* sp. submetido a diferentes concentrações de óleo essencial de citronela (CT), detergente tween e testemunha, do terceiro ao sétimo dia de avaliação.

Crescimento micelial (cm) de <i>Penicillium</i> sp./dias de avaliação					
Tratamentos	3	4	5	6	7
Sem tratamento (BDA+H ₂ O)	1,50 B	1,69 B	1,83 B	1,96 B	2,14 B
Tween 80 (BDA+Tween)	1,49 B	1,68 B	1,82 B	1,97 B	2,10 B
CT (0,25 %)	0,0 A	1,0 A	1,0 A	1,0 A	1,0 A
CT (0,50%)	0,0 A	1,0 A	1,0 A	1,0 A	1,0 A
CT (1,00%)	0,0 A	1,0 A	1,0 A	1,0 A	1,0 A
Cv%	3,33	3,03	3,48	2,50	2,38

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si (P>0,05), pelo teste de Tukey.

O óleo essencial de capim citronela apresenta majoritariamente em sua composição química os compostos citronelal, geraniol e citronelol. A presença desses monoterpenos e sesquiterpenos conferem seu potencial de fungitoxicidade (OLIVEIRA et al., 2011). Castro et al. (2010) após estudarem a composição química do capim citronela, apresentaram como compostos majoritários o citronelol, geraniol e elemol, e afirmaram que os monoterpenos citronelal e geraniol atuam na defesa da planta, e podem inibir o crescimento de fungos.

Sarmiento-Brum et al. (2013) avaliando o efeito *in vitro* do óleo essencial de citronela em diferentes fitopatógenos, concluíram que os principais componentes encontrados no óleo de *C. winterianus* foram o geraniol (28,62%), citronelol (23,62%) e neral (17,10%). A menor alíquota do óleo essencial de citronela (5µL) inibiu em mais de 90% a germinação de esporos de isolados de *Fusarium solani* e de *Aspergillus niger* e reduziu a produção de esporos em mais de 95% nos três isolados, indicando que esse óleo possui uma boa atividade fungitóxica para esses isolados.

A maior parte dos óleos essenciais apresentam algum grau de atividade contra microorganismos. De acordo com Gilles et al. (2010) essa atividade é atribuída à ação dos monoterpenos, compostos fenólicos e terpenóides. O mecanismo de ação dos monoterpenos envolve, principalmente, efeitos tóxicos à estrutura e à função da membrana celular (OLIVEIRA et al. 2011; SEIXAS et al. 2011). Diferentes estudos demonstram a ação antimicrobiana desses compostos (DAN et al. 2010; HUSSAIN et al. 2010; PEREIRA et al. 2011; COMBRINCK et al. 2011). A atividade biológica dos óleos essenciais e seus constituintes pode atuar como agentes fungistáticos e/ou fungicida, chamada de atividade antifúngica, dependendo das concentrações utilizadas. Conforme Antunes e Cavacob (2010), o mesmo óleo pode ser ativo contra um amplo espectro de espécies de microrganismos, porém as concentrações mínimas inibitórias (CMI) podem variar.

Diversos autores explicam que a atividade antifúngica dos óleos essenciais testados advém, provavelmente, do resultado da penetração de quitina na parede das hifas, prejudicando a lipoproteína da membrana citoplasmática, levando a este extravasamento do citoplasma, bem como ao esvaziamento e murchamento das hifas, e presença de filamentos (ZAMBONELLI et al, 1996; CACCIONI e GUIZZARDI, 1994; DOS SANTOS et al. 2013). Devido sua característica lipofílica, os óleos essenciais apresentam propriedades antimicrobianas (BAKKALI et al. 2008). Segundo Costa et al. (2011), a hidrofobicidade do óleo essencial permite uma interação entre o óleo e os lipídeos da membrana celular, interferindo na sua permeabilidade e causando alterações em sua estrutura.

Estudos realizados pelos autores Rasooli et al. (2006) por meio de microscopia eletrônica de varredura, mostraram que a parede, membrana e organelas celulares do fungo *Aspergillus niger* mostravam graves danos quando exposto a concentrações mínimas inibitórias dos óleos essenciais de *Thymus eriocalyx*. Apresentando ainda, alterações morfológicas nas hifas, interrupção e destruição das membranas plasmáticas e mitocondriais. Avaliando o efeito do óleo essencial de cravo-da-Índia sobre as hifas de *Rhizoctonia solani*, Costa et al. (2011) observaram diferentes alterações morfológicas, tais como a presença de vacúolos, desorganização dos conteúdos celulares, diminuição na nitidez da parede celular, intensa fragmentação e menor turgência das hifas.

As Tabelas 9 e 10 exibem os resultados encontrados na avaliação do crescimento micelial de fungos do gênero *Aspergillus* quando submetidos ao contato com os óleos essenciais de capim limão e citronela, respectivamente. Os resultados obtidos neste ensaio foram semelhantes aos encontrados anteriormente, quando testados os óleos essenciais em colônias de *Penicillium* sp.

Tabela 9- Crescimento micelial (cm) de *Aspergillus* sp. submetido a diferentes concentrações de óleo essencial de capim limão (CP), detergente tween e testemunha, do terceiro ao sétimo dia de avaliação.

Crescimento micelial (cm) de <i>Aspergillus</i> sp./dias de avaliação					
Tratamentos	3	4	5	6	7
Sem tratamento (BDA+H ₂ O)	2,47 B	3,73 C	4,20 C	4,90 C	5,47 C
Tween 80 (BDA+Tween)	2,48 B	3,17 C	3,93 C	4,72 C	5,42 C
CP (0,25 %)	0,57 A	1,75 B	2,57 B	3,40 B	4,55 B
CP (0,50%)	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
CP (1,00%)	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
Cv%	12,12	8,93	8,86	8,31	8,15

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si (P>0,05) pelo teste de Tukey.

Tabela 10- Crescimento micelial (cm) de *Aspergillus* sp. submetido a diferentes concentrações de óleo essencial de citronela (CT), detergente tween e testemunha, do terceiro ao sétimo dia de avaliação.

Crescimento micelial (cm) de <i>Aspergillus</i> sp./dias de avaliação					
Tratamentos	3	4	5	6	7
Sem tratamento (BDA+H ₂ O)	1,07 B	1,20 B	1,45 B	1,45 B	1,98 B
Tween80 (BDA+Tween)	1,02 B	1,38 C	1,78 C	2,22 C	2,82 C
CT (0,25 %)	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A

CT (0,50%)	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
CT (1,00%)	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A	0,0 A
Cv%	0,86	1,43	2,14	2,15	2,59

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si ($P>0,05$) pelo teste de Tukey.

Conclui-se que a concentração de 0,25%, ocorre a redução do crescimento micelial para os dois óleos testados. Estes resultados indicam que as perspectivas são favoráveis à utilização destes óleos no controle do desenvolvimento de fungos de armazenamento.

O conhecimento e identificação de componentes oriundos do metabolismo secundário de plantas, presentes nos óleos essenciais, vêm apresentando sucesso no controle de doenças de plantas e sementes. Dessa forma, este conhecimento torna-se uma ferramenta importante para a indústria de produtos defensivos naturais. Com o desenvolvimento da agricultura orgânica e o aumento das exigências deste setor, os óleos essenciais surgem como possibilidade de manejo de doenças de plantas.

Os ensaios realizados com o óleo de nim, também indicaram redução significativa no crescimento micelial dos fungos testados, no entanto, como trata-se de um óleo vegetal, as concentrações utilizadas foram maiores. Estes resultados foram obtidos quando utilizado o óleo de nim a partir da concentração de 4%.

Estudos realizados por Arroteia et al. (2007) avaliaram o efeito do óleo de nim em *Penicillium expansum*, responsável pela produção de uma micotoxina, a Patulina. Esta micotoxina afeta a produção de maçãs, e os ensaios apontaram resultados satisfatórios no controle desta micotoxina causada pelo fungo. O óleo de nim produzido das sementes da planta foi testado nas concentrações de 0,125; 0,25; 0,5; 1, 2 e 5% v/v. Os resultados apontaram que o óleo de nim diminuiu acentuadamente a produção de patulina, inclusive em concentrações inferiores a 0,5%.

Medeiros et al. (2007) avaliando o efeitos antifúngicos *in vitro* de alguns produtos como gasolina, formol, querosene e óleo de nim, em colônias de *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., obtiveram como resultado satisfatório, a utilização do óleo de nim. O óleo de nim foi eficiente na redução do diâmetro das colônias dos dois fungos testados quando utilizadas as concentrações de 12,5% e 25% v/v.

As tabelas 11 e 12 demonstram os resultados obtidos em ensaios avaliando o efeito antifúngico do óleo de nim em colônias de *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. Os resultados indicam maior potencial antifúngico do óleo de nim quando testado nestes fungos, no entanto, os efeitos surgiram quando a concentração foi testada a partir de 4% v/v.

Tabela 11- Crescimento micelial (cm) de *Penicillium* sp. submetido a diferentes concentrações de óleo vegetal de nim (N), tween e testemunha, do terceiro ao sétimo dia de avaliação.

Crescimento micelial (cm) de <i>Penicillium</i> sp./dias de avaliação					
Tratamentos	3	4	5	6	7
Sem tratamento (BDA+H ₂ O)	0,92 B	1,38 B	2,04 C	2,39 D	5,75 D
Tween 80 (BDA+Tween)	0,90 B	1,39 B	2,03 C	2,40 D	5,81 C
N (0,5%)	0,84 B	1,35 B	1,47 B	2,28 C	4,90 B
N (1,0%)	0,81 B	1,33 B	1,47 B	2,27 C	4,71 B
N (2,0%)	0,81 B	1,36 B	1,40 B	2,04 C	4,68 B
N (3,0%)	0,841 B	1,33 B	1,39 B	1,83 B	4,68 B
N (4,0%)	0,71 A	1,23 A	1,16 A	1,61 A	4,38 A
N (5,0%)	0,70 A	1,21 A	1,16 A	1,58 A	4,31 A
N (6,0%)	0,69 A	1,17 A	1,18 A	1,50 A	4,32 A
Cv%	9,59	8,57	9,31	9,30	5,87

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si ($P>0,05$) pelo teste de Tukey.

Tabela 12- Crescimento micelial (cm) de *Aspergillus* sp. submetido a diferentes concentrações de óleo de nim (N), tween e testemunha, do terceiro ao sétimo dia de avaliação.

Crescimento micelial (cm) de <i>Aspergillus</i> sp./dias de avaliação					
Tratamentos	3	4	5	6	7
Sem tratamento (BDA+H ₂ O)	0,92 B	1,37 B	2,05 C	2,84 D	5,74 D
Tween 80 (BDA+Tween)	0,92 B	1,39 B	1,46 B	2,46 D	5,87 C
N (0,5%)	0,84 B	1,33 B	1,46 B	2,27 C	4,89 B

N (1,0%)	0,83 B	1,33 B	1,46 B	2,04 C	4,90 B
N (2,0%)	0,82 B	1,33 B	1,41 B	1,84 B	4,71 B
N (3,0%)	0,81 B	1,39 B	1,39 B	1,81 B	4,48 B
N (4,0%)	0,71 A	1,23 A	1,31 B	1,58 A	4,38 A
N (5,0%)	0,71 A	1,23 A	1,16 A	1,58 A	4,40 A
N (6,0%)	0,72 A	1,16 A	1,16 A	1,51 A	4,32 A
Cv%	9,66	11,31	9,32	9,30	5,80

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si ($P>0,05$) pelo teste de Tukey.

O nim apresenta um grande número de compostos biologicamente ativos. A pesquisa envolvendo a planta de nim está ganhando maiores proporções, principalmente porque os seus princípios ativos desempenham um papel importante no manejo integrado de sistemas e na medicina alternativa (SILVA et al., 2014). De acordo com estudos feitos por Quintela e Pinheiro (2004) o nim possui mais de 135 compostos. Os principais compostos biologicamente ativos são azadiractina, meliantriol, limoneno, odoratone e outros triterpenoides. A azadiractina, que é considerada o mais potente dos limonoides ou tetranortriterpenoides presentes no nim.

Essas propriedades da planta, garantem sua eficácia no controle de insetos e microorganismos. E além disso, os produtos obtidos a partir no nim, se mostram seletivos e não mutagênicos, apresentando baixa toxicidade para organismos não-alvo, causando distúrbios mínimos ao ecossistema (MOSSINI, 2006). Os compostos extraídos do nim apresentam também baixo efeito residual e menor risco de intoxicação para mamíferos e aves (SILVA et al., 2014).

5.5 Efeitos do uso de óleos em insetos-pragas de armazenamento

De acordo com os resultados obtidos, a avaliação realizada 24 horas após a montagem do experimento não apresentou diferença significativa da sobrevivência entre os tratamentos. No entanto, ao observar os efeitos após 48 horas, o óleo essencial de citronela apresentou efeito na redução da sobrevivência dos insetos diferindo do tratamento controle e dos tratamento com óleo essencial de capim limão e com óleo de nim. Ao avaliar cada tratamento em função do tempo (24, 48 e 72 horas), observa-se que não houve diferença significativa em relação à sobrevivência dos insetos (Tabela 13.)

Para a avaliação da oviposição, em todos os tratamentos analisados, ocorreu a oviposição aos sete e dez dias após a montagem dos testes. Estes resultados indicam que os tratamentos com os óleos essenciais de capim limão, citronela e o óleo essencial de nim, utilizado conforme metodologia mencionada anteriormente, não afetaram a capacidade de oviposição.

Tabela 13- Número de adultos sobreviventes de *Acanthoscelides obtectus* (Say) submetidos aos tratamentos óleo essencial de capim limão (0,5%), óleo essencial de citronela (0,5%), óleo de nim (4%) e controle, em sementes de feijão-vagem, cultivar Alessa.

Tempo (horas)	Sem tratamento	Capim Limão	Nim	Citronela
24 h	10,0 aA	10,0 aA	9.8 aA	8.8 aA
48 h	9,6 bA	9.6 bA	9.4 abA	7.8 aA
72 h	9 ,0 abA	9.4 bA	9.2 bA	7.4 aA

Médias seguidas pela mesma letra minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

Os resultados obtidos neste trabalho evidenciam que as concentrações usadas e a forma de aplicação, não apresentaram resultados efetivos sobre os insetos. A baixa concentração utilizada e a forma de aplicação indireta sobre os insetos, provavelmente está relacionada aos resultados encontrados.

Estes resultados discordam de outros encontrados em trabalhos que avaliaram o efeito da aplicação de óleos essenciais e do óleo de nim em insetos-pragas. Silva et al. (2014) avaliando o efeito do óleo essencial de citronela sobre *Callosobruchus maculatus* em sementes de feijão-caupi, obtiveram 100% mortalidade, na dose de 0,5 % em 48 h após aplicação, nas doses de 3,0 %, 3,5 % não permitiram a oviposição de ovos do caruncho. Portanto, novos estudos devem ser realizados para definição de metodologia adequada, principalmente em relação à concentração e solubilização dos óleos utilizados.

5.6 Efeito do tratamento de sementes com óleos essenciais e vegetal sobre a qualidade fisiológica das sementes e a incidência de fungos o longo de doze meses de armazenamento.

5.6.1 Primeira contagem do teste de germinação

Para a variável primeira contagem do teste de germinação, foram encontradas diferenças significativas para os tratamentos utilizados, para os períodos de armazenamento, mas não houve interação entre eles.

A primeira contagem do teste de germinação é considerado um teste que avalia o potencial de vigor das sementes. Este teste quantifica a porcentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação. Um dos conceitos mais antigos de vigor de sementes está relacionado à velocidade de germinação (AOSA, 2002). E embora os lotes de sementes apresentem porcentagens de germinação semelhantes, frequentemente registram-se diferenças na velocidade de germinação, sugerindo que existem diferenças de vigor entre eles (NAKAGAWA, 1999), sendo mais vigorosas, portanto aquelas sementes com maior velocidade de germinação. Entre os tratamentos utilizados, houve aumento na porcentagem de plântulas

normais na primeira contagem do teste de germinação para todos os óleos testados. No entanto, o melhor resultado encontrado foi utilizando o óleo essencial de capim-limão, apresentando um percentual de 82% de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação (Tabela 14).

Tabela 14- Primeira contagem da germinação (% de plântulas normais), das sementes de feijão vagem Alessa, e tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, Captan, detergente tween e testemunha

Tratamento	Plântulas normais (%)
Sem tratamento	66 D
Tween 80%	67 CD
Fungicida Captan	82 A
Capim-limão (0,5%)	82 A
Nim (4%)	74 BC
Citronela (0,5%)	77 AB

Médias seguidas das mesmas letras não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

Ao avaliar o efeito isolado do período de armazenamento em função da primeira contagem do teste de germinação, é possível observar que houve decréscimo no vigor das sementes ao longo do período de armazenamento (Figura 7). Esta queda na porcentagem de plântulas normais na primeira contagem da germinação é esperada ao longo do armazenamento. Alterações bioquímicas e fisiológicas estão envolvidas no processo de deterioração das sementes, e uma das manifestações deste evento é a diminuição do percentual de plântulas normais, e conseqüentemente de germinação (KRYZANOWSKI e FRANÇA NETO, 2010).

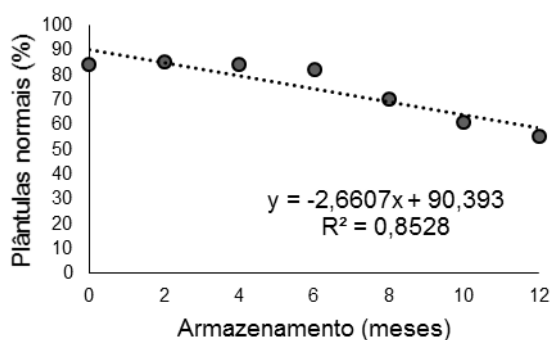


Figura 7- Dados médios da porcentagem de plântulas (%) normais na primeira contagem da germinação em sementes de feijão-vagem, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente Tween e sem tratamento durante o período de armazenamento.

5.6.2 Germinação (%)

Para a variável germinação, houve diferença significativa para os tratamentos, para o tempo de armazenamento, mas não houve interação entre estes fatores. A avaliação das sementes de feijão-vagem produzidas sob manejo orgânico, apresentou redução na porcentagem de germinação ao longo dos doze meses de armazenamento (Figura 8). Constatase que apesar do descréscimo na porcentagem de germinação ao longo do armazenamento, no décimo mês de avaliação, a porcentagem de germinação era de 80%. Este valor, é considerado a porcentagem mínima exigida por legislação pelo Ministério da Agricultura para comercialização de sementes de feijão (BRASIL, 2005).

Ao final dos doze meses de armazenamento, observa-se a redução deste valor para 76%. É importante ressaltar que o processo de deterioração das sementes armazenadas é inevitável. Porém o armazenamento em ambiente adequado, com menores oscilações de temperatura e umidade relativa do ar, pode diminuir a velocidade de deterioração (ZUCARELLI et al., 2015).

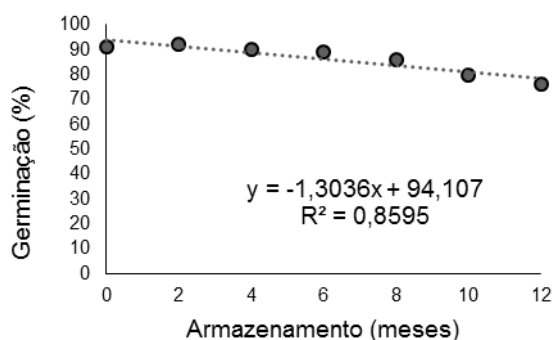


Figura 8- Dados médios da germinação (%) das sementes de feijão-vagem, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente Tween e sem tratamento durante o período de armazenamento.

Para a avaliação dos tratamentos em função da germinação das sementes de feijão-vagem, destaca-se o óleo essencial de capim limão, apresentando maior porcentagem de germinação, com 93% de plântulas normais ao final do teste, seguido do fungicida Captan, com 90% (Tabela 15). Estudos sobre a concentração adequada dos óleos essenciais, são indispensáveis antes de submeter as sementes à esses tratamentos. Diversos estudos científicos demonstraram que concentrações altas dos óleos essenciais podem prejudicar o vigor e a germinação das sementes. Estes efeitos ocorrem devido à propriedades alelopáticas presentes na composição dos constituintes de alguns óleos. Moraes et al. (2008) avaliando o efeito do óleo essencial de capim limão em sementes de milho, concluíram que quando as sementes foram submetidas ao óleo com concentração de 5% v/v, apresentaram redução na germinação apesar de controlar a incidência de *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. Neste estudo, o revestimento das sementes com o óleo essencial de capim-limão com a concentração de 0,5% v/v promoveu o aumento da porcentagem de germinação das sementes de feijão-vagem.

Tabela 15- Germinação (%) das sementes de feijão-vagem Alessa, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween 80 e testemunha.

Tratamento	Germinação (%)
Sem tratamento	81 D
Tween 80%	82 DC
Fungicida Captan	90 BA
Capim-limão (0,5%)	93 A
Nim (4%)	86 CB
Citronela (0,5%)	88 BA

Médias seguidas das mesmas letras não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

Jardinetti et al. (2011) estudaram o efeito de óleos essenciais, entre eles o óleo essencial de capim limão (*C. citratus*), na germinação e incidência de patógenos em sementes de milho. Os resultados apontaram diminuição da incidência de *Fusarium* sp e *Aspergillus* sp., no entanto houve diminuição da porcentagem de germinação das sementes.

No presente estudo, a concentração utilizada foi de 0,5% v/v, o que proporcionou um índice de germinação maior do que nas sementes não tratadas. Este resultado indica que nesta concentração não ocorre fitotoxicidade sobre o crescimento inicial do embrião, ou de intoxicação de tecidos da semente (BEWLEY e BLACK, 1994). O uso do óleo essencial de capim limão também sugere a possível diminuição da incidência de fungos na superfície das sementes, o que proporcionou melhor desempenho da germinação das sementes de feijão-vagem.

5.6.3 Comprimento de plântulas

Para a variável comprimento de plântulas foi encontrada diferença significativa entre os tratamentos, para o tempo de armazenamento e também para a interação entre esses fatores. A avaliação adequada do vigor das sementes é uma prática importante para a produção de sementes (MARCOS FILHO et al., 2017). O teste de comprimento de plântulas apresenta elevada sensibilidade à deterioração. Sendo assim, as diferenças associadas ao desempenho de lotes de sementes durante o armazenamento ou após a semeadura, tem por objetivo evidenciar lotes com maior eficiência para o estabelecimento do estande sob ampla variação das condições ambientais (SILVA et al., 2017).

A avaliação do comprimento médio das plântulas normais é realizado de modo que as amostras que apresentam maiores valores, são consideradas mais vigorosas (NAKAGAWA, 1999). Este fato ocorre pois as sementes mais vigorosas, irão gerar plântulas com maior taxa de crescimento, em função da maior translocação das reservas dos tecidos de armazenamento para o crescimento do eixo embrionário (DAN et al., 2010).

Através da reta apresentada na Figura 9 foi constatado que o comprimento de plântulas decresceu linearmente durante o armazenamento. Este gráfico evidencia a redução do vigor das sementes de feijão-vagem durante o período de armazenamento. Isto é, após doze meses de armazenamento, as sementes apresentaram menor potencial de vigor, exibindo manifestações do processo de deterioração, entre eles, a diminuição da porcentagem de plântulas normais e do comprimento de plântulas.

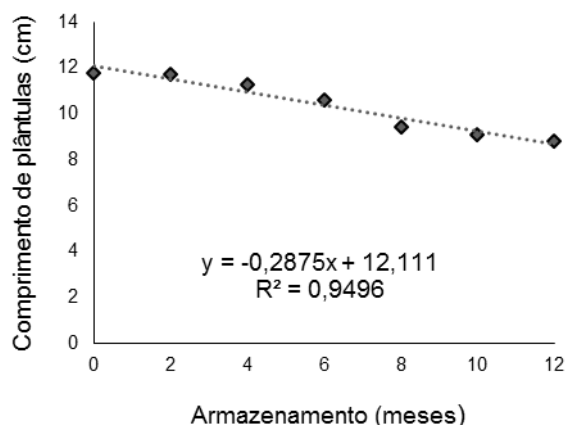


Figura 9- Dados médios do comprimento de plântulas (cm) de feijão-vagem, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente Tween e sem tratamento durante o período de armazenamento.

Na Tabela 16 encontram-se os valores médios de comprimento de plântulas de feijão-vagem em relação aos tratamentos. Estes resultados corroboram com aqueles da primeira contagem do teste de germinação, onde o tratamento com óleo essencial de capim limão apresentou maiores valores. Apesar de não haver diferença significativa entre os óleos utilizados, as sementes tratadas com o óleo essencial de capim limão apresentaram maior comprimento de plântula, principalmente ao serem comparadas à amostra que não sofreu tratamento, fato que deve proporcionar plantas mais vigorosas nos plantios definitivos no campo.

Tabela 16- Comprimento de plântulas (cm) de feijão-vagem Alessa, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween 80 e testemunha.

Tratamento	Comprimento de plântulas (cm)
Sem tratamento	9,59 B
Tween 80%	9,76 B
Fungicida Captan	11,06 A
Capim-limão (0,5%)	10,87 A
Nim (4%)	10,58 A
Citronela (0,5%)	10,62 A

Médias seguidas das mesmas letras não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

A Tabela 17 demonstra que houve diferença significativa para todos os tratamentos nos meses avaliados, com exceção do mês dois e mês dez de armazenamento, onde os tratamentos não diferiram. As sementes tratadas com o óleo essencial de capim limão apresentaram plântulas com maior comprimento aos 0 e 6 meses de armazenamento. As sementes tratadas com óleo essencial de citronela e fungicida Captan também se destacaram, apresentando maiores valores de comprimento de plântulas no sexto, décimo e décimo segundo mês de avaliação.

Tabela 17- Comprimento de plântulas (cm) de feijão-vagem Alessa, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, Captan, Tween e testemunha durante o armazenamento.

Tratamentos	Períodos de armazenamento						
	0	2	4	6	8	10	12
Sem tratamento	10,45C	11,55 A	10,30 B	9,57 B	8,45 B	8,90 A	7,92B
Tween (80%)	10,85 BC	11,00 A	10,55 B	10,05 AB	9,57 AB	8,67 A	7,65 B
Fungicida Captan	12,07 AB	11,77 A	11,75 AB	11,10 A	10,00 A	9,92 A	10,85 A
Capim-limão (0,5%)	12,67 A	12,12 A	11,75 AB	11,47 A	9,60 AB	9,45 A	9,05 B
Nim (4%)	12,17 AB	12,32 A	12,05 A	10,40 AB	9,25 AB	9,15 A	8,72 B
Citronela (0,5%)	12,27 AB	11,55 A	11,37 AB	11,25 A	9,90 AB	9,00 A	9,00 A

Médias seguidas das mesmas letras na coluna não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

A variável comprimento de plântulas apresentou interação significativa entre tempo de armazenamento e tratamentos para todos os tratamentos utilizados. Estes resultados podem ser visualizados conforme as equações de regressão demonstradas nas figuras referentes a cada tratamento utilizado. As análises de variância encontram-se em anexo. Conforme observado nos gráficos, o comprimento de plântulas decresceu ao longo dos doze meses armazenados.

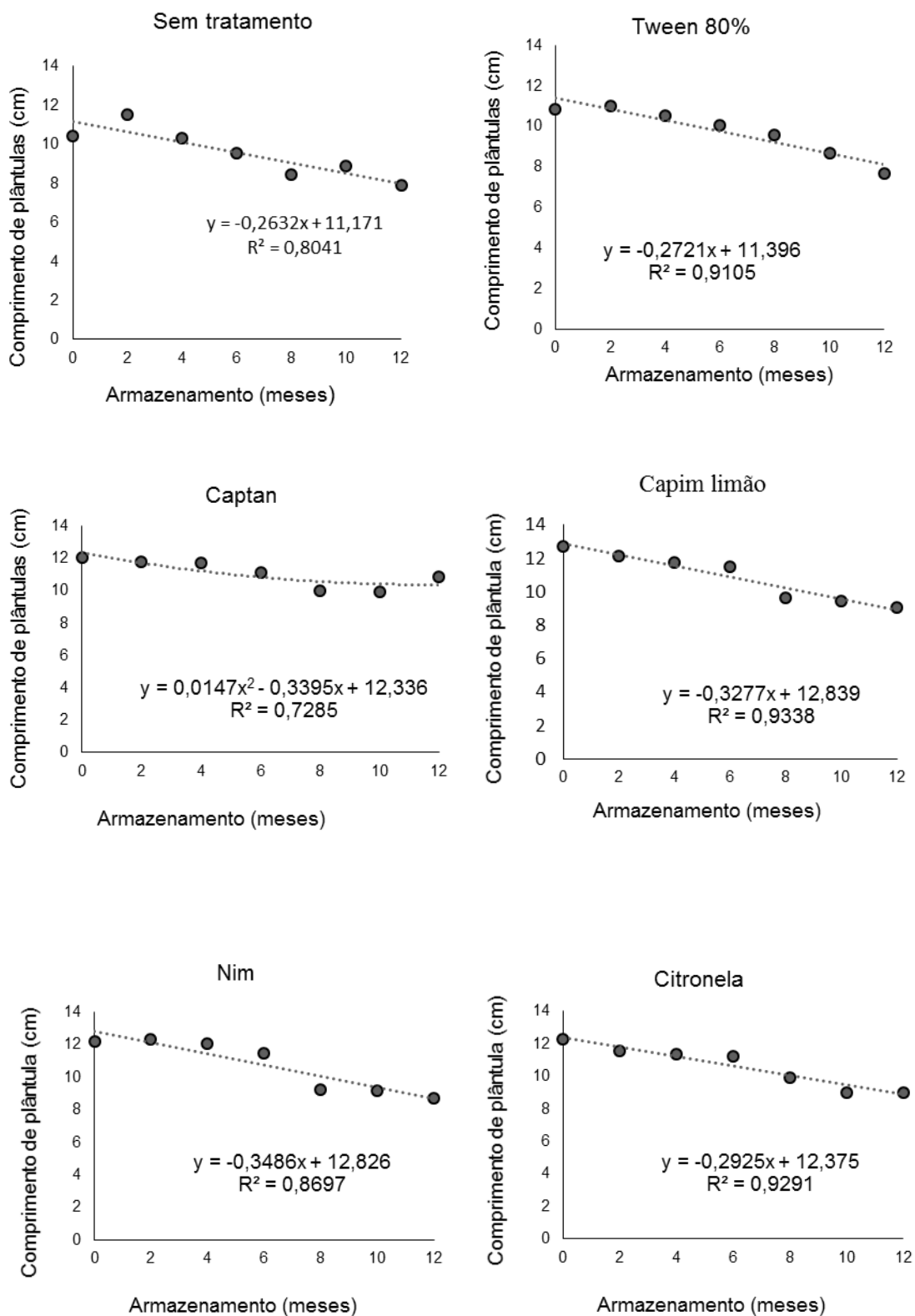


Figura 10- Comprimento de plântulas (cm) de feijão-vagem em sementes submetidas aos tratamentos com óleos essenciais de citronela, capim limão, óleo vegetal de nim, tween 80%, fungicida Captan e sem tratamento durante o armazenamento.

5.6.4 Massa seca de plântulas (g/plântulas)

Para a variável massa seca de plântulas, foram encontradas diferenças significativas para o tempo de armazenamento e para os tratamentos. Não ocorreu interação entre os fatores. Considera-se o teste de massa seca, um teste que avalia o vigor das plântulas. Os testes de vigor são auxiliares ao teste de germinação na avaliação da qualidade fisiológica de sementes.

A análise do vigor de plântulas pode ser mensurada também por meio de duas grandezas físicas, o comprimento e a massa seca. Ambas impossibilitam a subjetividade do analista na inferência dos resultados. No entanto, de acordo com a (AOSA, 2002) as informações obtidas nos testes de vigor de lotes de sementes devem ser interpretadas levando-se em consideração, além do comprimento de plântula ou parte dela, também o percentual de germinação. Isto se deve ao fato que alguns lotes podem apresentar germinação maior, cujas plântulas são de tamanho menor e vice-versa (GUEDES et al., 2009).

De acordo com a figura 11 é possível observar o decréscimo linear de massa seca de plântulas ao longo do período de armazenamento. Esta variável está correlacionada ao comprimento de plântulas neste experimento. Quanto mais vigorosa é amostra de sementes, consequentemente ela apresentará maiores valores de comprimento e de massa seca. No entanto, ao fim do período de doze meses de armazenamento, estes valores apresentaram redução significativa, indicando o processo de deterioração nas sementes.

O processo de deterioração se manifesta principalmente através mudanças de ordem bioquímica e consequentemente fisiológicas, causando desorganização no sistema de membranas das células. Estas alterações degenerativas nas membranas celulares estão associadas ao processo de deterioração, pois se considera que a falta de integridade das membranas acarreta na lixiviação de solutos orgânicos e inorgânicos que diminuem a eficiência metabólica (MARCOS FILHO, 2017).

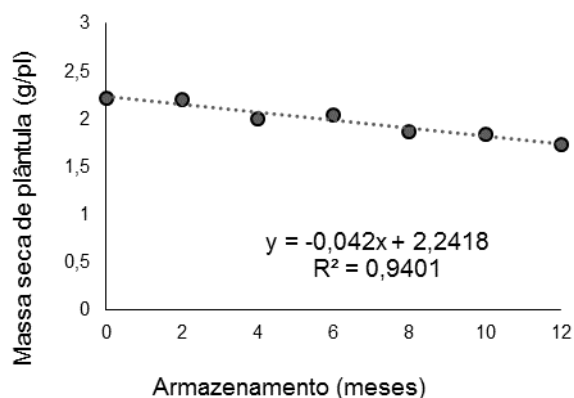


Figura 11- Dados médios de massa seca de plântulas (g) de feijão-vagem tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente Tween e sem tratamento durante o período de armazenamento.

De acordo com a Tabela 18, entre os tratamentos avaliados, o fungicida Captan e o óleo essencial de capim-limão apresentaram maiores valores para a variável massa seca (g). Através deste resultado, em conjunto aos outros testes de vigor realizados, infere-se o destaque do óleo

essencial de capim limão no tratamento e preservação da qualidade fisiológica de sementes de feijão-vagem.

Tabela 18- Peso de massa seca (g/plântula) das plântulas de feijão-vagem Alessa, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida, Captan, Tween 80 e testemunha.

Tratamento	Peso de Massa seca (g/plântula)
Sem tratamento	1,89 C
Tween 80%	1,91 CB
Fungicida Captan	2,22 A
Capim-limão (0,5%)	2,06 B
Nim (4%)	1,95 CB
Citronela (0,5%)	1,94 CB

Médias seguidas das mesmas letras não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

5.6.5 Infestação por insetos (%)

Para a variável infestação por insetos (%) houve diferença significativa apenas entre os tratamentos avaliados. O período de armazenamento não influenciou na infestação por insetos. Os tratamentos com os óleos essenciais de capim limão, citronela e o óleo vegetal de nim, seguido do fungicida Captan diferiram das sementes que não sofreram tratamento e também do controle adicional, o detergente tween 80% (Tabela 19). Apesar de não apresentar diferença significativa entre os óleos utilizados, os resultados obtidos indicam que a infestação por insetos apontou menor percentual com o uso do óleo de Nim (Tabela 19).

O Nim é uma planta com propriedades inseticidas conhecidas e amplamente divulgada pela ciência. Diversos produtos como extrato de folhas, torta e óleo da semente são utilizados principalmente como inseticidas naturais. A substância mais encontrada na planta é a Azadiractina, que atua no combate aos insetos. A Azadiractina em pequenas quantidades, reduz a alimentação, retarda a ecdise e causa a mortalidade de larvas, pupas e pode ser capaz de esterilizar adultos de diversas espécies de lepidópteros (VIANNA et al., 2006).

Tabela 19- Infestação por insetos (%) em sementes de feijão-vagem Alessa, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, Captan, Tween 80 e testemunha.

Tratamento	Infestação por insetos (%)
Sem tratamento	0,95 B
Tween 80%	0,92 B
Fungicida Captan	0,72 A
Capim-limão (0,5%)	0,72 A
Nim (4%)	0,70 A
Citronela (0,5%)	0,74 A

Médias seguidas das mesmas letras não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

5.6.6 Teor de água (%)

A avaliação do teor de água apresentou diferença significativa apenas para os tratamentos. Não houve acréscimo ou decréscimo do teor de água ao longo do período de armazenamento. As sementes foram submetidas aos tratamentos e acondicionadas em garrafas PET (polietileno tereftalato), um poliéster termoplástico. Este material é muito usado por pequenos agricultores no acondicionamento de sementes para o armazenamento.

Este material dificulta as trocas gasosas entre as sementes e o ambiente, impedindo as variações no teor de água das sementes. Apesar das diferenças significativas entre os tratamentos, o percentual do teor de água das sementes variou entre 10 e 11% (Tabela 20). O teor de água é um fator fundamental para a preservação da qualidade das sementes. Para feijão, o teor de água adequado para o armazenamento de sementes é abaixo de 12%. Sementes armazenadas com teores de água acima deste percentual apresentam vulnerabilidade ao ataque de insetos e patógenos. O elevado teor de água das sementes associado à alta umidade do ar e temperatura ambiente aceleram o processo de deterioração das sementes. A micoflora fúngica em armazenamento é altamente dependente do teor de água das sementes, entre os principais fungos de armazenamento estão os pertencentes aos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* (BRAGANTINI, 2005).

Tabela 20- Teor de água (%) em sementes de feijão-vagem Alessa, tratadas com óleo essencial de capim-limão, citronela, óleo vegetal de nim, Captan, Tween 80 e testemunha.

Tratamento	Teor de água (%)
Sem tratamento	11,23 A
Tween 80%	10,90 BC
Fungicida Captan	10,85 C

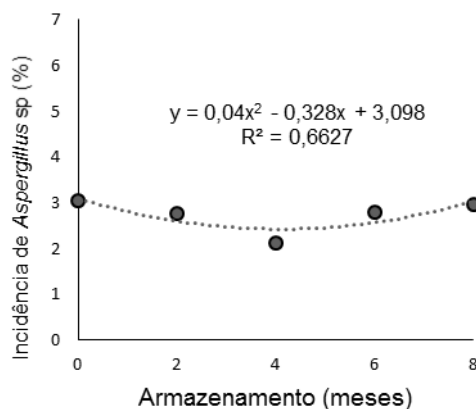
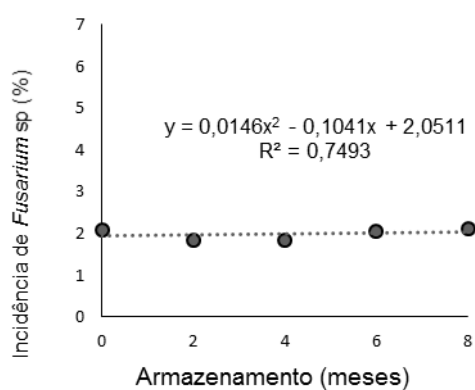
Capim-limão (0,5%)	10,99 ABC
Nim (4%)	11,13 AB
Citronela (0,5%)	10,90 BC

Médias seguidas das mesmas letras não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

5.7 Avaliação da qualidade sanitária das sementes de feijão-vagem ao longo do armazenamento

De acordo com os resultados obtidos através do Blotter test, observou-se a maior incidência de fungos dos gêneros *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium*. As avaliações demonstraram que para *Fusarium* sp. houve diferença significativa para o fator tratamentos, para os períodos de armazenamento e para a interação entre os fatores. Ou seja, os tratamentos apresentaram diferenças significativas em todos os períodos de avaliação. A avaliação dos períodos de armazenamento dentro de tratamentos também foi significativa para todos os tratamentos com exceção do óleo vegetal de nim. As equações de regressão foram representadas nos gráficos.

Para fungos do gênero *Aspergillus*, *Penicillium*, e *Cladosporium*, os resultados foram semelhantes, ou seja, houve diferença significativa entre os tratamentos, para o período de armazenamento (Figura 12) e ainda houve interação entre os fatores.



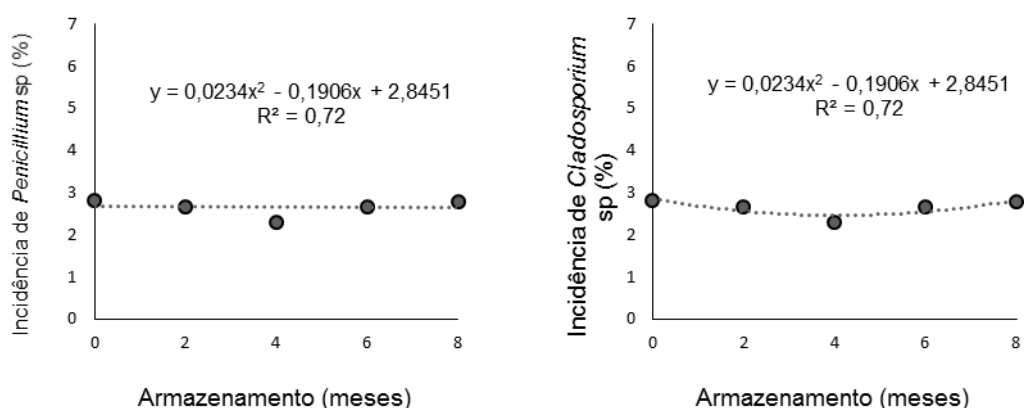


Figura 12- Dados médios da incidência de *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Cladosporium* sp. em sementes de feijão-vagem tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente Tween e sem tratamento durante o período de armazenamento.

De acordo com os resultados (Tabela 21), observa-se que houve maior incidência de fungos do gênero *Fusarium*, quando não foi utilizado nenhum tipo de tratamento. O fungicida Captan apresentou os menores índices de incidência do fungo. Os óleos se comportaram de maneira semelhante. Apesar de não haver diferença significativa entre eles, o óleo essencial de capim limão e o óleo vegetal de nim exibiram menores porcentagens de incidência de *Fusarium* sp.

Tabela 21- Incidência de *Fusarium* sp. (%) em sementes de feijão-vagem Alessa, submetidas aos tratamentos com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween e testemunha.

Tratamento	<i>Fusarium</i> sp (%)
Sem tratamento	3,59 D
Tween 80%	3,23 D
Capim limão (0,5%)	1,35 B
Citronela (0,5%)	1,49 B
Nim (4%)	1,35 B
Fungicida Captan	0,95 A

Médias seguidas das mesmas letras não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

A Tabela 22 apresenta a incidência do fungo em função dos tratamentos no período avaliado. Observa-se que para todos os tratamentos, houve diferença significativa em todos os

meses. Ao observar a tabela 22, conclui-se que os maiores percentuais de incidência de *Fusarium* sp. encontram-se nas amostras que não receberam tratamento.

Tabela 22- Incidência de *Fusarium* sp. (%) em sementes de feijão-vagem Alessa, submetidas aos tratamentos com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween 80 e testemunha durante o armazenamento.

Tratamentos	Períodos de armazenamento (meses)				
	0	2	4	6	8
Sem tratamento	3,41 D	3,39 D	2,91 D	3,93 D	4,30 D
Tween (80%)	3,82 D	2,59 C	2,87 D	3,31 C	3,56 C
Capim limão (0,5%)	1,58 BC	1,58 B	1,40 AB	0,96 A	1,09 AB
Citronela (0,5%)	1,80 C	1,31 AB	1,58 C	1,27 AB	1,49 B
Nim (4%)	1,22 AB	1,31 AB	1,40 AB	1,54 B	1,27 AB
Fungicida Captan	0,70 A	0,83 A	0,96 A	1,27 AB	0,96 A

Médias seguidas das mesmas letras na coluna não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

Para a avaliação de *Fusarium* sp., a interação entre períodos de armazenamento dentro de tratamentos foi significativa para todos os tratamentos, com exceção do óleo de nim. De acordo com as figuras abaixo, observa-se que as sementes sem tratamento e as sementes tratadas com detergente tween, apresentam curvas de característica polinomial de segunda ordem. À medida que avança o período de armazenamento, aumentam as incidências de *Fusarium* sp. Ao avaliar a figura que representa o óleo essencial de capim limão, é possível concluir que a incidência de *Fusarium* sp. reduziu linearmente, com coeficiente de determinação de 0,78.

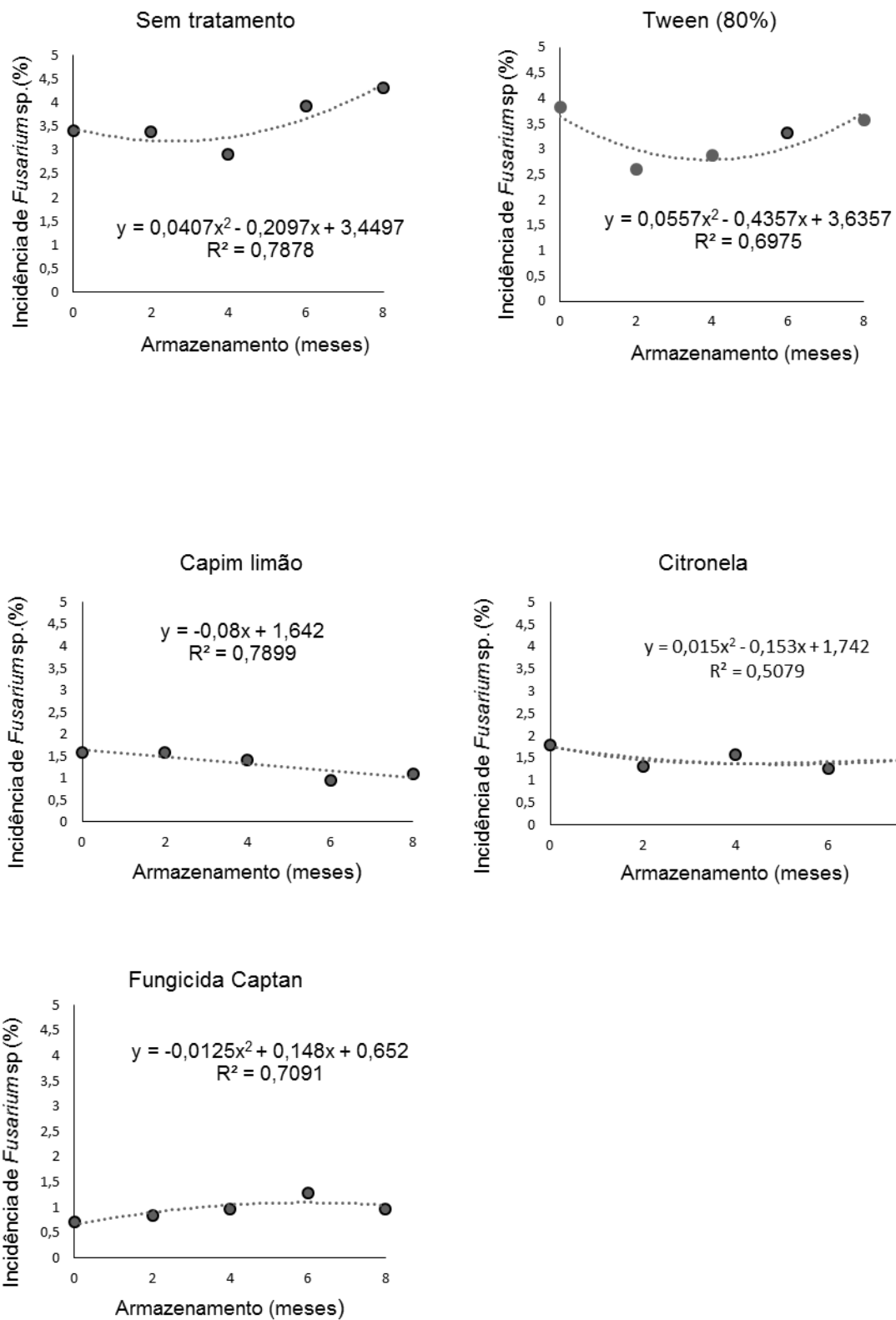


Figura 13-Incidência de *Fusarium* sp. em sementes de feijão-vagem tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, fungicida Captan, detergente Tween e sem tratamento durante o período de armazenamento.

A tabela 23 exibe os resultados da incidência de *Aspergillus* sp. em relação aos tratamentos utilizados. A maior incidência do fungo foi na amostra de sementes sem tratamento. Para este fungo avaliado, observa-se que o fungicida Captan foi o que se destacou, apresentando menor percentual de incidência de *Aspergillus* sp. Entre os óleos avaliados, o óleo essencial de capim limão foi o óleo que exibiu menor incidência.

Tabela 23- Incidência de *Aspergillus* sp. (%) em sementes de feijão-vagem Alessa, submetidas aos tratamentos com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente Tween 80 e testemunha.

Tratamento	<i>Aspergillus</i> sp. (%)
Sem tratamento	4,98 E
Tween 80%	4,63 D
Capim limão (0,5%)	1,74 B
Citronela (0,5%)	2,13 C
Nim (4%)	2,09 C
Fungicida Captan	0,91 A

Médias seguidas das mesmas letras não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

De acordo com os resultados (Tabela 24), observa-se que houve diferença significativa entre os tratamentos em todos os meses. Os tratamentos com fungicida Captan seguido do óleo essencial de capim limão destacaram-se, com menor incidência do fungo avaliado. Para as sementes sem tratamento, verifica-se o aumento da incidência de *Aspergillus* sp. de acordo com o avanço do período de armazenamento.

O capim limão, pertencente a família Poaceae, apresenta monoterpenóides em sua composição. Os monoterpenóides geraniol e citral podem ser considerados como componentes majoritários desta espécie. É possível que a ação fungicida observada esteja relacionada à estes constituintes químicos.

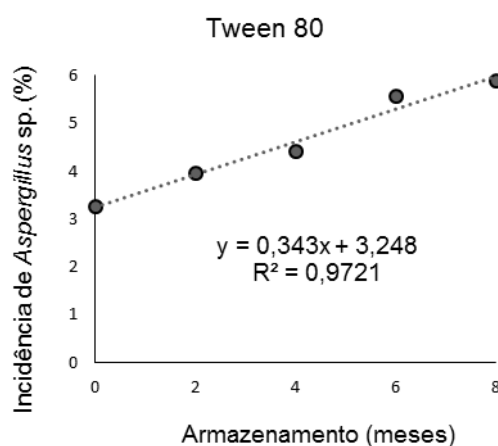
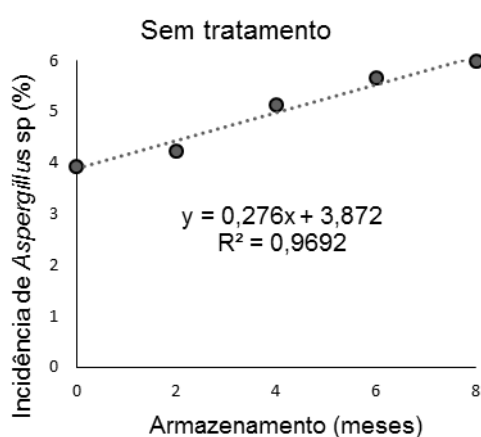
Tabela 24- Incidência de *Aspergillus* sp. (%) em sementes de feijão-vagem Alessa, submetidas aos tratamentos com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, tween 80 e testemunha durante o armazenamento.

Tratamentos	Períodos de armazenamento (meses)				
	0	2	4	6	8
Sem tratamento	3,93 E	4,21 E	5,12 E	5,65 E	5,97 E

Tween (80%)	3,27 C	3,96 E	4,40 D	5,58 E	5,89 E
Capim limão (0,5%)	2,82 B	2,17 B	1,09 C	1,40 C	1,22 C
Citronela (0,5%)	3,60 D	2,87 D	0,70 B	1,58 C	1,93 D
Nim (4%)	3,27 C	2,49 C	0,70 B	1,87 D	2,12 D
Fungicida Captan	1,49 A	0,96 A	0,70 B	0,70 B	0,70 B

Médias seguidas das mesmas letras na coluna não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

Para a avaliação de *Aspergillus* sp. a interação entre períodos de armazenamento dentro de tratamentos foi significativa para todos os tratamentos. Abaixo seguem os gráficos com as equações de regressão. O efeito do armazenamento foi semelhante para a amostra de sementes sem tratamento e para o tween 80%, ou seja, houve aumento linear da incidência de *Aspergillus* sp. ao longo dos meses. De acordo com a figura 14, todos os óleos testados diminuiram a incidência de *Aspergillus* sp. No entanto, destacaram-se os fungicidas Captan e o óleo essencial de capim limão, onde os gráficos exibem a redução da incidência de *Aspergillus* sp. funções linear e quadrática, com coeficientes de determinação de 0,71 e 0,90 respectivamente.



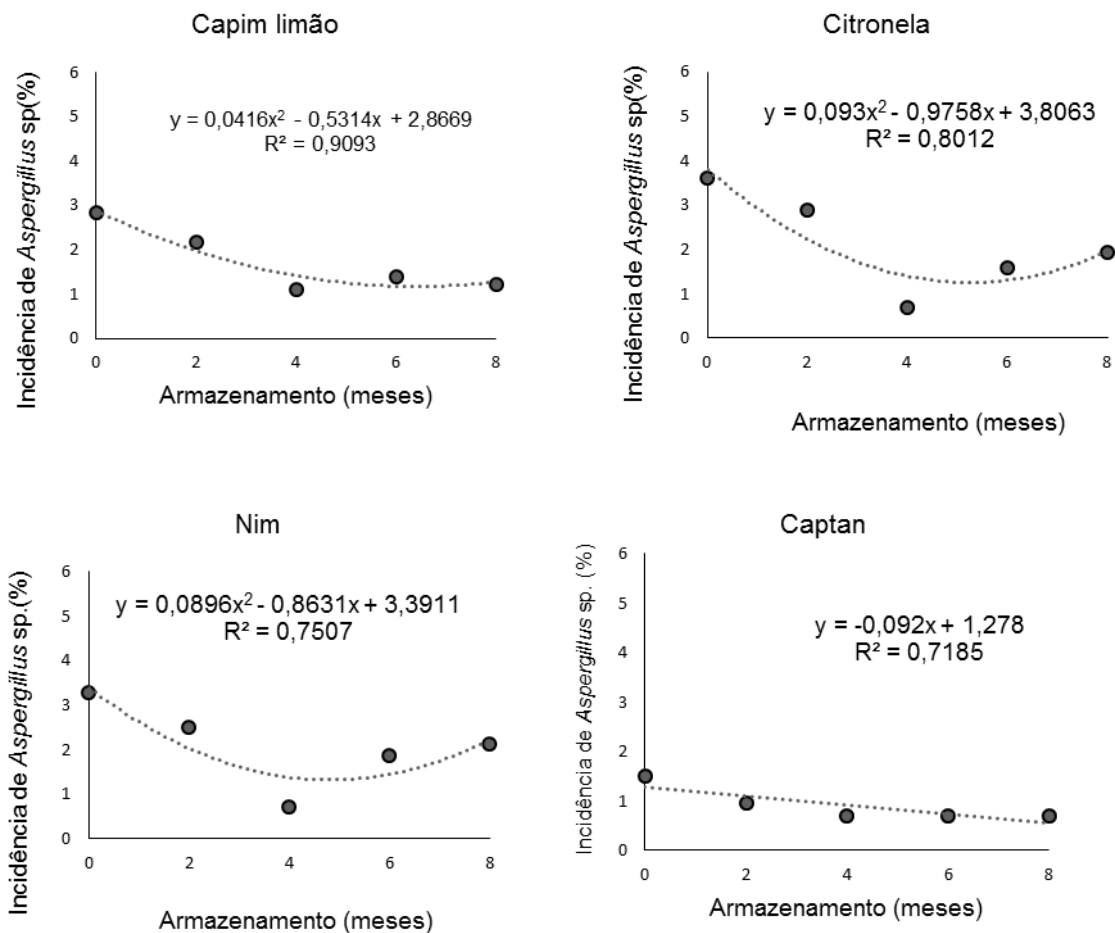


Figura 14- Incidência de *Aspergillus* sp. em sementes de feijão-vagem tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente Tween e sem tratamento durante o período de armazenamento.

A Tabela 25 apresenta os resultados do fator tratamento isolado, para a avaliação de fungos do gênero *Penicillium*. Houve diferença significativa entre os tratamentos. O fungicida Captan foi o tratamento que apresentou maior redução da incidência de *Penicillium* sp., seguido do óleo essencial de capim limão. Os resultados demonstraram um potencial fungitóxico satisfatório do capim limão quando comparado à amostra de sementes que não foi submetida à tratamento.

Tabela 25- Incidência de *Penicillium* sp. (%) em sementes de feijão-vagem Alessa, submetidas aos tratamentos com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente Tween 80 e testemunha.

Tratamento	<i>Penicillium</i> sp. (%)
Sem tratamento	5,10 F
Tween 80%	4,85 E
Capim limão (0,5%)	1,38 B
Citronela (0,5%)	1,72 C
Nim (4%)	1,94 D
Fungicida Captan	0,88 F

Médias seguidas das mesmas letras não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

De acordo com a Tabela 26, observa-se que houve diferença significativa entre os tratamentos para todos os meses avaliados. Destaca-se o fungicida Captan, que se mostrou superior aos demais tratamentos em todos os períodos. Os óleos estudados apresentaram redução da incidência do fungo avaliado ao longo do armazenamento. As sementes sem tratamento apresentaram maior porcentagem de incidência de *Penicillium* sp. em todos os meses avaliados.

Tabela 26- Incidência de *Penicillium* sp. (%) em sementes de feijão-vagem Alessa, submetidas aos tratamentos com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente Tween 80 e testemunha durante o armazenamento.

Tratamentos	Períodos de armazenamento (meses)				
	0	2	4	6	8
Sem tratamento	3,84 E	4,27 D	5,31 D	6,10 E	6,04 D
Tween (80%)	3,70 D	4,21 D	4,66 C	5,63 D	5,99 E
Capim limão (0,5%)	1,93 B	2,34 C	0,70 A	0,70 A	1,22 B
Citronela (0,5%)	2,73 C	1,87 B	1,22 B	1,22 B	1,58 C
Nim (4%)	3,49 D	2,34 C	1,09 B	1,58 C	1,22 B

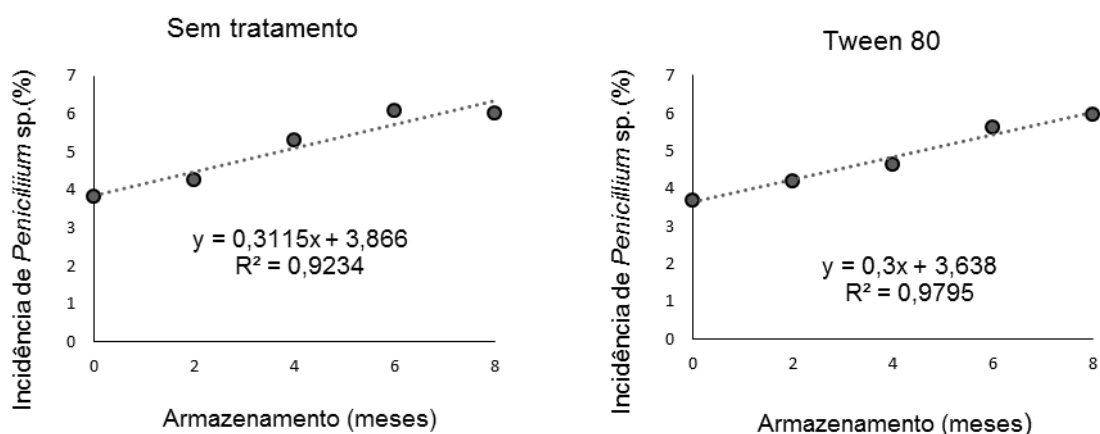
Fungicida	1,22 A	0,96 A	0,83 A	0,70 A	0,70 A
Captan					

Médias seguidas das mesmas letras na coluna não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

Para a avaliação de *Penicillium* sp. a interação entre períodos de armazenamento dentro de tratamentos foi significativa para todos os tratamentos. Abaixo seguem os gráficos com as equações de regressão. De acordo com a Figura 15, a equação linear melhor representou o desempenho das sementes sem tratamento e com o tween 80%. À medida que se prolongavam os meses, aumentava a incidência de fungos do gênero *Penicillium*, considerados fungos de armazenamento.

Todos os óleos avaliados apresentaram potencial redução da incidência de *Penicillium* sp. O fungicida Captan apontou redução da incidência de *penicillium* sp. ao longo do armazenamento. O estudo da regressão indicou a equação de caráter linear e coeficiente de determinação de 0,89 para o fungicida Captan.

A Figura 15, que ilustra a regressão polinomial da incidência de *penicillium* sp. em sementes tratadas com óleo essencial de capim-limão, aponta significância para polinômios de segundo e terceiro grau, com $R^2 = 0,54$ e $R^2 = 0,84$ respectivamente. Neste caso, apesar do polinômio de terceiro grau ter valor significativo pelo teste F, ele apresenta valores que não se explicam dentro do contexto estudado. Dessa forma, optou-se por representar os dados por um polinômio do segundo grau, assim pôde-se estimar o máximo da diminuição da incidência do fungo, que de acordo com a curva polinomial de segundo grau, foi atingido no sexto mês de avaliação.



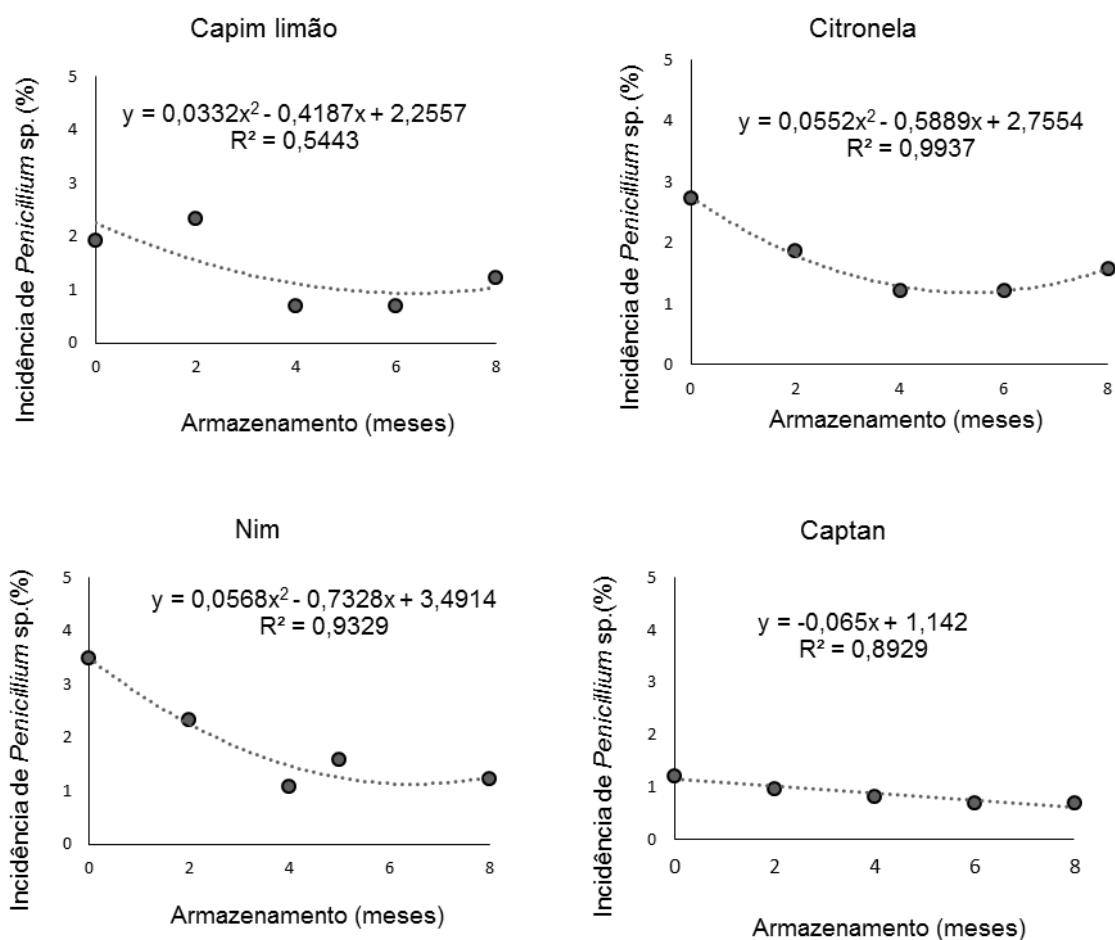


Figura 15- Incidência de *Penicillium* sp. em sementes de feijã-vagem tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente Tween e sem tratamento durante o período de armazenamento.

Para a avaliação de fungos do gênero *Cladosporium* sp., houve diferença significativa entre os tratamentos, para o período de armazenamento e também para a interação entre esses fatores. Observa-se na Tabela 27 o efeito dos tratamentos na incidência de *Cladosporium* sp., sendo o fungicida Captan mais eficiente na redução do referido fungo, seguido do óleo essencial de capim limão. Os resultados foram semelhantes em relação às sementes sem tratamento e com detergente tween 80%, que exibiram maiores percentuais de incidência de fungos quando comparadas àquelas que foram submetidas aos tratamentos.

Tabela 27- Incidência de *Cladosporium* sp. (%) em sementes de feijão-vagem Alessa, tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween 80 e testemunha.

Tratamento	<i>Cladosporium</i> sp. (%)
Sem tratamento	4,10 E
Tween 80%	3,79 D
Capim limão (0,5%)	1,76 B
Citronela (0,5%)	2,09 C
Nim (4%)	1,99 C
Fungicida Captan	1,19 A

Médias seguidas das mesmas letras não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

De acordo com os resultados da Tabela 28, percebe-se a presença do fungo em todos os períodos avaliados. O fungicida Captan foi o tratamento mais eficiente na redução deste tipo de contaminante de sementes. O óleo essencial de capim limão foi o óleo que mais se destacou na redução da incidência de *Cladosporium* sp., houve uma diminuição aos 0, 2, e 8 meses de armazenamento. Neste experimento, é possível que o comportamento deste fungo seja de um contaminante, presente em algum material de montagem do teste, mesmo que as condições de assepsia tenham sido mantidas.

Tabela 28- Incidência de *Cladosporium* sp. (%) em sementes de feijão-vagem Alessa, submetidas aos tratamentos com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente tween 80 e testemunha durante o armazenamento.

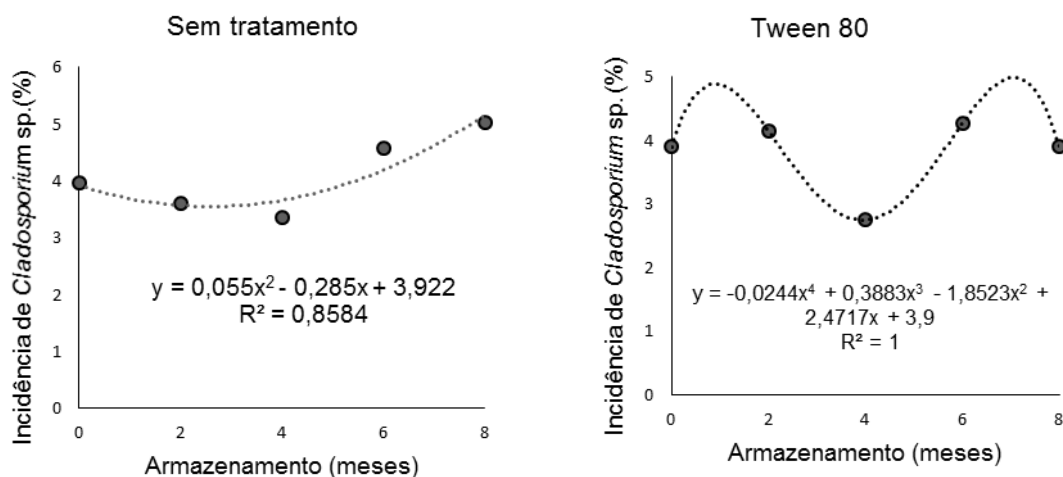
Tratamentos	Períodos de armazenamento (meses)				
	0	2	4	6	8
Sem tratamento	3,96 C	3,60 C	3,35 F	4,58 D	5,02 E
Tween (80%)	3,90 C	4,15 D	2,75 E	4,27 C	3,90 D
Capim limão (0,5%)	3,08 B	0,70 A	1,58 C	1,58 B	1,87 B
Citronela (0,5%)	4,66 D	1,22 B	1,22 B	1,22 A	2,12 C

Nim (4%)	3,20 B	1,22 B	1,87 D	1,58 B	2,12 C
Fungicida Captan	1,87 A	0,70 A	0,70 A	1,09 A	1,58 A

Médias seguidas das mesmas letras na coluna não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

Para a avaliação de *Cladosporium* sp. a interação entre períodos de armazenamento dentro de tratamentos foi significativa para todos os tratamentos. Abaixo seguem os gráficos com as equações de regressão. Através das figuras, conclui-se que a presença de fungos do gênero *Cladosporium* sp. oscilou em todos os períodos de armazenamento para todos os itens avaliados.

A Figura 16, que ilustra a regressão polinomial da incidência de *Cladosporium* sp. em sementes tratadas com Tween 80, aponta significância para polinômio de quarto grau, com $R^2 = 1$. Neste caso, optou-se por deixar o tratamento com Tween 80 representado por esta polinomial de quarto grau. Os resultados indicam que este fungo surgiu no experimento como um contaminante, o que justificaria a oscilação de sua incidência ao longo do período avaliado. O mesmo ocorreu para o tratamento com óleo essencial de capim limão, representado por uma polinomial de terceiro grau. Ambos os casos, Os valores que surgiram nos estudos das regressões são explicados pelo mesmo motivo. As sementes sem tratamento apresentaram curva com característica quadrática de segunda ordem e coeficiente de determinação de 0,85, indicando aumento da incidência conforme o avanço do período de armazenamento.



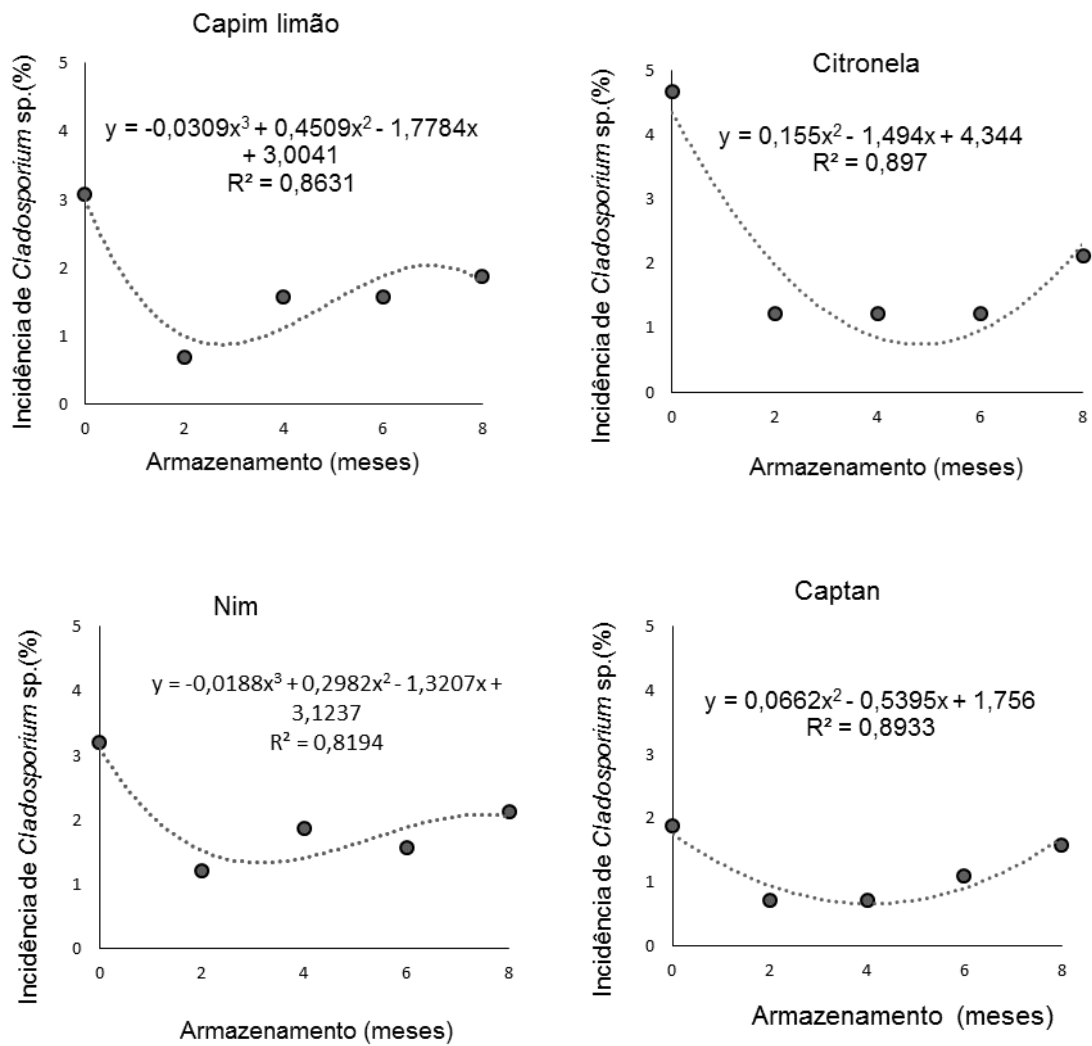


Figura 16- Incidência de *Cladosporium* sp. em sementes de feijã-vagem tratadas com óleo essencial de capim limão, citronela, óleo vegetal de nim, fungicida Captan, detergente Tween e sem tratamento durante o período de armazenamento.

CAPÍTULO II

6 USO DE ZEÍNA NO RECOBRIMENTO E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO-VAGEM

RESUMO

Zeínas são proteínas de reserva do grão de milho, solúveis em solução alcoólica que representam mais de 50% das proteínas totais do grão. Sua extração comercial é feita a partir do glúten de milho, um subproduto do processamento da moagem via úmida utilizada na fabricação do amido de milho. Na peliculização ou recobrimento de sementes, é realizada a deposição de uma camada fina e uniforme de polímero na superfície da semente. O material polimérico pode ser utilizado conjuntamente com o tratamento químico e biológico em quantidade suficiente para recobrir a semente. O uso de polímeros naturais ocasiona um impacto mínimo sobre o meio ambiente. Este procedimento tem sido utilizado com o objetivo de preservar as sementes da ação de patógenos (fungos) presentes tanto na semente como no solo, garantindo assim, a germinação e desenvolvimento das plântulas no campo. Como é matéria orgânica, contribui para atender a crescente demanda por materiais biodegradáveis que não poluam o meio ambiente. E pode ser uma alternativa viável no tratamento de sementes produzidas sob manejo orgânico. Foram realizados dois ensaios. No primeiro, amostras de sementes de feijão vagem foram revestidas por imersão em soluções de zeína em diferentes concentrações (1, 2, 3, 4 e 5 % p/v), até que um filme fosse formado em torno do perímetro das sementes. Após, as sementes foram expostas a temperatura ambiente por 24 horas para a secagem. Avaliou-se a germinação, primeira contagem, comprimento de plântulas, peso de massa seca, infestação por insetos e determinação do teor de água. No segundo ensaio, as sementes foram revestidas com a solução de zeína na concentração de 5% p/v, acondicionadas em garrafas Pet e mantidas a 10°C, e em condições de temperatura e umidade relativa variáveis, em ambiente de laboratório, durante oito meses. Foram realizadas avaliações bimestrais para avaliar a qualidade fisiológica e para a qualidade sanitária, foi realizado o Blotter test. No primeiro ensaio, os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade no programa Sisvar. No segundo ensaio, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições em esquema fatorial (3 tratamentos x 5 períodos de armazenamento), e os efeitos do período de armazenamento foram analisados por meio de regressão. Os dados expressos em porcentagem, para efeitos da análise de variância, foram transformados em raiz ($x+0,5$) a fim de ocorrer a homogeneização das variações. As sementes revestidas com a concentração de 5% e armazenadas em ambiente refrigerado a 10°C preservaram a qualidade fisiológica das sementes ao longo do armazenamento. O revestimento com zeína diminuiu a incidência de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* durante o armazenamento.

Palavras-chave: polímeros naturais, recobrimento, armazenamento.

ABSTRACT

Zeins are corn grain reserve proteins, soluble in alcoholic solution which represent more than 50% of the total grain proteins. Its commercial extraction is made from corn gluten, a by product of wet mill processing used in the manufacture of corn starch. In the film coating or seed coating, the deposition of a thin and uniform layer of polymer is carried out on the surface of the seed. The polymeric material may be used in conjunction with sufficient chemical and biological treatment to coat the seed. The use of natural polymers has minimal impact on the environment. This procedure has been used with the objective of preserving the seeds of pathogens (fungi) present in both the seed and the soil, thus guaranteeing the germination and development of the seedlings in the field. As it is organic matter, it contributes to meet the growing demand for biodegradable materials that do not pollute the environment. And it can be a viable alternative in the treatment of seeds produced under organic cropping. Two tests were performed. In the first, seed pod samples were coated by immersion in zein solutions at different concentrations (1, 2, 3, 4 and 5% w / v) until a film was formed around the perimeter of the seeds. After the seeds were exposed at room temperature for 24 hours for drying. Germination, first count, seedling length, dry mass weight, insect infestation and determination of moisture content were evaluated. In the second assay, the seeds were coated with 5% w / v zein solution, packed in Pet bottles and kept at 10 ° C, and at varying temperature and relative humidity conditions in a laboratory environment for eight Months. Bimonthly evaluations were performed to evaluate the physiological quality and sanitary quality, and the Blotter test was performed. In the first test the data were submitted to analysis of variance by the F test and the means were compared by the Tukey test at the 5% probability level in the Sisvar program. In the second test the completely randomized design was used, with four replications in a factorial scheme (3 treatments x 5 storage periods), and the effects of the storage period were analyzed through regression. The data expressed as a percentage, for the effects of the analysis of variance, were transformed into root ($x + 0.5$) in order to homogenize the variations. Seeds coated at 5% concentration and stored in a refrigerated environment at 10 ° C preserved the physiological quality of the seeds throughout the storage. The zein coating decreased the incidence of fungi of the genus *Aspergillus* and *Penicillium* during storage.

Key words: natural polymers, coating, storage.

6.1 REVISÃO DE LITERATURA

6.1.1 Tratamento e revestimento de sementes com polímeros naturais

É de conhecimento que 90% das culturas destinadas à produção de alimento no mundo, estão sujeitas ao ataque de doenças, cuja maioria dos agentes causais, pode ser transmitida pelas sementes. O uso de sementes certificadas, com qualidade física, fisiológica e sanitária é uma das medidas mais eficientes de controle das doenças disseminadas por sementes (PARISI, 2013). Uma das formas de diminuir a intensiva aplicação de fungicidas no tratamento de sementes, é a utilização de métodos alternativos de controle fitossanitário (CAMPANHOLA e BETTIOL, 2003).

Diante da crescente resistência dos microorganismos patogênicos aos produtos sintéticos, a procura por novos agentes antifúngicos, a partir de plantas, é intensa. Desse modo, a utilização de produtos naturais extraídos de vegetais pode ser uma alternativa para o controle de patógenos associados a sementes, com a vantagem de redução de gastos e ausência de impacto ambiental causado pelos agroquímicos (LAZAROTTO, 2009).

Uma técnica utilizada no tratamento de sementes é o recobrimento ou peliculização, que consiste na deposição de uma camada fina e uniforme de um polímero na superfície da semente. Este tipo de tratamento vêm sendo utilizado com alguns tipos de filmes poliméricos naturais, tais como a zeína, uma proteína extraída do milho, e a quitosa (OLIVEIRA E SOLDI, 2009). Junto ao filme polimérico, podem ser adicionados tratamentos biológicos. Esta técnica está sendo empregada com o objetivo de preservar as sementes da ação de fungos, presentes tanto nas sementes quanto no solo. Além disso, o interesse por sua utilização advém de sua origem, por ser um material biodegradável, e da oportunidade da utilização de matérias primas renováveis, principalmente as derivadas de produtos agrícolas, como no caso da zeína.

Conforme Filho (2009), na cadeia produtiva de alimentos, a utilização de coberturas comestíveis extraídas de proteínas vegetais vem despertando maior interesse dos produtores, comerciantes e consumidores, pois se trata de uma alternativa para a conservação dos alimentos com apelo ecológico e natural. Além das funções de barreira criada para as diversas condições pelas quais os produtos passam durante o armazenamento, as coberturas podem ajudar na proteção contra danos mecânicos, contaminação microbiana e na diminuição de resíduos.

Existe ainda a possibilidade de as coberturas adquirirem importância maior que a epiderme original dos frutos, como, por exemplo, quando as mesmas são enriquecidas com vitaminas, agentes antimicrobianos ou pela natureza de sua composição, como nas coberturas à base de proteínas (KESTER e FENEMMA, 1986; KROCHTA e MULDER-JOHNSTON, 1997). Seguindo a linha de pesquisa de revestimento de alimentos com filmes extraídos de proteínas vegetais, é possível a aplicação dessa metodologia no tratamento de sementes.

De acordo com Oliveira e Soldi (2009) estes filmes poliméricos podem atuar ainda como barreira a elementos externos, como óleos, gases e umidade. No entanto, é importante observar se o recobrimento irá afetar negativamente o processo de germinação e vigor das sementes. Estudos realizados por Almeida (2005) revelaram que sementes de brócolis revestidas por filmes de quitosana não afetou a qualidade fisiológica das sementes.

O uso desses polímeros no tratamento de sementes permite prevenir germinações prematuras, uma vez que impede de certa forma, o contato físico-químico entre o embrião e o ambiente. Filmes poliméricos, com características hidrofóbicas e baseados em proteínas com alto teor de aminoácidos, tem sido avaliados como revestimento em sementes de plantas agronomicamente importantes (SILVA, 2013).

Neste enfoque, a realização de experimentos utilizando a zeína no revestimento de sementes, visando maior período de armazenamento sem perdas na qualidade fisiológica, tornam-se necessários.

6.1.2 Zeína

A zeína é uma proteína do milho encontrada em abundância no endosperma do grão. Por conter alguns níveis de aminoácidos essenciais e apresentar baixo valor nutricional, vem sendo utilizada em formulações para ração animal. Esta proteína é rica em resíduos de aminoácidos apolares, tornando-lhes insolúveis em água e solúveis em solução aquosa de etanol a 70 % (BICUDO et al., 2006; FORATO, 2000).

Em busca de alternativas para sua utilização, resinas poliméricas biodegradáveis têm sido produzidas com base nessa proteína. A produção comercial da zeína é realizada de forma limitada, a partir do glúten do milho, subproduto da moagem úmida. O processo de extração convencional da zeína é feito por solução aquosa de álcool que deve ser removido ao final por evaporação, obtendo-se a fração protéica (FERNANDES et al., 2011).

É muito utilizada para produzir filmes plásticos, flexíveis e transparentes, devido ao seu grau de polimerização duas vezes maior que o necessário para formar polímeros lineares de poliamida/poliésteres e com a adição de ácido oléico. Estes filmes apresentam propriedades que permitem seu uso como cobertura de alimentos in natura (FERNANDES et al., 2011).

Este material formado a partir da zeína é considerado biodegradável por ser composto de proteína e lipídios, o que contribui para atender a crescente demanda por materiais que não poluam o meio ambiente. Além disto, atuam como barreira à umidade e ao oxigênio, fazendo com que os produtos envoltos por eles permaneçam conservados por mais tempo.

O uso da zeína está sendo amplamente estudado em diferentes áreas da ciência, por ser um material oriundo de fonte renovável, biodegradável e de baixo custo. O uso na cobertura de alimentos com filmes à base de zeína visa principalmente a conservação de alimentos pós-colheita. Diante das características dos filmes poliméricos de zeína, esta metodologia de revestimento, surge como uma alternativa para o tratamento de sementes visando maior período de armazenamento sem perdas na qualidade fisiológica dessas.

7 OBJETIVOS

Avaliar o recobrimento de sementes de feijão-vagem com diferentes concentrações de solução de zeína.

Avaliar a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de feijão-vagem revestidas com zeína e armazenadas em ambientes diferentes.

8 MATERIAL E MÉTODOS

8.1 Testes preliminares

A partir de testes preliminares foi definida a metodologia de preparo da solução de zeína, relacionadas à concentração, forma de diluição, temperatura de solidificação e aspectos físicos desta solução pós preparo, como espessura, flexibilidade e manuseio do filme. Os testes preliminares foram importantes para determinar a concentração a ser utilizada, ou seja, que formasse o filme de zeína com capacidade de envolver uniformemente toda a superfície das sementes.

8.2 Preparação da solução e filme de zeína a 5%

Para o tratamento das sementes com o filme de zeína, utilizou-se a solução de zeína a 5% p/v. Materiais utilizados:

Zeína PA (SIGMA) em pó em embalagem de 500g.

Ácido oleico PA (SYNTH) líquido em embalagem de 1 L.

Etanol PA (MERCK) líquido em embalagem de 1L.

Glicerina PA (MERCK) líquida em embalagem de 1 L.

Emulsificante (Emustab) para alimentos em pasta em embalagem de 250g.

A zeína foi solubilizada na proporção de 2,5 g para 50 ml de etanol a 80% à temperatura ambiente. O ácido oleico foi incorporado numa proporção de 3,5g/100g de zeína (w/w), enquanto se agitava (250 rpm) a solução em banho maria a 65°C, conforme descrito por Kleen, Padua, Engeseth (2002). Adicionou-se o emulsificante na proporção de 0,25g/100g de zeína (w/w), e glicerol como agente plastificante coadjuvante na proporção de 1,5g glicerol/100g zeína. Após 10 min, obteve-se uma amostra de solução filmogênica (CORTES, 2015).

8.3 Primeiro ensaio - Tratamento das sementes em diferentes concentrações da solução de zeína.

O lote de sementes de feijão-vagem, cultivar Alessa, utilizado neste experimento foi produzido sob manejo orgânico na Estação Experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro, em Paty do Alferes/Avelar-RJ. Este lote foi colhido em Outubro de 2014.

Amostras de sementes de feijão vagem foram revestidas por imersão das sementes em soluções de zeína e movimentação manual, em diferentes concentrações (1, 2, 3, 4 e 5 % p/v.), até que um filme fosse formado envolvendo as sementes individualizadas, permitindo o seu manuseio e secagem posterior. Após a secagem em temperatura ambiente por 24 horas, foi realizada a avaliação da qualidade fisiológica por meio dos testes de germinação, primeira

contagem, infestação por insetos , determinação do teor de água (BRASIL, 2009), peso de massa seca e comprimento de plântulas (VIEIRA & KRISANOWSKY, 1999), conforme metodologia descrita no Capítulo anterior. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade no programa Sisvar (FERREIRA, 2006).

8.4 Fotos da preparação da solução e filme de zeína a 5% p/v e a aplicação sobre as sementes.

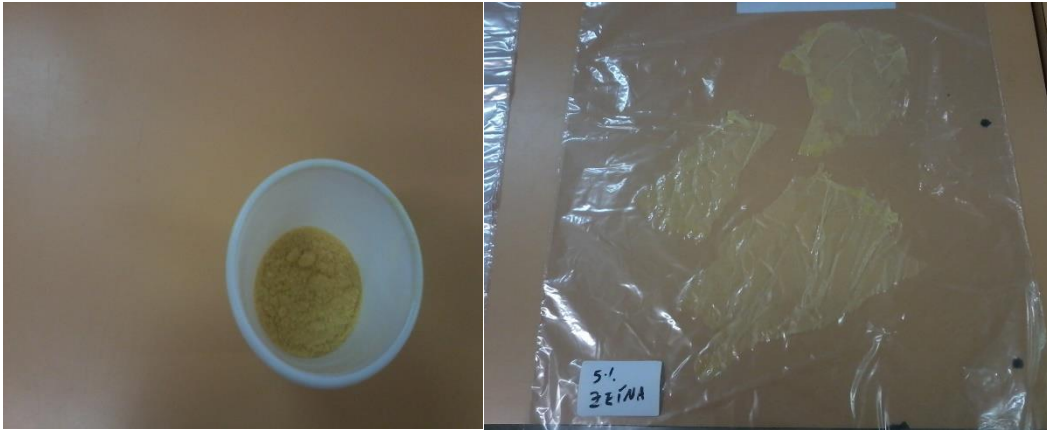


Figura 17- Zeína em pó e o filme de zeína a 5%.



Figura 18- Sementes revestidas com zeína.



Figura 19- Sementes revestidas com zeína.

8.5 Segundo ensaio: tratamento das sementes com zeína a 5% (p/v) e armazenamento em ambientes diferentes durante oito meses.

As sementes foram revestidas com a solução de zeína utilizando a concentração de 5% p/v, conforme metodologia descrita no primeiro ensaio. Após 24 horas, as sementes foram retiradas das placas cuidadosamente, acondicionadas em garrafas Pet e mantidas por oito meses em dois ambientes, a 10°C (refrigerador) e em condições de temperatura e umidade relativa variáveis, em ambiente de laboratório. Foram realizadas avaliações bimestrais da qualidade fisiológica, através dos testes de germinação, primeira contagem, infestação por insetos, determinação do teor de água (BRASIL, 2009), peso de massa seca e comprimento de plântulas (VIEIRA & KRISANOWSKY, 1999). A avaliação da qualidade sanitária foi realizada através do Blotter test (BRASIL, 2009), conforme descrito no capítulo anterior.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições em esquema fatorial (3 tratamentos x 5 períodos de avaliação/referentes a 8 meses de armazenamento). Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de probabilidade de 5 % no programa Sisvar (FERREIRA, 2006). Os efeitos do período de armazenamento foram analisados por meio de regressão. Os dados expressos em porcentagem (incidência de fungos), para efeitos da análise de variância, foram transformados em raiz ($x+0,5$) a fim de ocorrer a homogeneização das variações.

Portanto, os tratamentos realizados foram:

T1- Sementes revestidas com biofilme de zeína (5% p/v) e armazenadas em refrigerador a 10°C.

T2- Sementes revestidas com biofilme de zeína (5% p/v) e armazenadas em condições ambiente (sem controle de temperatura e umidade relativa do ar).

T3- Sementes sem tratamento e armazenadas em refrigerador a 10°C.

9 RESULTADOS E DISCUSSÃO

9.1 Temperatura e umidade relativa do ar registrada no ambiente de armazenamento.

Tabela 29- Médias de temperatura (°C) e umidade relativa do ar do ambiente de laboratório onde as sementes permaneceram armazenadas Seropédica/RJ.

Mês	Máxima de temperatura (°C)	Mínima de temperatura (°C)	Média de temperatura (°C)	Média de UR%
Abril/2015	34,2	26,3	30,25	62,54
Mai/2015	32,1	24,5	28,3	60,56
Junho/2015	32,3	20,6	26,45	55,60
Julho/2015	32,1	16,1	24,1	53,34
Agosto/2015	33,3	17,5	25,4	54,75
Setembro/2015	38,2	16,2	27,2	65,61
Outubro/2015	37,4	20,5	28,95	72,50
Novembro/2015	36,4	19,6	28,00	66,18

É importante o registro das médias de temperatura e umidade relativa do ar no ambiente em que foi realizado o experimento, pois estes fatores podem influenciar diretamente em algumas variáveis como o teor de água da sementes durante o período de armazenamento.

9.2 Primeiro ensaio: avaliação da qualidade fisiológica das sementes de feijão-vagem revestidas com zeína em diferentes concentrações.

De acordo com os resultados obtidos em testes preliminares, utilizando a solução de zeína em diferentes concentrações, observou-se que a solução de zeína com concentração abaixo de 5% (p/v), não foi possível formar a película de revestimento com o filme polimérico. As sementes foram submetidas ao tratamento com a solução e logo após a secagem por 24 horas em temperatura ambiente (26°C), os testes foram realizados para avaliação da qualidade fisiológica.

Na Tabela 30 estão descritos os teores de água antes e após os tratamentos com diferentes concentrações de zeína. Os resultados apontaram que houve alteração significativa no teor de água das sementes. Observou-se uma elevação no percentual de água das sementes após o tratamento com concentração a 1% e 2%. Somente quando foi formado o filme com a concentração de zeína partir de 4%, o teor de água permaneceu a 11%. Destaca-se o potencial hidrofóbico de alguns polímeros naturais, como a zeína. Segundo Elzein et al. (2006), o polímero promove o impedimento físico-químico entre o embrião e o ambiente em função da substituição do caráter polar da superfície das sementes pelo perfil apolar imposto por alguns aminoácidos constituintes dos polímeros, o que reduz a interação com a água da superfície e a permeação de água para o interior das sementes.

Tabela 30- Teor de água (%) antes e após o tratamento das sementes de feijão-vagem com diferentes concentrações de zeína.

Teor de água (%)		
Tratamentos		
Concentrações (% p/v)	Antes do tratamento	Após 24 horas do tratamento
1	11,0 Ab	12,2 Aa
2	11,0 Ab	12,5 Aa
3	11,0 Aa	11, 2 Ba
4	11,0 Aa	11,0 Ba
5	11,0 Aa	11,0 Ba

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula na coluna e minúscula na linha, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De acordo com Harrington (1973) o teor de água das sementes ideal para o armazenamento em embalagens impermeáveis é de 6 a 12%, para sementes amiláceas e aleuro-amiláceas, o caso do feijão, e de 4 a 9% para oleaginosas. Teores de água superiores a 12%, para amiláceas e aleuro amiláceas, e 9% para oleaginosas, fazem com que as sementes armazenadas nessas embalagens tenham mais rápida deterioração do que nas permeáveis (SILVA et al., 2010). O teor de água das sementes exerce influência acentuada e direta na longevidade destas, pois estimula a atividade metabólica do embrião (MACEDO et al., 2009).

O armazenamento de sementes de feijão com teor de água inicial superior a 13% resultará em danos provocados por mudanças no metabolismo celular, como o aumento da atividade enzimática e respiratória das sementes, propiciando o desenvolvimento de fungos, que serão favorecidos pela elevada temperatura (VIEIRA e YOKOYAMA, 2010).

No presente estudo, as sementes revestidas com as concentrações de zeína a 4 e 5 % (p/v) não apresentaram diferenças no teor de água após o tratamento. Portanto, para o acondicionamento das sementes em garrafas Pet (politereftalato de etileno) e posterior armazenamento, foi escolhida a solução de zeína a 5% (p/v). Com a concentração de 5% foi possível observar a formação do filme polimérico.

9.2.1 Avaliação da qualidade fisiológica inicial das sementes após 24 horas de tratamento com diferentes concentrações de zeína.

De acordo com os resultados obtidos (Tabela 31), observa-se a diminuição do vigor das sementes quando submetidas aos diferentes tratamentos com a solução de zeína. Os valores diferem significativamente quando comparados com as sementes não submetidas ao tratamento (testemunha). Os tratamentos com as soluções de zeína nas concentrações 1, 2 e 3 %, apresentaram menores percentuais de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação. Estes valores diferem significativamente quando comparados às sementes sem tratamento.

Tabela 31- Primeira contagem (%), germinação (%), comprimento de plântulas (cm), massa seca (g/plântula) e infestação por insetos (%) em sementes de feijão-vagem submetidas à diferentes concentrações de zeína, e sem tratamento após 24 h de tratamento.

Concentração (% p/v)	Primeira contagem (%)	Germinação (%)	Comprimento de plântulas (cm)	massa seca (g/pl)	Teor de água (%)	Infestação por insetos (%)
1	51 B	65 B	6,2 C	1,3 C	12,2 A	0,7 A
2	52 B	65 B	6,5 C	1,3 C	12,5 A	0,7 A
3	56 B	73 AB	7,5 B	1,4 BC	11,2 B	0,8 A
4	65 B	76 AB	8,7 A	1,45 BC	11 B	0,8 A
5	81 A	83 A	8,9 A	1,5 A	11 B	0,8 A
Sem tratamento	82 A	85 A	9,6 A	1,6 A	11 B	0,8 A
CV (%)	10,15	10,04	5,53	3,79	1,88	23,71

Médias seguidas das mesmas letras na coluna não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

Estes resultados devem-se ao fato destas concentrações não permitirem a formação adequada do filme. No lugar do filme, foi formada uma capa de textura fina e viscosa, que alterou o processo de germinação das sementes e formação de plântulas normais. O percentual de germinação nestas concentrações (1, 2 e 3%), não está de acordo com o valor mínimo permitido para a germinação de sementes de feijão-vagem, que é de 80% (Brasil, 2005). Foi observado melhor resultado quando as sementes foram submetidas à solução de concentração 5%, onde ocorreu a devida formação do filme de zeína.

A avaliação do vigor das sementes após 24 horas do revestimento com zeína, foi realizado por meio dos testes de primeira contagem do teste de germinação, comprimento e peso de matéria seca das plântulas. Foram observados maiores valores destas variáveis quando as sementes foram submetidas ao tratamento com a solução na concentração de 5% p/v.

Sementes com menor porcentagem de plântulas normais na primeira contagem e germinação, apresentarão conseqüentemente menores valores de comprimento de plântulas e de peso de massa seca (g/plântulas). Estes testes evidenciam o potencial fisiológico das sementes, estimando-se a possibilidade de se tornarem plantas saudáveis e vigorosas.

Verzignassi et al. (2010) verificaram o potencial de utilização dos polímeros quitosana e zeína na redução do índice da velocidade de germinação das forrageiras Piatã e Xaraés, de *Brachiaria brizantha*, e Massai (*Panicum maximum* x *Panicum infestum*). Os autores destacaram o potencial de utilização destes polímeros no tratamento de sementes. Porém, vários ajustes devem ser efetuados no que tange à concentração polimérica, espessura de camada, características físico-químicas, entre outras.

Portanto, com o uso da concentração da solução de zeína a 5% (p/v) além de ocorrer a formação da película do filme de zeína, obtiveram-se os melhores resultados de qualidade fisiológica das sementes.

9.3 Segundo ensaio: Avaliação da qualidade fisiológica das sementes de feijão-vagem revestidas com a concentração de zeína a 5%, armazenadas por oito meses em dois ambientes.

9.3.1 Primeira contagem do teste de germinação (%)

Para a avaliação da primeira contagem do teste de germinação, houve diferença significativa para os fatores isolados tratamento e períodos de armazenamento, mas não houve interação entre eles. De acordo com a Tabela 32, as sementes submetidas ao tratamento com zeína a 5%, armazenadas em condições ambiente e em refrigerador apresentaram redução do número de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação, quando comparadas às sementes sem tratamento.

As sementes que permaneceram em condições ambientais, provavelmente sofreram mais com a influência da temperatura. Condições ambientais adversas durante o armazenamento resultam no envelhecimento das sementes que podem apresentar desde redução da viabilidade até a completa perda do poder germinativo, produção de plântulas de menor tamanho, produção de plântulas anormais, dentre outros (MATTEWS, 1985; BEWLEY e BLACK, 1994; PÁDUA, 1998).

Verzignassi et al. (2010) com o objetivo de prevenir (atrasar) a germinação prematura de sementes forrageiras tropicais, para a utilização em plantio simultâneo em sistemas de integração lavoura-pecuária (ILP), revestiram-nas com filmes poliméricos de quitosana e zeína. Para as 3 cultivares testadas, as menores porcentagens de germinação, bem como os menores

índices de velocidade de germinação (IVG), foram encontrados para sementes polimerizadas com zeína, sem, no entanto, ocorrer redução na viabilidade das sementes. Isso indica o potencial de utilização desse polímero hidrofóbico na prevenção da germinação prematura de sementes de forrageiras tropicais.

Estes resultados encontrados concordam com outros estudos e dão embasamento para entender a diminuição de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação. A zeína com sua característica hidrofóbica, tende a diminuir a velocidade de germinação. Isto explica-se uma vez que a entrada de água, essencial para o crescimento do eixo embrionário e o processo de germinação, ocorre de forma mais lenta.

Estudos realizados por Assis e Leoni (2009) avaliaram o efeito hidrofóbico do filme de zeína em sementes de beterraba e brócolis, com o objetivo de prevenir germinações prematuras pela redução na absorção de água. Os revestimentos se deram pela completa imersão das sementes em formulação zeínas/etanol na concentração de 3,0 g L⁻¹, seguidos de secagem ao ar. Os filmes resultantes apresentam elevada natureza hidrofóbica como resultado do alto teor de aminoácidos presentes na estrutura dessas proteínas. Para ambas as sementes testadas, os resultados apontam um atraso no período de germinação. Os resultados estão relacionados com a ação do filme de zeína como barreira física, reduzindo a permeação de água para o interior das sementes.

Tabela 32- Primeira contagem da germinação (%) das sementes de feijão-vagem, revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C.

Tratamento	Primeira contagem de germinação (%)
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas em condições ambiente	69 B
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas a 10°C	71 B
Sem tratamento e armazenadas a 10°C	81 A

Médias seguidas das mesmas letras não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

De acordo com a Figura 20, houve decréscimo no percentual de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação ao longo do armazenamento. O vigor das sementes tende a diminuir de acordo com que se avança os meses de armazenamento, mesmo que as sementes estejam armazenadas em ambiente com adequada temperatura e umidade relativa do ar (BRAGANTINI, 2005).

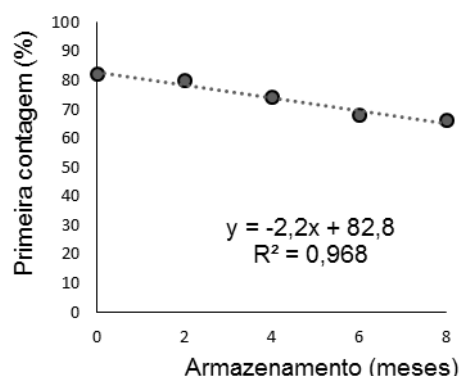


Figura 20- Dados médios da primeira contagem da germinação (%) em sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.

9.3.2 Germinação (%)

Para a variável germinação, destaca-se a diferença significativa entre os tratamentos, para o período de armazenamento, mas não houve interação entre os fatores. As sementes sem tratamento apresentaram maiores porcentagens de germinação quando comparadas àquelas que foram submetidas ao tratamento com zeína. É importante observar a germinação de sementes revestidas com zeína e armazenadas em condições ambientais, que exibiram menores índices de germinação, inclusive com percentual abaixo do permitido pela legislação para sementes de *Phaseolus vulgaris* L., que é de 80% (BRASIL, 2005).

Silva et al. (2013) avaliando o efeito do revestimento dos filmes poliméricos de zeína e quitosana em sementes de forrageiras, concluíram que as menores porcentagens de sementes germinadas, bem como os menores índices de velocidade de germinação, foram encontrados para sementes polimerizadas com zeína.

Tabela 33- Germinação (%) das sementes de feijão-vagem, revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C.

Treatamento	Germinação (%)
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas em condições ambiente	78 B
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas a 10°C	81 B
Sem tratamento e armazenadas a 10°C	85 A

Médias seguidas das mesmas letras não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

Um aspecto fundamental a ser considerado no processo produtivo de sementes é a preservação da qualidade. O armazenamento deve ser realizado de modo que possa reduzir ao máximo as reações bioquímicas que provocam a perda da qualidade fisiológica das sementes, além de proporcionar condições desfavoráveis ao desenvolvimento de insetos e fungos, os quais contribuem para a redução desta qualidade (ZUCARELLI et al., 2015).

A germinação de todas as sementes avaliadas neste trabalho diminuiu ao longo do armazenamento. De acordo com a Figura 21, a variável germinação, apresentou característica de decréscimo linear, com coeficiente de determinação de 0,92. Os resultados obtidos corroboram com estudos realizados por Pires et al. (2004), que avaliaram o efeito do tempo de armazenamento na germinação de sementes de feijão recobertas com poli vinil acetato (PVA) associado a fungicidas. Os autores constataram que a porcentagem de germinação não foi afetada em um período de até quatro meses de armazenamento.

Pereira et al. (2005) em estudo que avaliou a germinação de sementes de milho revestidas por filmes poliméricos e o tempo de armazenamento, concluíram que o recobrimento não afetou a germinação das sementes por um período de até seis meses de armazenamento. No presente estudo, as sementes apresentaram porcentagem de germinação de 80% até os seis meses de armazenamento. Após esse período, a germinação caiu para 77%.

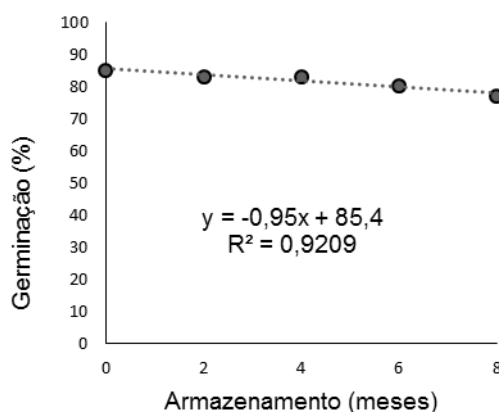


Figura 21- Dados médios da germinação (%) em sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.

9.3.3 Comprimento de plântulas (cm)

Para a avaliação do comprimento de plântulas, observou-se diferença significativa entre os tratamentos, para os períodos de armazenamento e houve interação entre os fatores. De acordo com a Tabela 34, o maior comprimento de plântulas foi encontrado nas sementes sem tratamento. As sementes armazenadas em condições ambiente novamente apresentaram menores índices de vigor quando comparadas às outras amostras de sementes.

Estes resultados corroboram com oliveira e Soldi (2009). Estes autores, avaliando o potencial de recobrimento de filmes poliméricos de carboximetilcelulose e alginato de sódio,

observaram que o comprimento das plântulas diminuiu nas sementes com recobrimento polimérico, sugerindo menor desenvolvimento da plântula.

Tabela 34- Comprimento de plântulas (cm) das sementes de feijão-vagem, revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C.

Tratamento	Comprimento de plântulas (cm)
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas em condições ambiente	7,6 C
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas a 10°C	9,0 B
Sem tratamento e armazenadas a 10°C	9,6 A

Médias seguidas das mesmas letras não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

Houve diminuição do comprimento de plântulas durante o período de armazenamento para todas as sementes avaliadas. A Figura 22 demonstra esse decréscimo através da curva com característica linear e coeficiente de determinação de 0,90. A diminuição do vigor das sementes de feijão-vagem manifestou-se pela redução na primeira contagem do teste de germinação, e também pelo tamanho das plântulas. A taxa de emergência de plântulas mais lenta, freqüentemente está associada a sementes de baixo vigor, que produzem plantas de menor tamanho comparativamente àquelas produzidas por sementes de alto vigor (ELLIS, 1980).

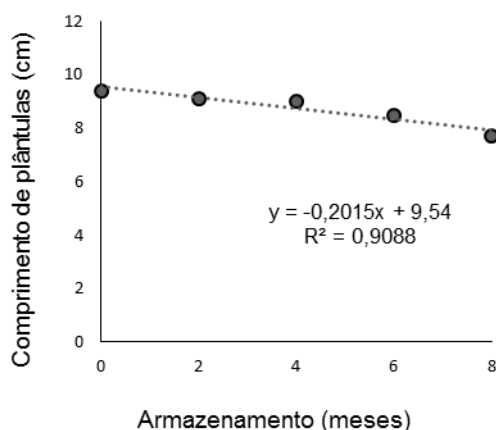


Figura 22- Dados médios do comprimento de plântulas (cm) em plântulas de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.

De acordo com a Tabela, 35 houve diferença significativa entre os tratamentos para todos os meses avaliados. As sementes sem tratamento apresentaram os maiores valores para o comprimento de plântula.

Tabela 35- Comprimento de plântulas (cm) das sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.

Tratamentos	Períodos de armazenamento (meses)				
	0	2	4	6	8
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas em condições ambiente	8,9 B	7,3 B	7,3 B	7,4 B	6,95 B
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas a 10°C	9,0 B	9,8 A	9,6 A	9,0 A	7,65 B
Sem tratamento e armazenadas a 10°C	10,4 A	10,1 A	10,1 A	8,8 A	8,65 A

Médias seguidas das mesmas letras na coluna não apresentam diferença significativa, a 5%, pelo teste de Tukey.

A variável comprimento de plântulas também apresentou interação significativa entre períodos de armazenamento dentro de tratamentos para todos os tratamentos utilizados. Estes resultados podem ser visualizados conforme as equações de regressão demonstradas nas figuras referentes a cada tratamento. Para as sementes tratadas com zeína e armazenadas em condições ambiente, observa-se que a equação polinomial de segunda ordem foi a que melhor representou o decréscimo do comprimento de plântulas ao longo dos meses. Nas sementes tratadas com zeína e armazenadas em refrigerador a 10°C, o comprimento de plântulas apresentou maior valor no segundo mês de armazenamento, e após este período também houve diminuição do comprimento de plântula. Por fim, as sementes que não foram submetidas ao tratamento com zeína, o comprimento de plântulas ao longo do armazenamento foi melhor caracterizado por uma equação de regressão de caráter linear.

Contata-se que, de modo que avança o período de armazenamento, ocorre a diminuição do vigor das sementes independente do tipo de tratamento. Estes resultados corroboram com os resultados encontrados por Santos et al. (2005), que avaliaram o efeito do armazenamento em dois ambientes, em câmara seca e ambiente sem controle de temperatura e umidade relativa do ar. O período de armazenamento teve efeito deletério em sementes de feijão, independente do

ambiente avaliado. Após oito meses de armazenamento, os valores de primeira contagem, germinação e comprimento de plântulas apresentaram decréscimo.

No entanto, neste estudo, quando se avalia em conjunto aos outros testes de vigor realizados, percebe-se que as sementes revestidas com zeína e armazenadas em condições ambientais apresentam o processo de deterioração de maneira mais acentuada.

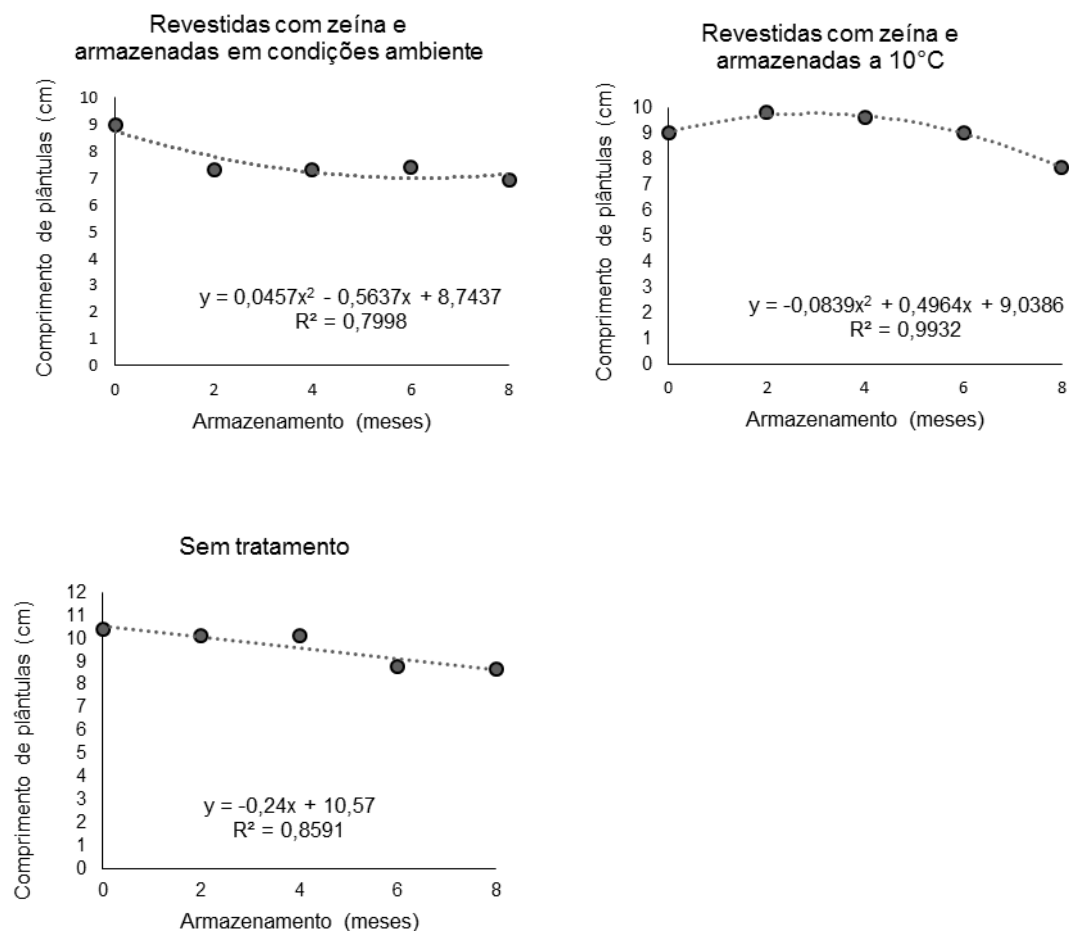


Figura 23- Comprimento de plântulas (cm) de feijão-vagem revestidas com zeína a 5%, sem tratamento e armazenadas em diferentes ambientes aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses.

9.3.4 Massa seca (g/plântula)

Para a variável massa seca de plântulas, os resultados indicaram diferença significativa para os fatores tratamento, períodos de armazenamento e para a interação entre eles. A Tabela 36 exhibe os resultados de massa seca em relação aos tratamentos avaliados. Verificou-se que as sementes que não foram submetidas ao tratamento com zeína apresentaram valores superiores às demais sementes. Em seguida, observa-se maiores valores de massa seca para as plântulas oriundas de sementes revestidas com zeína e armazenadas em ambiente refrigerado.

Tabela 36- Massa seca (g/plântulas) das plântulas de feijão-vagem, revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C.

Tratamento	Peso de massa seca (g/pl)
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas em condições ambiente	1,2 C
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas a 10°C	1,6 B
Sem tratamento e armazenadas a 10°C	1,7 A

Médias seguidas das mesmas letras não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

Observa-se que a massa seca das plântulas diminuiu em função do armazenamento. A equação de caráter linear é a que melhor representa esta variável ao longo dos meses avaliados (Figura 24).

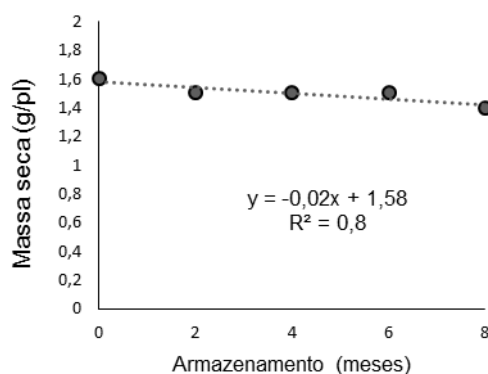


Figura 24- Dados médios de massa seca (g) em plântulas de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.

De acordo com a Tabela 37, houve diferença significativa para todos os meses avaliados. A amostra de sementes sem tratamento apresentou valores de peso de massa seca superiores às demais em todos os meses, com exceção do último mês de armazenamento.

Tabela 37- Massa seca (g/plântulas) das plântulas de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.

Tratamentos	Períodos de armazenamento (meses)				
	0	2	4	6	8
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas em condições ambiente	1,5 B	1,3 C	1,2 C	1,2 C	1,1 B
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas a 10°C	1,5 B	1,7 B	1,6 B	1,6 B	1,5 A
Sem tratamento e armazenadas a 10°C	1,9 A	1,8 A	1,8 A	1,7 A	1,5 A

Médias seguidas das mesmas letras na coluna não apresentam diferença significativa, a 5%, pelo teste de Tukey.

A variável massa seca de plântulas apresentou interação significativa entre períodos de armazenamento dentro de tratamentos, para todos os tratamentos avaliados. Estes resultados podem ser visualizados conforme as equações de regressão demonstradas nas figuras referentes a cada tratamento utilizado. As análises de variância encontram-se em anexo. Os resultados obtidos para massa seca (g/plântulas) indicaram que todos os tratamentos reduziram a variável avaliada ao longo do armazenamento. A Figura 25 mostra que para a variável massa seca, as sementes tratadas com zeína e armazenadas em ambiente refrigerado, comportaram-se de modo semelhante à variável comprimento de plântulas, onde os maiores valores foram encontrados no segundo mês avaliado.

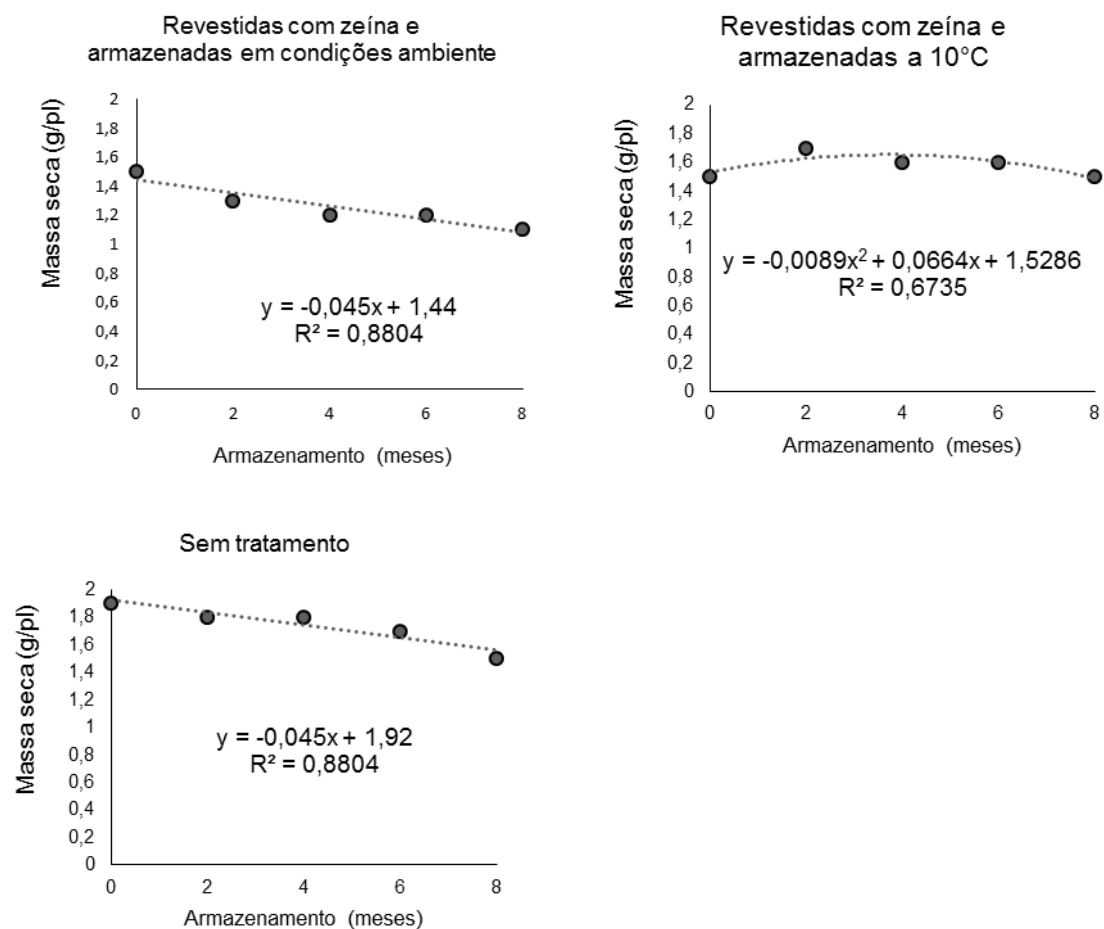


Figura 25- Massa seca (g) em plântulas de feijão-vagem revestidas com zeína a 5%, sem tratamento e armazenadas em diferentes ambientes aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses.

9.3.5 Teor de água (%)

A avaliação do teor de água das sementes, revelou diferença significativa entre os tratamentos, para o período de armazenamento e para a interação entre esses fatores. A Tabela 38 demonstra os resultados de teor de água das sementes em relação aos tratamentos. Apesar de haver diferença significativa entre eles, percebe-se que este fator não foi capaz de ocasionar diminuição da qualidade fisiológica das sementes, uma vez que o maior teor de água encontrado, foi de 11,6% para as sementes armazenadas em condições ambiente. Para o armazenamento em embalagens consideradas impermeáveis, o teor de água máximo é 12% (SILVA et al., 2010).

Tabela 38- Teor de água (%) em sementes de feijão-vagem, revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C.

Tratamento	Teor de água (%)
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas em condições ambiente	11,6 A
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas a 10°C	11,2 B
Sem tratamento e armazenadas a 10°C	11,0 B

Médias seguidas das mesmas letras não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

A Figura 26 indica os teores de água ao longo dos oito meses avaliados, e observa-se uma redução mínima do teor de água em função do tempo de armazenamento para os tratamentos estudados.

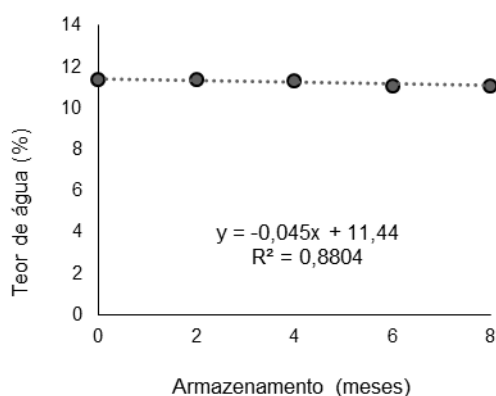


Figura 26- Dados médios do teor de água (%) em sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.

Através da Tabela 39, verifica-se que os teores de água das sementes diferiram significativamente até o quarto mês de armazenamento para todos os tratamentos. A partir do sexto mês, o teor de água permaneceu estabilizado para as sementes tratadas com zeína e armazenadas em ambientes distintos, e também para as sementes sem tratamento.

Tabela 39- Teor de água (%) em sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.

Tratamentos	Períodos de armazenamento (meses)				
	0	2	4	6	8
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas em condições ambiente	11,5 A	11,9 A	12 A	11,3 A	11,3 A
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas a 10°C	11,7 A	11,2 B	11 B	11 A	11 A
Sem tratamento e armazenadas a 10°C	11 B	11 B	11 B	11 A	11 A

Médias seguidas das mesmas letras na coluna não apresentam diferença significativa, a 5%,

A variável teor de água apresentou interação significativa entre períodos de armazenamento dentro de tratamentos, para as sementes revestidas com zeína armazenadas em condições ambiente e refrigerador a 10°C (Figura 27). Estes resultados podem ser visualizados conforme as equações de regressão demonstradas nas figuras referentes a cada tratamento utilizado. As análises de variância encontram-se em anexo.

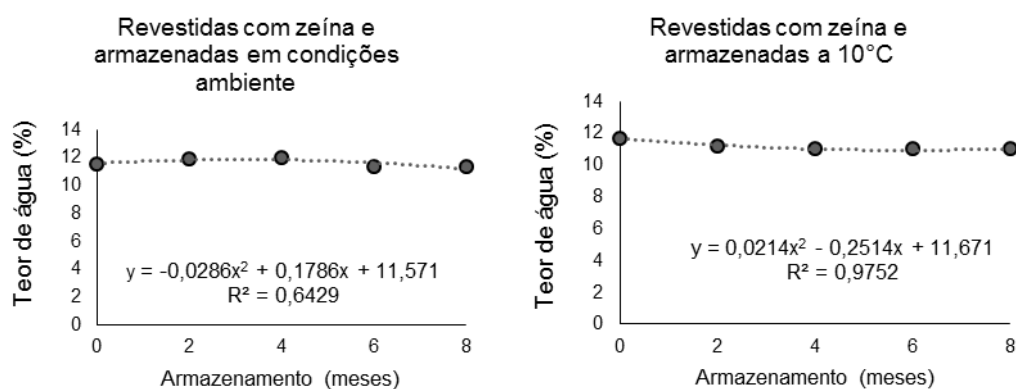


Figura 27- Teor de água em sementes de feijão-vagem revestidas com zeína e armazenadas em condições ambiente e a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses.

9.3.6 Infestação por insetos (%)

Ao avaliar a infestação por insetos, verificou-se diferença significativa entre os tratamentos, para o período de armazenamento e para a interação entre esses fatores. Os valores apontados na Tabela 40 indicam que para esta variável estudada, as sementes sem tratamento foram as que exibiram maior índice de infestação por insetos. O revestimento com zeína pode ter dificultado a infestação por insetos devido à camada que o filme polimérico forma nas sementes, servindo como barreira física ao ataque dos mesmos.

As sementes revestidas com zeína e armazenadas em ambiente refrigerado, apresentaram reduzida infestação de insetos quando comparadas às outras sementes. A temperatura do ambiente refrigerado (média de 10°C) possivelmente diminuiu o metabolismo dos insetos considerados pragas de armazenamento, uma vez que a maioria destas espécies desenvolvem-se bem em temperaturas mais elevadas (FARONI, 1998).

Tabela 40- Infestação por insetos (%) em sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C.

Tratamento	Infestação por insetos (%)
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas em condições ambiente	1,0 A
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas a 10°C	0,84 B
Sem tratamento e armazenadas a 10°C	1,2 A

Médias seguidas das mesmas letras não apresentam diferença significativa, a 5%, teste Tukey.

A tabela 41 indica que houve diferença significativa entre os tratamentos no tempo zero de avaliação, ao sexto e oitavo mês de armazenamento.

Tabela 41. Infestação por insetos (%) em sementes de feijão vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.

Tratamentos	Períodos de armazenamento (meses)				
	0	2	4	6	8
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas em condições ambiente	0,70 B	0,83 A	1,18 A	1,27 A	1,31 A
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas a 10°C	0,70 B	0,96 A	0,83 A	0,83 B	0,83 B
Sem tratamento e armazenadas a 10°C	1,31 A	0,96 A	1,09 A	1,31 A	1,31 A

Médias seguidas das mesmas letras na coluna não apresentam diferença significativa, a 5%, Teste de Tukey.

Houve diferença significativa para os períodos de armazenamento em todas as amostras de sementes avaliadas. Observa-se que houve um aumento na infestação por insetos em função do armazenamento.

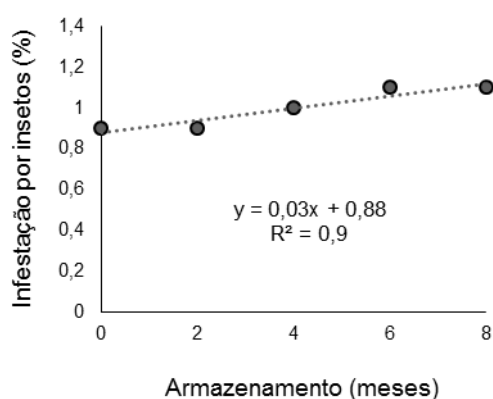


Figura 28- Dados médios de infestação por insetos (%) em sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.

A variável infestação por insetos (%) apresentou interação significativa entre períodos de armazenamento dentro de tratamentos, para as sementes revestidas com zeína e armazenadas em temperatura ambiente (Figura 29). Estes resultados podem ser visualizados conforme a equação de regressão demonstrada nas figuras referente ao tratamento utilizado. As análises de variância encontram-se em anexo.

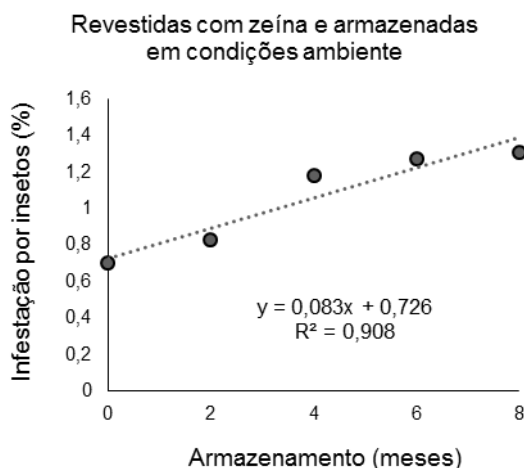


Figura 29- Infestação por insetos (%) em sementes de feijão-vagem revestidas com zeína e armazenadas em condições ambiente aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses.

10 Avaliação da qualidade sanitária de sementes revestidas com zeína e armazenadas durante oito meses em dois ambientes.

Os resultados do teste de sanidade indicaram com maior frequência os fungos de espécies dos gêneros *Aspergillus* sp., e *Penicillium* sp. nas sementes avaliadas (Tabela 42). É comum encontrar esta microflora fúngica em sementes da espécie *Phaseolus vulgaris* L. (OOTANI, 2016). Para a avaliação de *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. foram encontradas diferenças significativas para tratamentos, para os períodos de armazenamento e para a interação entre eles. De acordo com a Tabela 42, o melhor desempenho foi encontrado para as sementes revestidas com biofilme de zeína e armazenadas em ambiente refrigerado.

Tabela 42- Porcentagem de fungos (%) em sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C.

Tratamentos	Fungos	
	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas em condições ambiente	3,69 B	3,53 B
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas a 10°C	3,24 A	3,20 A
Sem tratamento e armazenadas a 10°C	4,71 C	4,74 C

Médias seguidas das mesmas letras nas colunas não apresentam diferença significativa, a 5%, pelo teste de Tukey.

Os efeitos do armazenamento foram significativos para a incidência dos dois fungos encontrados. Observa-se que houve aumento da incidência de *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp em função do tempo de armazenamento (Figura 30).

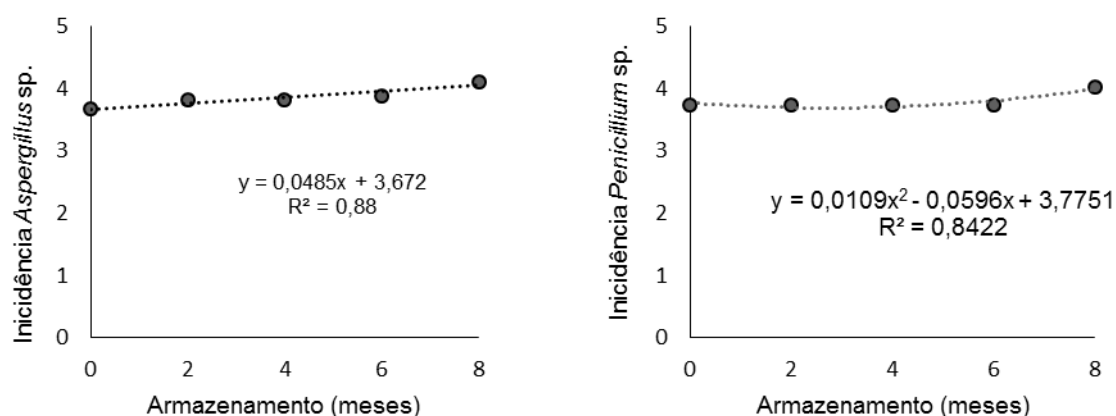


Figura 30- Dados médios da incidência de *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. em sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.

De acordo com a Tabela 43, houve diferença significativa entre os tratamentos para todos os meses avaliados. Apesar da incidência de *Aspergillus* sp. apresentar-se com frequência

em todo o período avaliado, observa-se que as sementes tratadas com zeína apresentaram menor porcentagem de sementes contaminadas quando comparadas às sementes sem tratamento.

Tabela 43- Incidência de *Aspergillus* sp. em sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.

Tratamentos	Períodos de armazenamento (meses)				
	0	2	4	6	8
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas em condições ambiente	3,93 B	3,59 A	3,48 A	3,48 A	3,73 A
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas a 10°C	3,15 A	3,15 A	3,19 A	3,19 A	3,38 A
Sem tratamento e armazenadas a 10°C	3,93 B	4,57 B	4,81 B	4,99 B	5,24 B

Médias seguidas das mesmas letras na coluna não apresentam diferença significativa, a 5%, Teste de Tukey.

A avaliação da presença de *Aspergillus* sp. apresentou interação significativa entre períodos de armazenamento dentro de tratamentos, para as sementes revestidas com zeína e armazenadas em temperatura ambiente e para as sementes sem tratamento (Figura 31). Constata-se que as sementes tratadas com zeína, mesmo armazenadas em temperatura ambiente, demonstraram redução da incidência de *Aspergillus* sp. ao longo dos meses avaliados. Estes resultados podem ser visualizados conforme as equações de regressão demonstradas nas figuras referentes a cada tratamento utilizado. As análises de variância encontram-se em anexo.

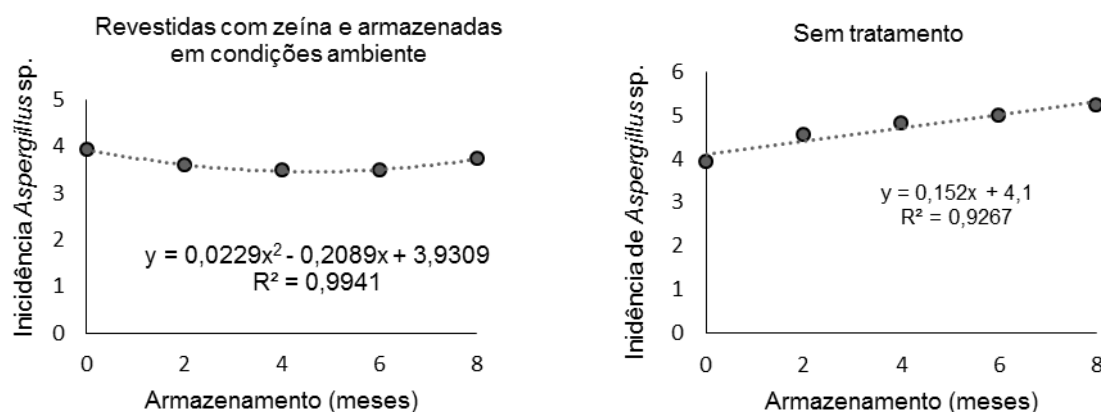


Figura 31- Incidência de *Aspergillus* sp. em sementes de feijão-vagem revestidas com zeína a 5%, sem tratamento e armazenadas em temperatura ambiente aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses.

Para a avaliação de *Penicillium* sp., a Tabela 44 aponta que houve diferença significativa entre os tratamentos em todos os meses avaliados. As sementes tratadas com zeína e armazenadas a 10°C foram as amostras que apresentaram maior controle da incidência do fungo quando comparadas às sementes sem tratamento.

Tabela 44- Incidência de *Penicillium* sp. em sementes de feijão-vagem revestidas com biofilme de zeína, armazenadas em condições ambiente; revestidas com biofilme de zeína, armazenadas a 10°C e sem tratamento, armazenadas a 10°C aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses de avaliação.

Tratamentos	Períodos de armazenamento (meses)				
	0	2	4	6	8
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas em condições ambiente	3,89 B	3,56 B	3,31 A	3,38 B	3,53 A
Revestidas com biofilme de zeína e armazenadas a 10°C	3,42 A	3,34 A	3,11 A	2,91 A	3,24 A
Sem tratamento e armazenadas a 10°C	3,93 B	4,74 B	4,81 B	4,89 C	5,33 B

Médias seguidas das mesmas letras na coluna não apresentam diferença significativa, a 5%, Teste de Tukey.

A avaliação da presença de *Penicillium* sp. apresentou interação significativa entre períodos de armazenamento dentro de tratamentos, para todos os tratamentos utilizados (Figura 32). Estes resultados podem ser visualizados conforme as equações de regressão demonstradas nas figuras referentes a cada tratamento utilizado. Os resultados obtidos para a avaliação da incidência de *Penicillium* sp., foram semelhantes aos resultados encontrados para *Aspergillus* sp. Ou seja, as sementes revestidas com o filme polimérico de zeína, apresentaram decréscimo da incidência do fungo ao longo dos meses avaliados.

Segundo Assis et al. (2009) os biopolímeros como quitosana, amilopectina, pectina e zeína, empregados no revestimento de legumes e verduras, apresentam propriedades antimicrobianas e antifúngicas. Estas propriedades antimicrobianas ocorrem devido à habilidade dos biopolímeros induzirem alterações morfológicas nas paredes celulares dos microorganismos (DEVLIEGHIERE et al., 2004).

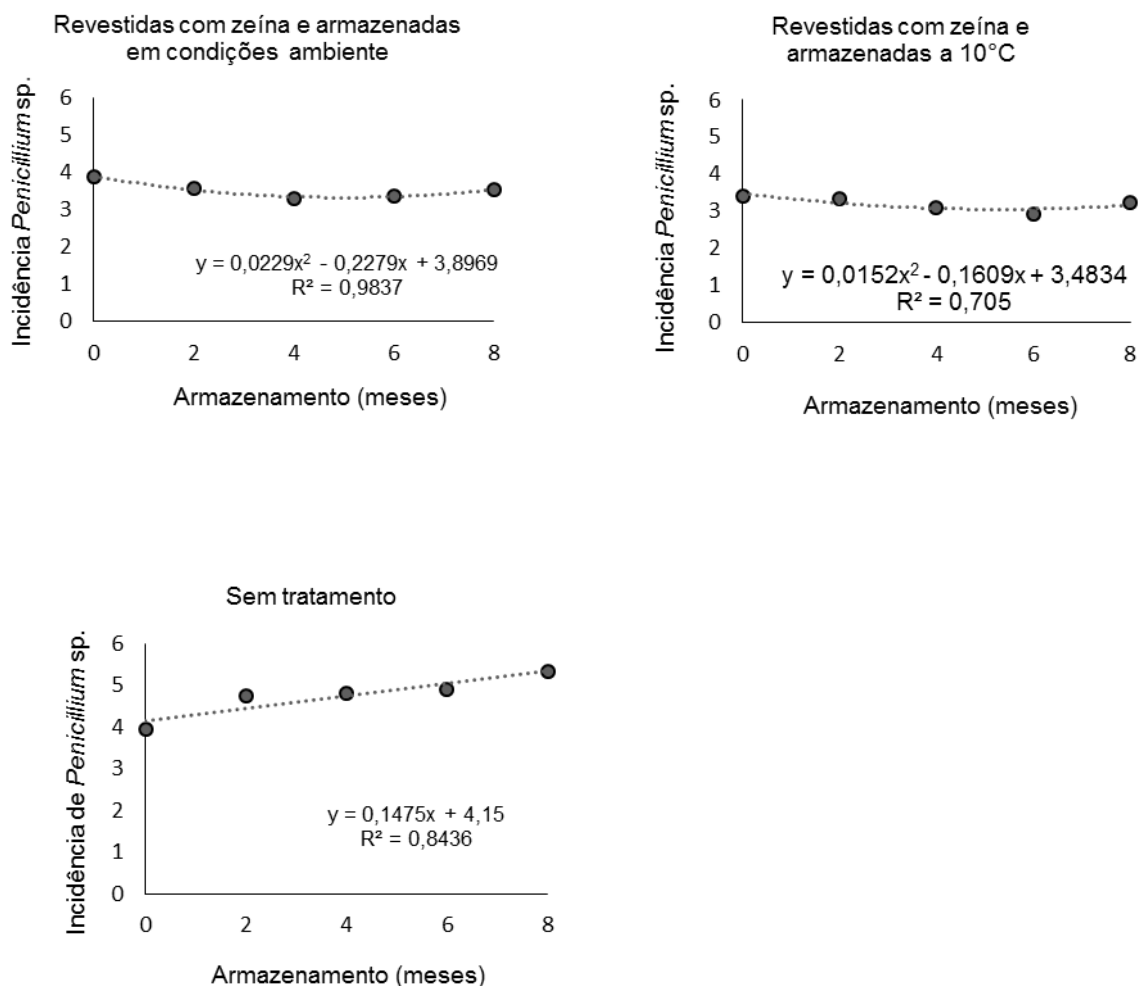


Figura 32- Incidência de *Penicillium* sp. em sementes de feijão-vagem revestidas com zeína a 5%, sem tratamento, armazenadas em condições ambiente e ambiente refrigerado aos 0, 2, 4, 6 e 8 meses.

11 CONCLUSÕES GERAIS

Para fungos do gênero *Penicillium* sp., o óleo essencial de capim-limão proporcionou maior inibição do crescimento micelial nas concentrações a partir de 0,25% v/v. Para *Aspergillus* sp. o óleo essencial de capim limão inibiu o crescimento micelial a partir de 0,5% v/v. O óleo essencial de citronela inibiu o crescimento micelial de *Aspergillus* sp e *Penicillium* sp. a partir da concentração 0,25% v/v.

O óleo vegetal de nim apresentou resultados eficientes na redução do crescimento micelial para os dois fungos estudados a partir da concentração de 4% v/v. À medida que aumentavam as concentrações dos óleos, maior era a inibição do crescimento micelial dos fungos.

O óleo essencial de citronela apresentou efeito na redução da sobrevivência dos insetos a partir de 48 horas. Os óleos testados neste estudo não apresentaram resultados efetivos na capacidade de oviposição de *Acanthoscelides obtectus* (Say). Mais pesquisas devem ser realizadas para a verificação da metodologia de aplicação dos óleos e quanto à concentração, que possivelmente influenciou na reduzida mortalidade e oviposição dos insetos avaliados.

O óleo essencial de capim limão utilizado na concentração de 0,5% v/v destacou-se e preservou a qualidade fisiológica sementes de feijão-vagem durante os doze meses de armazenamento. Entre os óleos avaliados, o revestimento com óleo essencial de capim limão proporcionou diminuição da incidência de fungos dos gêneros *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium* em sementes de feijão-vagem ao longo dos doze meses de armazenamento.

A concentração de solução de zeína a 5% (p/v) mostrou-se a mais adequada para formar o filme polimérico no revestimento das sementes de feijão-vagem, cultivar Alessa.

As sementes revestidas com zeína devem ser armazenadas em ambiente com temperatura controlada. No presente estudo, o tratamento com zeína a 5% (p/v) e mantidas em refrigerador (10°C), preservou a qualidade fisiológica das sementes. As sementes revestidas com zeína não apresentaram variações no teor de água ao longo do armazenamento.

Apesar do caráter hidrofóbico da zeína influenciar no atraso do processo de germinação, seu uso não inviabilizou as sementes de feijão-vagem.

Os índices de infestação por insetos foram reduzidos nas sementes revestidas com o filme polimérico de zeína e armazenadas em temperatura de refrigerador, quando comparadas aos outros tratamentos.

As sementes revestidas com o filme polimérico de zeína preservaram a qualidade sanitária das sementes, diminuindo a incidência de fungos de armazenamento dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*.

12 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, C.L.M. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com óleos essenciais. 2006. **Dissertação. (Mestrado em Agronomia-Horticultura)** UNESP, Botucatu.
- ADAMS, R.P.; Identification of essential oils component by gas chromatography/Mass Spectrometry. 4 th ed. **Allured Pub. Corp:** Illinois, 2007.
- AMADIOHA, A.C. Controlling rice blast in vitro and in vivo with extracts of *Azadirachta indica*. **Crop Protection**, Surrey, v.19, n.5, p.287-290, 2010.
- ANARUMA, N.D. et al. Control of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. in yellow passion fruit using *Cymbopogon citratus* essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.41, n.1, p.66-73, 2010.
- ANDRADE, A. B. A. N. Desenvolvimento de um sistema de liberação controlada de princípios ativos do óleo de *Azadirachta indica* A. Juss em matriz de poli (álcool vinílico) (PVA) para aplicações em veterinária. **Dissertação em ciências de tecnologia nuclear.** USP. São Paulo. 2013.
- 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.
- ANVISA. Resolução RE nº 665 de 20/02/2014 (DOU de 21/02/2014). Acesso em 12/02/2017.
- APASSUL- **Estatística de Sementes.** Disponível em:<http://www.apassul.com.br/sementes>. Acesso em: 03/02/2017.
- ARROTEIA, C.C.; KEMMELMEIER, C.; JUNIOR, M.M. Efeito dos extratos aquoso e oleoso de Nim [*Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae)] na produção de patulina em maçãs contaminadas por *Penicillium expansum* **Cienc. Rural** vol.37 no.6 Santa Maria Nov./Dec. 2007.
- ASSIS, O. B. G. O. et al. uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas *in natura* e minimamente processadas. Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2009. 23 p. (Embrapa Instrumentação Agropecuária. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento.**2009.
- ASSIS O.B G.; LEONI, M. A. Cobertura hidrofóbica a base de proteínas sobre sementes visando a redução de Germinações indesejáveis. **Sci. Agric.** (Piracicaba, Braz.), v.66, n.1, p.123-126, January/February 2009.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS – AOSA. Seed vigor testing handbook. **East Lansing: AOSA**, 1983. (Contribution, 32).
- AZIMOVA, S. S. Lipidic, Lipophilic Components and Essential Oil from Plant Sources, **Springer Science LLC**, p. 810, 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.
- BARBOSA, L. C. A. *et al.* Evaluation of the chemical composition of Brazilian commercial *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf samples. **Molecules**, v. 13, p. 1864-1874, 2008.
- BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. Handbook of essential oils; **science, technology, and applications** CRC Press, p. 994, 2012.
- BAUDET, L.M.L. Armazenamento de sementes. In: PESKE, S.T.; ROSENTAL, M.D.; ROTA, G.R. (ed.). **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**, Pelotas: Ed. Universitária – UFPel, 2003. p.370-418.
- BENÍCIO, V.; ARAÚJO, E.; SOUTO, F. M.; BENICIO, M. J.; FELISMINO, D. C. Identificação e características culturais de espécies do gênero *Aspergillus* isoladas de sementes de feijão no Estado da Paraíba. **Fitopatologia Brasileira**. vol.28 no.2 Brasília Mar./Abril, 2003.
- BENÍCIO, D.A.; NETO, V.Q.; SOUSA, J. G. Avaliação das Propriedades FísicoQuímicas e da Composição Química Parcial do Óleo de Semente de Nim Indiani (*Azadirachta indica* A. Juss), Cultivado no Município de Patos- Paraíba. **BiofarRevista de Biologia e Farmácia**, v.4, n.2, 2010.
- BERJAK, P. - Stored seeds: The problems caused by micro-organisms (with particular reference to the Fungi). IN: NASSER, L. C.; WETZEL, M. M. e FERNANDES, J. M. **Advanced International Course on Seed Pathology**. Passo Fundo. ABRATES, 1987, p.38-50.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. Seeds: Physiology of development and germination. **Zed. New York**: Plenum, 1994, 445p.
- BICUDO, R. C. *et al.* Análise de zeínas • do milho por LC-ESI-Q/TOF. **Comunicado técnico 77 - EMBRAPA**. São Carlos, SP. Nov., 2006.
- BIZZO, H. R.; HVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.
- BILLERBECK, V. G. *et al.* Effects of *Cymbopogon nardus* (L.) W. Watson essential oil on the growth and morphogenesis of *Aspergillus niger*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 01, p. 9-17, 2001.
- BOTELHO M.A, *et al.* Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Brazilian Journal of Medical Biological Research**, v.40, n.3, p.349-356, 2007.
- BURUCHARA, R.A. & CAMACHO, L. Common bean reaction to *Fusarium oxysporium* f. sp. *Phaseoli*, the cause of severe vascular wilt in Central Africa. **Journal of Phytopathology**, v.148, p.39-45. Janeiro, 2010.

BHUTTA, A.R.; Bhatti, M.H.R.; Iftikhar, A. Effect of seed diffusates on fungal population and germination of sunflower seeds. **Hélia, Novi Sad**, v.24 n.34, p.77-81, 2011.

BLANCO MCSG; GROppo GA; TESSARIOLI NETO J. 1997. Feijão-vagem. **Manual Técnico das Culturas**, Campinas 8: 63-65.

BRAGANTINI, C. Alguns aspectos do armazenamento de sementes e grãos de feijão. Santo Antônio de Goiás: **Embrapa Arroz e Feijão**, 2005. 28 p.

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

BRASIL. Legislação. **Padrões para produção e comercialização de sementes de feijão**. Publicado na seção 1 do dou nº 243 de 20.12.05.

BRITO, D. R. et al. Efeito dos óleos de citronela, eucalipto e composto citronelal sobre micoflora e desenvolvimento de plantas de milho. **J. Biotec. Biodivers.** v. 3, N.4: pp. 184-192, Nov. 2012.

CACCIONI, D.R.L.; GUIZZARDI, M. Inhibition of germination and growth of fruit and vegetable postharvest pathogenic fungi by essential oil components. **Journal of Essential Oil Research.** Camberra. v.6, p.173-9, 1994.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. (Ed.) Métodos alternativos de controle fitossanitário. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**, 2003. 279p. il.

CAMPOS, O.T.A.; RADUNZ, L.L.; RADUNZ, L.A. Atividade repelente e inseticida do óleo essencial de carqueja doce sobre o caruncho do feijão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.** V 18, N.8, P 861, 2014.

CARNEIRO, S.M. de T.P.G. Efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.29, n.3, p.262-265, 2003.

CARNEIRO, S.M. de T.P.G. Ação do nim sobre fungos fitopatogênicos. In: Martinez, S.S. O Nim – *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção. Londrina: **Instituto Agrônomo do Paraná**, 2012. p. 59-64.

CARNELOSSI, P.R. et al. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.4, p.399-406, 2009.

CASTRO, L.O.; RAMOS, R.L.D. **Principais gramíneas produtoras de óleos essenciais: *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., capim-cidró, *Cymbopogon martinii* (Rox.) J.F. Watson, palma-rosa, *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle, citronela, *Elyonurus candidus* (Trin.) Hack., capim-limão, *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash, vetiver.** Porto Alegre: FEPAGRO, 2003. 23p.

CASTRO, P.R.C.; KLUGE, R.A.; PERES, L.E.P. **Manual de Fisiologia vegetal.** Ed. Agrônômica Ceres, São Paulo, 650 pp., 2005.

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, mai. 2007.

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**, Fortaleza, v. 41, n. 2 p. 308-314, abr./jun. 2010.

CIMANGA, K. *et al.* Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, n. 02, p. 213-220, 2012.

COITINHO, R. L.B.C.; OLIVEIRA, J. V. GONDIN JUNIOR, M. G. Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus Zeamays*. **Ciência e agrotecnologia**, V. 35, P. 172-178, 2011.

COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G.P.P. *In vitro* activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, v.33, p. 344-9, 2011.

CORRÊA, B. M; LOPES FILHO, J. F. Elaboração e caracterização de biofilmes à base de zeína. **VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica** 27 a 30 de julho de 2009. Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

CORTES, M. S. Características estruturais e físicas do material biodegradável produzido a base de zeína e fibras de milho e bananeira. **Tese de Doutorado-UNESPE**. São José do Rio Preto, 2005.

COSTA, A.R.T.; AMARAL, M.F.Z.J.; MARTINS, P.M.; PAULA, J.A.M.; FIUZA, T.S.; Resvenzol, L.M.F.; Paula, J.R.; Bara, M.T.F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.13, n.2, p. 240- 245, 2011.

COSTA, L. C. do B. *et al.* Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 04, p. 956-959, 2015.

CSEKE, L. J.; KIRAKOSYAN, A.; KAUFMAN, P. B.; WARBER, S. L.; DUKE, J. A.; BRIELMANN, H. L. **Natural Products from Plants**, CRC Press. 2nd ed. p. 569, 2006. Use of Essential Oils in Agriculture (PDF Download Available). Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/296484575> Use of Essential Oils in Agriculture> [acesso 8 Maio, 2017].

DAN, Y.; LIU, H.Y.; GAO, W.W.; CHEN, S.L. Activities of essential oils from *Asarum heterotropoides* var. *mandshuricum* against five phytopathogens. **Crop Protection**. v.29, p.295-299, 2010.

DE LA ROSA, L. A.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; GONZALEZ-AGUILAR, G. A. **Fruit and vegetable phytochemicals: chemistry, nutritional value and stability**. 1ª ed. Wiley-Blackwell. Iowa, USA, v.1, p. 382, 2010. Use of Essential Oils in Agriculture (PDF

Download Available). Disponível em:

<https://www.researchgate.net/publication/296484575> Use of Essential Oils in Agriculture . Acesso em 8 Maio, 2017.

DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seeds lots. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.1, n.2, p.427-452, 2002.

DEVLIEGHIERE, F.; VERMEULEN, A.; DEBEVERE, J. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. **Food Microbiology**, London, v. 421, p. 703-714, 2004.

DEVI, S. B. et al. In vitro effect of lemongrass oil on the mycelial growth of *Rhizoctonia solani*. **Indian Phytopathology**, n. 4, v. 35, p. 714-6, 2002.

DHINGRA, O. D. Teoria da transmissão de patógenos fúngicos por sementes. In: ZAMBORLIM, L. (org). **Sementes: Qualidade Fitossanitária**. Viçosa, UFV. p.75-112, 2005.

DORAN, J. C.; BROPHY, J. J. Tropical red gums: a source of 1,8-cineole-rich Eucalyptus oil. *New Forest*, **Dordrecht**, n. 4, p. 157-178, 1990.

DOS SANTOS, G.R. et al. Efeito de óleos essenciais de plantas medicinais sobre a helmintosporiose do capim Tanzânia. **Revista Ciência Agronômica**, v.44, n.3, p.587-593, 2013.

ELLIS, R.H. The effects of differences in seed quality resulting from priming or deterioration on the relative growth rate of onion seedlings. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.253, p.203-212, 1989.

FAEP - Federação da Agricultura do Estado do Paraná. **Boletim Informativo nº 932**, semana de 16 a 22 de outubro de 2006.

FARIA, T.J. et al. Antifungal Activity of Essential Oil Isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against Phytopathogenic Fungi. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.49, n.6, p. 867-71, 2012.

FARIA, T.J. et al. Antifungal Activity of Essential Oil Isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against Phytopathogenic Fungi. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.49, n.6, p. 867-71, 2012.

FARONI, D.A.R.L. Fatores que influenciam a qualidade dos grãos armazenados, 2008. p.1-15. **Universidade Federal de Viçosa**.

FIORI, A. C. G.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; VIDA, J. B.; SCAPIM, C. A.; CRUZ, M. E. S. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*, **Journal of Phytopathology**, v.148, p.483-487, 2000.

FERNANDES Anais da III Jornada Científica - Embrapa São Carlos - 10 e 11 de novembro de 2011. **Embrapa Pecuária Sudeste e Embrapa Instrumentação** - São Carlos - SP – Brasil. Preparação de filmes de zeína com adição de nanofibras de celulose.

FERREIRA, D. F. Sisvar - sistema de análise de variância para dados balanceados. Lavras: **UFLA**, 2006. 19 p.

FILHO. Marcos Filho, Julio. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Piracicaba: Fealq, 2009. 495p. **Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz**, v. 12.

FORATO, L. A. Estudo das estruturas das zeínas por RMN, FTIR e MFA. 2000. **Tese (Doutorado)** Instituto de Química de São Carlos, USP, São Carlos.

FORTI, V. A.; CICERO, S. M.; PINTO, T. L. F. Avaliação da evolução de danos por 'umidade' e redução do vigor em sementes de soja, cultivar TMG 113-RR, durante o armazenamento, utilizando imagens de raio X e testes de potencial fisiológico. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, p.123- 133, 2010.

FRANZENER, G.; STANGARLIN, J. R.; SCHWANESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S. Atividade antifúngica e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia 103 camphorata*. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.25, p.503-507, 2003.

FRANZENER, G.; MOURA, G. S.; MEINERZ, C. C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R. Extrato aquoso de *Corymbia citriodora* no controle alternativo da antracnose em pepino e do cretamento bacteriano em feijão. **In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROPECUÁRIA**, 7. 2011, Fortaleza. Anais... Ceará: Cadernos de Agroecologia, 2011. p. 1-5.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S.S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; BERTI, E.F.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIN, J.D. **Manual de Entomologia Agrícola**. 2ª ed., Ed. Agronômica Ceres, São Paulo, 649 pp., 1988.

GARCIA, R. et al. Antimicrobial activity and potential use of monoterpenes as tropical fruits preservatives. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.39, n.1, p.163-68, 2008.

GUIMARÃES, L.G.L. et al. Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf). **Química Nova**, v.31, n.6, p.1476-80, 2008.

- GUIMARÃES, G.L. et al. Atividades antioxidante e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do citral. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 464-472, abr-jun, 2011.
- GILLES, M.; ZHAO, J.; AN, M.; AGBOOLA, S. Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian Eucalyptus species. **Food Chemistry**. v.119, p.731-737, 2010.
- GOLDFARB, M.; QUEIROGA, V. DE P. Considerações sobre o armazenamento de sementes. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v.7, p.71-74, 2013.
- GOVINDACHARI, T.R.; Suresh, G.; Gopalakrishnan, G.; Banumathy, B.; Masilamani, S. Identification of antifungal compounds from the seed oil of *Azadirachta indica*. **Phytoparasitica, Bet Dagan**, v.26, n.2, p.109-116, 2013.
- GUEDES, S. R.; URSULINO, E. A.; GONÇALVES, P.E.; VIANA, S.J.; MEDEIROS, S.M.; LIMA, R.C. Teste de comprimento de plântula na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Erythrina velutina* Willd Seedling length test in the evaluation of the physiological quality of *Erythrina velutina* Willd seeds. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 4, p. 793-802, out./dez. 2009.
- GRIFFIN, H. D. – **Fungal physiology**. 2 a.Ed. John Willey & Sons, 1994.
- HAMEED, A. FREED, S.; HUSSAIN, A. Toxicological effects of nem (*Azadirachta indica*) on the red flour beetle (*Tribolium castaneum*). **Africal Journal of Agricultural Research**. V. 7.P 555-560, 2012.
- HARRINGTON, J. Packaging seed for storage and shipment. **Seed Science & Technology**, Zürich, v.1, n.3, p.701-709, 1973.
- HENNING, A.A. **Patologia e tratamento de sementes: Noções gerais**. 2.ed. Londrina: Embrapa soja, 2005.52p.
- HUSSAIN, A.; ANWAR, F.; NIGAM, P.S.; ASHRAF, M.; GILANI, A.H. Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.90, p.1827-1836, 2010.
- ISTA-INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **Handbook on seed testing**. Zurich: Working sheets, Section 2, 1981.
- JARDINETTI, A, V.; CRUZ, S, E, M.; MAIA, J. A.; OLIVEIRA, B. S.; SANTOS, M. E. Efeito de óleos essenciais no controle de patógenos e na germinação de sementes de milho (*zea mays*). **VIII EPCC – Encontro Internacional de Produção científica Cesumar**.CESUMAR – Centro Universitário de Maringá. Editora CESUMAR Maringá – Paraná – Brasil. 2011.
- KAGALE, S. et al. Antimicrobial activity and induction of systemic resistance in rice by leaf extract of *Datura metel* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.65, n.2, p.91-100, 2004.

- KESTER, J.J.; FENNEMA, O.R. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**, v. 40, n. 12, p. 47-59, 1986.
- KETOH, G.K.; GLITHO, A.I.; HUIGNARD, J. Susceptibility of the bruchid and its parasitoid to three essential oils. **Journal of economic Entomology**, Lanham, v. 95, n.1, p. 174-184, Jan. 2002.
- KLEEN, D.; PADUA, G. W.; ENGESETH, N. Stabilization of lipids in a biodegradable zein-oleate film by incorporation of antioxidants. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 79, n. 1-6, p.687-694, 2002.
- KELEN, M.; TEPE, B. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. **Bioresource Technology**, v.99, p.4096-4104, 2008.
- KOFFI, K.; KOMLA, S.; CATHERINE, G.; CHRISTINE, R.; JEAN-PIERRE, C.; LAURENCE, N. In vitro cytotoxic activity of *Cymbopogon citratus* L. and *Cymbopogon nardus* L. essential oils from Togo. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v.4, p.29-34, 2009.
- KROCHTA, J.M; MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**, Chicago, v.51, n. 2, p. 61-74, 1997.
- KRYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B. Vigor de sementes. Informativo **Abrates**. Volume 1 n° 3, 2010.
- LAZAROTTO, M. Termoterapia via calor seco no tratamento de sementes de *Cedrela fissilis* Vell - Meliaceae. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.4, n.2, p.730-733, 2009.
- LIN, S.S. Alterações na lixiviação eletrolítica, germinação e vigor da semente de feijão envelhecida sob alta umidade relativa do ar e alta temperatura. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v.2, n.2, p.1-6, 1990.
- LORENZETTI, E.R. et al. Bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morangueiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, especial, p.619-627, 2011.
- LORINI, I. Roteiro do manejo integrado de pragas de grãos armazenados. Disponível em: [http < www.cnpt.embrapa.br/pesquisa/entomologia](http://www.cnpt.embrapa.br/pesquisa/entomologia) . 20 de Maio de 2012.
- LUZ, W. C. - Diagnóstico e controle de doenças da espiga de milho no Brasil. **Circular Técnica**. Centro Nacional de Pesquisa do Trigo, Passo Fundo. n.5, p.1-2, 1995.
- MAIA, L. G. S.; SILVA, C. A.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. DE F. B. Variabilidade genética associada à germinação e vigor de sementes de linhagens de feijoeiro comum. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.361-367, 2011.
- MACEDO, E.C.; GROTH, D.; SOAVE, J. Influência da embalagem do armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de arroz. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 21, n.1, p.67-65, 2009.

- MACIEL, M.V.; MORAIS, S.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; SILVA, R.A.; BARROS, R.S.; SOUSA, R.N.; SOUSA, L.C.; MACHADO, L.K.A.; BRITO, E.S.; SOUZA-NETO, M.A. Atividade Inseticida *in Vitro* do Óleo de Sementes de Nim Sobre *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v.19, n.1, p. 7-11. 2010
- MACHADO, C.J.; WALKIL, M.J.; SANTOS, M.J.; Tratamento de sementes no controle de fitopatógenos e pragas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.27, n.232, p.76-87, maio/jun. 2006.
- MALLOZZI, M.A. B., CORREA, B. – Fungos toxigênicos e micotoxinas. Bol. Técn. **Inst. Biol.**, São Paulo, n.2, p.5-26, jul.1998.
- MARCOS FILHO, J. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Piracicaba: Fealq, 2005.
- MARCOS FILHO, J.; SILVA, W.R.; NOVENBRE, A.D.C. Estudo comparativo de métodos para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja, com ênfase ao teste de condutividade elétrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.25, n.12, p.1805-1815, 2017.
- MARTINEZ, S. S. O Nim – *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção. Londrina: **Instituto Agrônomo do Paraná**, 2012. 142p.
- MARTINS, P. M. et al. Influencia da temperatura e velocidade do ar de secagem no teor e composicao quimica do oleo essencial de capim-limao. **Acta Horticulture**, v. 569, p. 155-160, 2015.
- MATTHEWS, S. Physiology of seed ageing. **Outlook on Agriculture**, London, v.14, n. 2, p. 89-94, 1985.
- MEDEIROS, D.G.; COSTA, A.F Identificação e controle de fungos entomopatogênicos presentes em uma coleção entomológica. **Multitemas**, Campo Grande-MS, n. 35, p. 179-188, dez. 2007.
- MENTEN, J. O. M. - Prejuízos causados por patógenos associados às sementes. IN: Patógenos em Sementes: Detecção, danos e controle químico. São Paulo, **CibaAgro**, 1995. p. 115-136.
- MILLS, J. T. - Insects-fungus associations influencing seed deterioration. **Phytopathology**. St. Paul. v. 73, n. 2, p. 330-335, 1983.
- MORAES, M. H. D. & MENTEN, J. O. M. Transmissão de *Alternaria* spp através de sementes de feijão e seu efeito sobre a qualidade fisiológica das sementes. **Summa Phytopathology**. Botucatu. Vol. 32.n 4. Setembro, 2006.
- MORAIS, L.A.S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**. Hort. bras., v. 27, n. 2 (Suplemento - CD Rom), agosto 2009.

- MORAIS LAS; RAMOS NP; GONÇALVES GG; BETIOL W; CHAVES FCM. Atividade antifúngica de óleos essenciais em sementes de feijão cv. carioquinha. **Horticultura Brasileira** 26: 6261-626, 2011.
- MOSSINI, S.A.G.; KEMMELMEIER, C. A árvore Nim (*Azadirachta indica*. A. Juss.): múltiplos usos. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v.24, n.1, p.139-148, 2006.
- MOTOYAMA, M.M. et al. Efeito antimicrobiano de extrato cítrico sobre *Ralstonia solanacearum* e *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis*. **Acta Scientiarum**, v.25, n.2, p.509-512, 2003.
- MUMCUOGLU, K. Y. et al. Repellency of citronella for head lice: double-blind randomized trial of efficacy and safety. **Israel Medical Association Journal**, v. 06, n. 12, p. 756-759, 2004.
- MUNIZ, M.F.B. Controle de microrganismos associados às sementes de tomate através do uso do calor seco. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.1, p.276-280, 2001.
- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1999. p. 49-85.
- NASCIMENTO, W. M. Tecnologia de Sementes de Hortaliças. 1. ed. Brasília: **Embrapa Hortaliças**, 2009. 431p.
- NEERGAARD, P. - **Seed Pathology**. London: Macmillan, 1979. 839 p.
- NERI, F.; MARI, M.; BRIGATI, S. Control of *Penicillium expansum* by plant volatile compounds. **Plant Pathology**, v. 55, n. 1, p. 100-5, 2006.
- NEVES, E.J.M.; CARPANEZZI, A.A. O Cultivo do Nim para a Produção de Frutos no Brasil. **Circular Técnica EMBRAPA Florestas**. Colombo PR. 2008.
- NGUEFACK, J. et al. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n.3, p. 329-34, 2014.
- NGUEFACK, J.; NGUIKWIE, S.K.; FOTIO, D.; DONGMO, B.; AMVAM ZOLLO, P.H. Fungicidal potential of essential oils and fractions from *Cymbopogon citrates*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* to control *Alternaria padwickii* and *Bipolaris oryzae*, two seed-borne fungi of rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Essential Oil Research**, v.19, p.581-587, 2007.
- OLIVEIRA, F.A.; SOLDI, V. Preparação, caracterização e propriedades de filmes poliméricos com potencial aplicação no recobrimento de sementes. **Quim. Nova**, Vol. 32, No. 7, 1845-1849, 2009.
- OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; CARDOSO, M. G.; GUIMARÃES, L. G. L.; PICCOLI, R.H. Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de *Cymbopogon*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 1, p. 8-16, out. 2011.

- OLIVEIRA, J. V.; VENDRAMIN, J. D. AND HADDAD, M. L. Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão em grãos armazenados. **Revista Agrícola**, v. 74, n. 2, p. 217-227, 2015.
- OOTANI, A.M.; BRITO, R. D.; MACIEL, S.P. G.; LOPES, A.L.; AGUIAR, S. W.R. Efeito de óleos essenciais e composto citronelal sobre a micoflora de sementes de feijão armazenadas. Effect of essential oils and citronellal compound on bean seeds stored microflora. **Revista Verde** (Pombal - PB) v. 11, n.1, p.49-56, jan.-mar., 2016.
- ONO, E. Y. S. et al. – Microbiota fúngica em amostras de milho da Região Sul do Paraná. IN: **Congresso de Milho e Sorgo**, 1996.
- PÁDUA, G.P. Vigor de sementes e seus possíveis efeitos sobre a emergência em campo e a produtividade. Informativo **ABRATES**, Londrina, v. 8, n. 1/2/3, p.46-48, 1998.
- PARISI, J.J.; MEDINA, F.P; Tratamento de sementes e Fitossanidade. **Instituto Agrônomo de Campinas**. Campinas. 2013.
- PEREIRA, O. P. – Tratamento de sementes de milho no Brasil. IN: Patógenos em sementes: Detecção, danos e controle químico. São Paulo. **CibaAgro**, 321p. 1995.
- PEREIRA, C. E.; OLIVEIRA, J. A.; EVANGELISTA, J. R. E.; **Ciênc. Agrotec.** **2005**, 29, 1201.
- 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-MG. v.35, n.1, p.115-123, 2011.
- PIRES, L. L.; BRAGANTINI, C.; COSTA, J. L. S.; **Pesq. Agropec. Bras.** **2004**, 39, 709.
- POPINIGIS, F. – **Fisiologia da semente**. 2ª Ed. Brasília, 1985. 289p.
- PUZZI, D. – Abastecimento e Armazenagem de Grãos. **Instituto Campineiro de Ensino Agrícola**. 2000. 660p.
- QUEIROGA, M. de F.C.; GOMES, J. P.; ALMEIDA F. de A. C. PESSOA. Aplicação de óleo no controle de *Zabrotes subfasciatus* e na germinação de *Phaseolus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, V.16. p. 777-783, 2012
- QUINTELA, E. D. & PINHEIRO, P.V. 2004. **Efeito de extratos botânicos sobre a oviposição de Bemisia tabaci biótipo B em feijoeiro**. Comunicado Técnico 92, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO. 6p.
- RASOOLI, I.; REZAEI, M. B.; ALLAMEH, A. Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-porlock*. **Food Control**. v.17, p.359-364, 2006.
- REIS, G. G. et al. Estudo do efeito da secagem em convecção natural e forçada na composição do óleo essencial da citronela (*Cymbopogon nardus*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 08, n. 04, p. 47-55, 2006.

RIBEIRO, F. DE A.; CORREIA, T.R.; FERNANDES, J.I.; MELO, R.M.P. DOS S.; VIEIRA, V.P.DA C.; BEZERRA, L. DE L.; SCOTT, F.B. Atividade do Extrato de Nim Sobre o Desenvolvimento Embrionário de *Ctenocephalides felis felis* (Buché, 1835) (SIPHONAPTERA: PULICIDAE). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 17, supl. 1, 87-91 (2008) (Brazil, J. Vet. Parasitol.).

SANTOS, M. R. A.; LIMA, R. A.; FERNANDES, C. F.; Silva, A. G.; LIMA, D. K. S.; TEIXEIRA, C. A. D.; eira, C. A. D.; FACUNDO, V. A Atividade Inseticida do Óleo Essencial de *Schinus terebinthifolius* *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre *Acanthoscelides obtectus* Say e *Zabrotes subfasciatus* *Zabrotes subfasciatus* Boheman. **Revista Fitos** Vol.3 Nº01 março 2007.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. (Org.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. Florianópolis: Ed. da UFSC; Porto Alegre: Ed. da UFRGS, p.403-434, 2004. *Use of Essential Oils in Agriculture (PDF Download Available)*. Disponível em : <<https://www.researchgate.net/publication/296484575> Use of Essential Oils in Agriculture> acesso em 04 Abril de 2017.

SANTOS, M. B.; SANTOS, C. Y.; ALMEIDA, M. A.; SANTOS, C. R. S.; SANT'ANNA, H. L. S.; SANTOS, O. S. N.; SILVA, F.; MARTINS, G. N. Efeito inibitório *in vitro* de extrato vegetal de *Allium sativum* sobre *Aspergillus niger* Tiegh. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 13-17, out. 2010.

SARMENTO-BRUM, R. B. C. et al. Avaliação *in vitro* de diferentes métodos de análises de fungitoxicidade de óleos essenciais. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 29, n. 3, p. 623-626, May/June 2013.

SAROYA, A. S. Herbalism, Phytochemistry and Ethnopharmacology. Published by Science Publishers, P.O. Box 699, Enfield, NH 03748, USA, v.1. p. 411 2010.

SEIXAS, P.T.L; CASTRO, H.C; SANTOS, G.R; CARDOSO, D.P. Controle fitopatológico do *Fusarium subglutinans* pelo óleo essencial do capim-citronela (*Cymbopogon nardus* L.) e do composto citronelal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.13, p.513-517, 2011.

SIDDIQUI, B. S; AFSHAN, F.; GULZAR, T.; SULTANA, R.; NAQVI, S. N.; TARIQ, R. M. Tetracyclic Triterpenoids from the Leaves of *Azadirachta indica* and Their Insecticidal Activities. **Chem. Pharm. Bull.** v. 51, n. 4, 415-417.2013.

SILVA, S.A.; MARCOS FILHO, J.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de comprimento de plântulas para avaliação do vigor de sementes de trigo. 2012.

SILVA, A.C. et al. Efeito *in vitro* de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*: Isolado do maracujazeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, n.esp. p.1853-60, 2009.

SILVA, S.F.; PORTO G.A.; PASCUALI, C.A.; SILVA, C. T. Viabilidade do armazenamento de sementes em diferentes embalagens para pequenas propriedades rurais. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, Alta Floresta, v.8, n.1, p.45- 56, 2010.

SILVA, R.M. et al. Influência de polímeros naturais no recobrimento de sementes forrageiras para utilização em sistemas integrados de produção. 9a Jornada Científica **Embrapa Gado de Corte**. Campo Grande, MS. 2013.

SILVA, G.C.; SANTOS, C.C.; GOMES, D.P. Incidência de fungos e germinação de sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. (Walp) tratadas com óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.16, n.4, p.850-855, 2014.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 1999. Cap.18, p.387-416.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER. Óleos voláteis. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2 ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Universidade Federal de Santa Catarina, USFC, P.394-412, 2000.

SINGH, H.; GUPTA, V.K.; RAO, M.M.; SANND, R.; MANGAL, A.K. Evaluation of essential oil composition of *Cymbopogon* spp. **International Journal of Pharma Recent Research**, v.3, p.40-43, 2011.

SOLDI, V.; OLIVEIRA, F.A. Preparação, caracterização e propriedades de filmes poliméricos com potencial aplicação no recobrimento de sementes. **Quim. Nova**, Vol. 32, No. 7, 1845-1849, 2009.

SOUZA VC, LORENZI H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: **Plantarum**.2005.

SOUZA, E.L. et al. Inhibitory Action of Some Essential Oils and Phytochemicals on the Growth of Various Moulds Isolated From Foods. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.48, n.2, p.245-250, 2005.

SOUZA, A.E.F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L.C. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n.6, p. 965-971, Nov/dez. 2007.

SOUJA JÚNIOR, I.T. et al. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Biotemas**, v.22, n.3, p.77-83, 2009.

SOUZA, A.P.; MARQUES, M.R.; MAHMOUDE, T.S.; Inseticidal effects of extracts from native plant to Mato Grosso do Sul, Brazil. **Bio Assay**, V.5, P1-5, 2010.

SCORTICHINI, M.; ROSSI, M.P. Preliminary in vitro evaluation of the antimicrobial activity of terfenes and terfenoids Towards *Erwinia amybovora* (Burril). Journal of **Applied Bacteriology**, New York, v. 71, n. 2, p. 109-112, 2001.

SCHNITZLER, P.; KOCH, C.; REICHLING, J. Susceptibility of drug-resistant clinical HSV-1 strains to essential oils of Ginger, Thyme, Hyssop and Sandalwood. **Antimicrobial agents and chemotherapy** 51: 1859-1862, 2007.

SCHUMACHER, M.; CERELLA, C.; REUTER, S.; DICATO, M.; DIEDERICH, M. Antiinflammatory, Pro-apoptotic, and Anti-proliferative Effects of a Methanolic Neem.

(*Azadirachta indica*) Leaf Extract are Mediated Via Modulation of The Nuclear Factor- κ B Pathway. **Genes Nutrition**, 6: 149-160, 2011.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed.). Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. Piracicaba: **FEALQ**, c.5, p.125-138, 2005.

TEIXEIRA, G. A. Potencialidade do tratamento de sementes com óleos essenciais no patossistema *Stenocarpella maydis* em milho. **Dissertação de Mestrado. UFLA**, 2011.

THORMAR, H. Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents. John Wiley & Sons Ltd, London, p. 338, 2012.

TRONGTOKIT, Y. et al. Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. **Phytotherapy Research**, v. 19, n. 04, p. 303-309, 2005.

VANZOLINI, S.; ARAKI, S.C.A.; SILVA, M.T.C.A.; NAKAGAWA, J. Teste de comprimento de plântula na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 29, nº 2, p.90-96, 2007.

VERZIGNASSI, J.R., COELHO, M.B., ASSIS, O.B.G., FERNANDES, C.D., TOZIN, L.R.S., FURTADO, R.S., KICHEL, A.N., MACEDO, M.C.M., ALMEIDA, R.G., ZIMMER, A.H., MIRANDA, J.C.P., JESUS, L. Revestimento de sementes de forrageiras tropicais com polímeros para o atraso na germinação em sistemas de integração lavoura-pecuária. In: **Reunião Anual do Instituto Biológico**, 23. 2010, São Paulo. Anais... São Paulo: Instituto Biológico, 2010.

VIANA, A.P.; PRATES, T. H.; PAULO, E. A.R. Uso do Extrato Aquoso de Folhas de NIM para o Controle de *Spodoptera frugiperda* na Cultura do Milho. **Circular técnica nº88**. MAPA. 2006.

VIEIRA RD; KRZYZANOWSKI FC (1999). Teste de vigor baseado no desempenho das plântulas. In: Krzyzanowski FC, Vieira RD, França-Neto JB (Eds.) Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: **ABRATES**, cap. Four: 4-26.

VIEIRA A.V. Influência do espaçamento, altura de corte e idade de primeiro corte na produtividade de capim santo. Fortaleza, 38p. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal do Ceará. 2006.

VIEIRA, E.H.N.; YOKOYAMA, M. Colheita, processamento e armazenamento. In: VIEIRA, E.H.N.; RAVA, C.A. Sementes de feijão - produção e tecnologia. Santo Antonio de Goiás: **EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO**, 2010. p. 233-248.

WETZEL, M.M.V.S. – Fungos de Armazenamento. IN: Patologia de Sementes. Ed. Jacinto Soave e Maria Magaly Velloso da Silva Wetzels. Campinas. **Fundação CARGILL**, 2007. p. 562-568.

WINK, M. AND VAN WYK, B. E. (eds) Mind- Altering and Poisonous Plants of the World. Timber, Portland, OR. p. 464, 2008.

WONG, K. K. Y. et al. Citronella as an insect repellent in food packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 11, p. 4633-4636, 2005.

ZAMBONELLI, A.; AULERIO, A.Z.; BIANCHI, A.; ALBASINI, A. Effects of essential oils on phytopathogenic fungi *in vitro*. **Journal of Phytopathology**. Berlim. v.144, p.491-494, 1996.

ZUCARELI, C.; BREZEZINSKI, R.C.; ABATI, F.W.; RAMOS JÚNIOR, U.E.; NAKAGAWA, J. Qualidade fisiológica de sementes de feijão carioca armazenadas em diferentes ambientes. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** Campina Grande, PB, UAEEA/UFCG v.19, n.8, p.803–809, 2015.

13 ANEXO

Capítulo 1-Uso de óleos essenciais e vegetal no tratamento e armazenamento de sementes de feijão-vagem

Tabela de Análise de Variância (ANAVA) da variável porcentagem de fungos (%) em sementes de feijão-vagem (qualidade fitossanitária inicial das sementes). Os dados foram transformados em raiz ($x+0,5$).

Tabela de análise de variância

Fusarium sp.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	31.051485	6.210297	61.943	0.0000
erro	18	1.804661	0.100259		
Total corrigido	23	32.856146			
CV (%) =	15.13				
Média geral:	2.0930824	Número de observações:		24	

Tabela de análise de variância

Aspergillus sp.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	26.652921	5.330584	1133.805	0.0000
erro	18	0.084627	0.004702		
Total corrigido	23	26.737548			
CV (%) =	2.33				
Média geral:	2.9386962	Número de observações:		24	

Tabela de análise de variância

Penicillium sp.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	30.872091	6.174418	259.125	0.0000
erro	18	0.428903	0.023828		
Total corrigido	23	31.300994			
CV (%) =	5.61				
Média geral:	2.7515072	Número de observações:		24	

Tabela de análise de variância

Cladosporium sp.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	49.205242	9.841048	89.542	0.0000
erro	18	1.978278	0.109904		
Total corrigido	23	51.183520			
CV (%) =	15.94				

Média geral: 2.0798285 Número de observações: 24

Tabela de Análise de Variância (ANAVA) da variável crescimento micelial de *Penicillium* sp. x Capim limão.

Tabela de análise de variância
Variável analisada: Dia 3
Penicillium sp. dia 3/Capim limão

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	5.550667	1.387667	118.943	0.0000
erro	10	0.116667	0.011667		
Total corrigido	14	5.667333			
CV (%) =	21.75				
Média geral:	0.4966667	Número de observações:		15	

Tabela de análise de variância
Variável analisada: Dia 4
Penicillium sp. dia 4/Capim limão

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	12.545667	3.136417	148.177	0.0000
erro	10	0.211667	0.021167		
Total corrigido	14	12.757333			
CV (%) =	19.48				
Média geral:	0.7466667	Número de observações:		15	

Tabela de análise de variância
Variável analisada: Dia 5
Penicillium sp. dia 5/Capim limão

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	20.022667	5.005667	341.295	0.0000
erro	10	0.146667	0.014667		
Total corrigido	14	20.169333			
CV (%) =	12.84				
Média geral:	0.9433333	Número de observações:		15	

Tabela de análise de variância
Variável analisada: Dia 6
Penicillium sp. dia 6/Capim limão

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	29.412667	7.353167	393.920	0.0000
erro	10	0.186667	0.018667		
Total corrigido	14	29.599333			
CV (%) =	11.95				
Média geral:	1.1433333	Número de observações:		15	

Tabela de análise de variância
Variável analisada: Dia 7
***Penicillium* sp. dia 7/Capim limão**

Opção de transformação: Variável sem transformação (Y)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	44.330667	11.082667	511.508	0.0000
erro	10	0.216667	0.021667		
Total corrigido	14	44.547333			
CV (%) =	10.49				
Média geral:	1.4033333	Número de observações:		15	

Tabela de Análise de Variância (ANAVA) da variável crescimento micelial de *Penicillium* sp. x Citronela.

Tabela de análise de variância
Variável analisada: Dia 3
***Penicillium* sp. dia 3/Citronela**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	5.550667	1.387667	118.943	0.0000
erro	10	0.116667	0.011667		
Total corrigido	14	5.667333			
CV (%) =	21.75				
Média geral:	0.4966667	Número de observações:		15	

Tabela de análise de variância
Variável analisada: Dia 4
***Penicillium* sp. dia 4/Citronela**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	12.545667	3.136417	148.177	0.0000
erro	10	0.211667	0.021167		
Total corrigido	14	12.757333			
CV (%) =	19.48				

Média geral: 0.7466667 Número de observações: 15

Tabela de análise de variância
Variável analisada: Dia 5
Penicillium sp. dia 5/Citronela

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	20.022667	5.005667	341.295	0.0000
erro	10	0.146667	0.014667		
Total corrigido	14	20.169333			
CV (%) =	12.84				
Média geral:	0.9433333	Número de observações:	15		

Tabela de análise de variância
Variável analisada: Dia 6
Penicillium sp. dia 6/Citronela

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	29.412667	7.353167	393.920	0.0000
erro	10	0.186667	0.018667		
Total corrigido	14	29.599333			
CV (%) =	11.95				
Média geral:	1.1433333	Número de observações:	15		

Tabela de análise de variância
Variável analisada: Dia 7
Penicillium sp. dia 7/Citronela

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	44.330667	11.082667	511.508	0.0000
erro	10	0.216667	0.021667		
Total corrigido	14	44.547333			
CV (%) =	10.49				
Média geral:	1.4033333	Número de observações:	15		

Tabela de Análise de Variância (ANAVA) da variável crescimento micelial de *Aspergillus* sp. x Capim limão.

Tabela de análise de variância
Variável analisada: Dia 3
Aspergillus sp. dia 3/Capim limão

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	19.457333	4.864333	23.962	0.0000
erro	10	2.030000	0.203000		
Total corrigido	14	21.487333			
CV (%) =	40.84				
Média geral:	1.1033333	Número de observações:		15	

Tabela de análise de variância
Variável analisada: Dia 4
***Aspergillus* sp. dia 4/Capim limão**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	32.106000	8.026500	35.700	0.0000
erro	10	2.248333	0.224833		
Total corrigido	14	34.354333			
CV (%) =	28.62				
Média geral:	1.6566667	Número de observações:		15	

Tabela de análise de variância
Variável analisada: Dia 5
***Aspergillus* sp. dia 5/Capim limão**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	50.402667	12.600667	39.834	0.0000
erro	10	3.163333	0.316333		
Total corrigido	14	53.566000			
CV (%) =	26.28				
Média geral:	2.1400000	Número de observações:		15	

Tabela de análise de variância
Variável analisada: Dia 6
***Aspergillus* sp. dia 6/Capim limão**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	71.790667	17.947667	44.963	0.0000
erro	10	3.991667	0.399167		
Total corrigido	14	75.782333			
CV (%) =	24.27				
Média geral:	2.6033333	Número de observações:		15	

Tabela de análise de variância
Variável analisada: Dia 7
***Aspergillus* sp. dia 7/Capim limão**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	96.869000	24.217250	44.449	0.0000
erro	10	5.448333	0.544833		
Total corrigido	14	102.317333			
CV (%) =	23.91				
Média geral:	3.0866667	Número de observações:		15	

Tabela de Análise de Variância (ANAVA) da variável crescimento micelial de *Aspergillus* sp. x Citronela.

Tabela de análise de variância

Variável analisada: Dia 3

Aspergillus sp. dia 3/Citronela

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	3.910000	0.977500	1173.000	0.0000
erro	10	0.008333	0.000833		
Total corrigido	14	3.918333			
CV (%) =	6.93				
Média geral:	0.4166667	Número de observações:		15	

Tabela de análise de variância

Variável analisada: Dia 4

Aspergillus sp. dia 4/Citronela

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	6.056667	1.514167	567.813	0.0000
erro	10	0.026667	0.002667		
Total corrigido	14	6.083333			
CV (%) =	9.99				
Média geral:	0.5166667	Número de observações:		15	

Tabela de análise de variância

Variável analisada: Dia 5

Aspergillus sp. dia 5/Citronela

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	9.575667	2.393917	334.035	0.0000
erro	10	0.071667	0.007167		
Total corrigido	14	9.647333			
CV (%) =	13.09				

Média geral: 0.6466667 Número de observações: 15

Tabela de análise de variância
Variável analisada: Dia 6
Aspergillus sp. dia 6/Citronela

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	12.981667	3.245417	423.315	0.0000
erro	10	0.076667	0.007667		
Total corrigido	14	13.058333			
CV (%) =	11.94				
Média geral:	0.7333333	Número de observações:	15		

Tabela de análise de variância
Variável analisada: Dia 7
Aspergillus sp. dia 7/Citronela

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	4	21.777667	5.444417	379.843	0.0000
erro	10	0.143333	0.014333		
Total corrigido	14	21.921000			
CV (%) =	12.47				
Média geral:	0.9600000	Número de observações:	15		

Efeito do tratamento de sementes com óleos essenciais e vegetal sobre potencial fisiológico das sementes e a incidência de fungos o longo do armazenamento.

Variável analisada: **Primeira contagem**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO	6	22975.619048	3829.269841	50.554	0.0000*
TRATAMENTO	5	7244.190476	1448.838095	19.128	0.0000*
TEMPO*TRATAMENTO	30	3155.809524	105.193651	1.389	0.1083
erro	126	9544.000000	75.746032		
Total corrigido	167	42919.619048			
CV (%) =	11.61				
Média geral:	74.9523810	Número de observações:	168		

*Significativo a 5% de probabilidade

Variável analisada: **Germinação**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
--------------------------------	--	--	--	--	--

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO	6	5243.809524	873.968254	20.154	0.0000*
TRATAMENTO	5	3072.000000	614.400000	14.168	0.0000*
TEMPO*TRATAMENTO	30	821.333333	27.377778	0.631	0.9279
erro	126	5464.000000	43.365079		
Total corrigido	167	14601.142857			
CV (%) =	7.61				
Média geral:	86.5714286	Número de observações:	168		

*Significativo a 5% de probabilidade

Variável analisada: Comprimento de plântulas

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO	6	219.269524	36.544921	71.255	0.0000*
TRATAMENTO	5	50.615298	10.123060	19.738	0.0000*
TEMPO*TRATAMENTO	30	26.712619	0.890421	1.736	0.0189
erro	126	64.622500	0.512877		
Total corrigido	167	361.219940			
CV (%) =	6.87				
Média geral:	10.4172619	Número de observações:	168		

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação tratamentos x períodos de armazenamento, para a variável comprimento de plântulas.

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	Fc	Pr>Fc
Tratamentos dentro de 0 meses	5	15.670000	3.134000	6.111	0.0000*
Tratamentos dentro de 2 meses	5	4.437083	0.887417	1.730	0.1320
Tratamentos dentro de 4 meses	5	10.142083	2.028417	3.955	0.0023*
Tratamentos dentro de 6 meses	5	11.283333	2.256667	4.400	0.0010*
Tratamentos dentro de 8 meses	5	6.328750	1.265750	2.468	0.0359*
Tratamentos dentro de 10 meses	5	3.978333	0.795667	1.551	0.1783
Tratamentos dentro de 12 meses	5	25.488333	5.097667	9.939	0.0000*

Erro	126	64.622500	0.512877
------	-----	-----------	----------

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação períodos de armazenamento x tratamentos para a variável comprimento de plântulas.

Fonte de Variação	Grau de liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	Fc	Pr>Fc
Períodos dentro do tratamento 1	6	38.533571	6.422262	12.522	0.0000*
Períodos dentro do tratamento 2	6	36.389286	6.064881	11.825	0.0000*
Períodos dentro do tratamento 3	6	17.898571	2.983095	5.816	0.0000*
Períodos dentro do tratamento 4	6	51.660000	8.610000	16.788	0.0000*
Períodos dentro do tratamento 5	6	60.148571	10.024762	19.546	0.0000*
Períodos dentro do tratamento 6	6	41.352143	6.892024	13.438	0.0000*
Erro	126	64.622500	0.512877		

*Significativo a 5% de probabilidade

Variável analisada: **massa seca**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO	6	5167504.809524	861250.801587	20.311	0.0000*
TRATAMENTO	5	2194596.529762	438919.305952	10.351	0.0000*
TEMPO*TRATAMENTO	30	845145.761905	28171.525397	0.664	0.9030
erro	126	5342908.750000	42404.037698		
Total corrigido	167	13550155.851190			
CV (%) =	10.30				
Média geral:	1999.1369048	Número de observações:	168		

*Significativo a 5% de probabilidade

Variável analisada: **Infestação por insetos**

Opção de transformação: Raiz quadrada de Y + 0.5

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO	6	0.343960	0.057327	1.592	0.1547

TRATAMENTO	5	1.771426	0.354285	9.839	0.0000*
TEMPO*TRATAMENTO	30	0.465719	0.015524	0.431	0.9954
erro	126	4.536996	0.036008		

Total corrigido 167 7.118101

CV (%) = 23.79
Média geral: 0.7976226 Número de observações: 168

*Significativo a 5% de probabilidade

Variável analisada: Teor de água

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO	6	1.523289	0.253882	2.141	0.0532
TRATAMENTO	5	3.176832	0.635366	5.357	0.0002*
TEMPO*TRATAMENTO	30	5.391489	0.179716	1.515	0.0594
erro	126	14.944575	0.118608		

Total corrigido 167 25.036185

CV (%) = 3.13
Média geral: 11.0047024 Número de observações: 168

*Significativo a 5% de probabilidade

Avaliação da qualidade sanitária das sementes de feijão-vagem ao longo do armazenamento

Variável analisada: *Fusarium* sp. (Blotter test)

Opção de transformação: Raiz quadrada de Y + 0.5 - SQRT (Y + 0.5)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO	4	1.701397	0.425349	6.633	0.0001
TRATAMENTO	5	125.823297	25.164659	392.452	0.0000*
TEMPO*TRATAMENTO	20	9.901088	0.495054	7.721	0.0000*
erro	90	5.770953	0.064122		

Total corrigido 119 143.196735

CV (%) = 12.72
Média geral: 1.9912376 Número de observações: 120

*Significativo a 5% de probabilidade.

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação tratamentos x períodos de armazenamento, para a variável *Fusarium* sp., do Blotter test.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO /mês 0	5	31.051485	6.210297	96.852	0.0000*
TRATAMENTO /mês 2	5	18.426000	3.685200	57.472	0.0000*
TRATAMENTO /mês 4	5	13.726177	2.745235	42.813	0.0000*
TRATAMENTO /mês 6	5	31.152949	6.230590	97.168	0.0000*

TRATAMENTO /mês 8	5	41.367774	8.273555	129.029	0.0000*
Erro	90	5.770953	0.064122		

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação períodos de armazenamento x Tratamentos, para a variável *Fusarium* sp., do Blotter test.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO/Tratamento 1	4	4.598531	1.149633	17.929	0.0000*
TEMPO/Tratamento 2	4	4.015529	1.003882	15.656	0.0000*
TEMPO/TRATAMENTO 3	4	1.275875	0.318969	4.974	0.0011*
TEMPO/Tratamento 4	4	0.745395	0.186349	2.906	0.0258*
TEMPO/Tratamento 5	4	0.258932	0.064733	1.010	0.4062
TEMPO/Tratamento 6	4	0.708224	0.177056	2.761	0.0321*
Erro	90	5.770953	0.064122		

*Significativo a 5% de probabilidade

Variável analisada: *Aspergillus* sp. (Blotter test)

Opção de transformação: Raiz quadrada de $Y + 0.5 - \text{SQRT}(Y + 0.5)$

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO	4	12.991229	3.247807	206.295	0.0000*
TRATAMENTO	5	274.006909	54.801382	3480.883	0.0000*
TEMPO*TRATAMENTO	20	63.903737	3.195187	202.952	0.0000*
erro	90	1.416917	0.015744		

Total corrigido 119 352.318792

CV (%) = 4.56

Média geral: 2.7517891 Número de observações: 120

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação tratamentos x períodos de armazenamento, para a variável *Aspergillus* sp., do Blotter test.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO/Mês 0	5	14.693461	2.938692	186.660	0.0000*
TRATAMENTO/Mês 2	5	28.825885	5.765177	366.193	0.0000*
TRATAMENTO/Mês 4	5	85.757911	17.151582	1089.437	0.0000*
TRATAMENTO/Mês 6	5	98.431239	19.686248	1250.434	0.0000*
TRATAMENTO/Mês 8	5	110.202151	22.040430	1399.968	0.0000*
Erro	90	1.416917	0.015744		

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação períodos de armazenamento x Tratamentos, para a variável *Aspergillus* sp., do Blotter test.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO/Tratamento 1	4	12.593687	3.148422	199.982	0.0000*
TEMPO/Tratamento 2	4	19.257060	4.814265	305.793	0.0000*
TEMPO/Tratamento 3	4	8.669715	2.167429	137.671	0.0000*
TEMPO/Tratamento 4	4	20.355190	5.088797	323.231	0.0000*
TEMPO/Tratamento 5	4	14.158418	3.539605	224.829	0.0000*
TEMPO/Tratamento 6	4	1.860896	0.465224	29.550	0.0000*
Erro	90	1.416917	0.015744		

*Significativo a 5% de probabilidade

Variável analisada: *Penicillium sp.* (Blotter test)

Opção de transformação: Raiz quadrada de $Y + 0.5 - \text{SQRT}(Y + 0.5)$

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO	4	4.072564	1.018141	85.254	0.0000*
TRATAMENTO	5	338.476643	67.695329	5668.482	0.0000*
TEMPO*TRATAMENTO	20	59.063910	2.953196	247.286	0.0000*
erro	90	1.074817	0.011942		
Total corrigido	119	402.687935			
CV (%) =	4.12				
Média geral:	2.6509622	Número de observações:	120		

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação tratamentos x períodos de armazenamento, para a variável *Penicillium sp.*, do Blotter test.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO/Mês 0	5	22.510528	4.502106	376.985	0.0000*
TRATAMENTO/Mês 2	5	34.785730	6.957146	582.558	0.0000*
TRATAMENTO/Mês 4	5	87.835582	17.567116	1470.986	0.0000*
TRATAMENTO/Mês 6	5	126.211897	25.242379	2113.676	0.0000*
TRATAMENTO/Mês 8	5	126.196817	25.239363	2113.423	0.0000*
Erro	90	1.074817	0.011942		

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação períodos de armazenamento x Tratamentos, para a variável *Penicillium sp.*, do Blotter test.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO/Tratamento 1	4	16.516675	4.129169	345.757	0.0000*
TEMPO/Tratamento 2	4	15.122157	3.780539	316.564	0.0000*
TEMPO/Tratamento 3	4	8.670190	2.167548	181.500	0.0000*
TEMPO/Tratamento 4	4	6.279352	1.569838	131.451	0.0000*
TEMPO/Tratamento 5	4	15.797842	3.949461	330.709	0.0000*
TEMPO/Tratamento 6	4	0.750258	0.187564	15.706	0.0000*
Erro	90	1.074817	0.011942		

*Significativo a 5% de probabilidade

Variável analisada: *Cladosporium* sp. (Blotter test)

Opção de transformação: Raiz quadrada de $Y + 0.5 - \text{SQRT}(Y + 0.5)$

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO	4	39.452428	9.863107	804.484	0.0000*
TRATAMENTO	5	138.628174	27.725635	2261.439	0.0000*
TEMPO*TRATAMENTO	20	34.602665	1.730133	141.118	0.0000*
erro	90	1.103416	0.012260		

Total corrigido	119	213.786683			

CV (%) =	4.44				
Média geral:	2.4920094	Número de observações:	120		

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação tratamentos x períodos de armazenamento, para a variável *Cladosporium* sp., do Blotter test.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO/Mês 0	5	18.549812	3.709962	302.603	0.0000*
TRATAMENTO/Mês 2	5	46.912340	9.382468	765.280	0.0000*
TRATAMENTO/Mês 4	5	19.282872	3.856574	314.561	0.0000*
TRATAMENTO/Mês 6	5	50.745933	10.149187	827.818	0.0000*
TRATAMENTO/Mês 8	5	37.739883	7.547977	615.650	0.0000*
Erro	90	1.103416	0.012260		

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação períodos de armazenamento x Tratamentos, para a variável *Cladosporium* sp., do Blotter test.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO/Tratamento 1	4	7.631938	1.907984	155.625	0.0000*
TEMPO/Tratamento 2	4	5.858739	1.464685	119.467	0.0000*
TEMPO/Tratamento 3	4	11.731922	2.932981	239.228	0.0000*
TEMPO/Tratamento 4	4	35.465758	8.866439	723.190	0.0000*
TEMPO/Tratamento 5	4	8.999441	2.249860	183.510	0.0000*
TEMPO/Tratamento 6	4	4.367296	1.091824	89.055	0.0000*
Erro	90	1.103416	0.012260		

*Significativo a 5% de probabilidade

Capítulo 2-Avaliação da qualidade fisiológica das sementes de feijão-vagem revestidas com zeína em diferentes concentrações

Variável analisada: Teor de água

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
CONC*TRAT	4	4.096000	1.024000	4.804	0.0034*
erro	35	7.460000	0.213143		

Total corrigido	39	11.556000	
CV (%) =	4.09		
Média geral:	11.2900000	Número de observações:	40

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) do desdobramento: tratamentos x concentração zeína, para a variável teor de água.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT/Concentração 1	1	2.880000	2.880000	13.512	0.0008*
TRAT/Concentração 2	1	4.500000	4.500000	21.113	0.0001*
TRAT/Concentração 3	1	0.080000	0.080000	0.375	0.5441
TRAT/Concentração 4	1	0.000000	0.000000	0.000	1.0000
TRAT/Concentração 5	1	0.000000	0.000000	0.000	1.0000
Erro	35	7.460000	0.213143		

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) do desdobramento: concentração de zeína dentro de cada nível de tratamento, para a variável teor de água.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
CONC/Tratamento 1	4	0.000000	0.000000	0.000	1.0000
CONC/Tratamento 2	4	8.192000	2.048000	9.609	0.0000*
Erro	35	7.460000	0.213143		

*Significativo a 5% de probabilidade

Avaliação da qualidade fisiológica inicial das sementes após 24 horas de tratamento com diferentes concentrações de zeína.

Variável analisada: **Primeira contagem**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	3958.000000	791.600000	18.457	0.0000*
erro	18	772.000000	42.888889		
Total corrigido	23	4730.000000			
CV (%) =	10.15				
Média geral:	64.5000000	Número de observações:	24		

*Significativo a 5% de probabilidade

Variável analisada: **Germinação**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	1470.000000	294.000000	5.250	0.0038*
erro	18	1008.000000	56.000000		
Total corrigido	23	2478.000000			
CV (%) =	10.04				
Média geral:	74.5000000	Número de observações:		24	

*Significativo a 5% de probabilidade

Variável analisada: Comprimento de plântulas

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	38.328333	7.665667	40.053	0.0000*
erro	18	3.445000	0.191389		
Total corrigido	23	41.773333			
CV (%) =	5.53				
Média geral:	7.9166667	Número de observações:		24	

*Significativo a 5% de probabilidade

Variável analisada: Peso de massa seca

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	3048.752083	609.750417	19.997	0.0000*
erro	18	548.867500	30.492639		
Total corrigido	23	3597.619583			
CV (%) =	3.79				
Média geral:	145.7208333	Número de observações:		24	

*Significativo a 5% de probabilidade

Variável analisada: Teor de água

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	9.500000	1.900000	40.714	0.0000*
erro	18	0.840000	0.046667		
Total corrigido	23	10.340000			
CV (%) =	1.88				
Média geral:	11.5000000	Número de observações:		24	

*Significativo a 5% de probabilidade

Variável analisada: Infestação por insetos

Opção de transformação: Raiz quadrada de $Y + 0.5 - \text{SQRT}(Y + 0.5)$

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	0.100481	0.020096	0.600	0.7006
erro	18	0.602886	0.033494		
Total corrigido	23	0.703367			
CV (%) =	23.71				
Média geral:	0.7718115	Número de observações:	24		

Avaliação da qualidade fisiológica das sementes de feijão-vagem revestidas com a concentração de zeína a 5%, armazenadas por oito meses em dois ambientes distintos.

Variável analisada: **Primeira contagem**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO	4	2532.266667	633.066667	9.107	0.0000*
TRATAMENTO	2	1574.933333	787.466667	11.329	0.0001*
TEMPO*TRATAMENTO	8	331.733333	41.466667	0.597	0.7755
erro	45	3128.000000	69.511111		
Total corrigido	59	7566.933333			
CV (%) =	11.29				
Média geral:	73.8666667	Número de observações:	60		

*Significativo a 5% de probabilidade

Variável analisada: **Germinação**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO	4	486.400000	121.600000	5.143	0.0017*
TRATAMENTO	2	611.733333	305.866667	12.936	0.0000*
TEMPO*TRATAMENTO	8	121.600000	15.200000	0.643	0.7376
erro	45	1064.000000	23.644444		
Total corrigido	59	2283.733333			
CV (%) =	5.95				
Média geral:	81.7333333	Número de observações:	60		

*Significativo a 5% de probabilidade

Variável analisada: **Comprimento de plântulas**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO	4	21.232667	5.308167	18.943	0.0000*
TRATAMENTO	2	44.158333	22.079167	78.792	0.0000*
TEMPO*TRATAMENTO	8	9.898333	1.237292	4.415	0.0005*
erro	45	12.610000	0.280222		

Total corrigido	59	87.899333	
CV (%) =	6.04		
Média geral:	8.7633333	Número de observações:	60

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação tratamentos x períodos de armazenamento, para a variável comprimento de plântulas.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO/Mês 0	2	6.131667	3.065833	10.941	0.0001*
TRATAMENTO/Mês 2	2	18.620000	9.310000	33.224	0.0000*
TRATAMENTO/Mês 4	2	17.385000	8.692500	31.020	0.0000*
TRATAMENTO/Mês 6	2	6.080000	3.040000	10.849	0.0001*
TRATAMENTO/Mês 8	2	5.840000	2.920000	10.420	0.0002*
Erro	45	12.610000	0.280222		

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação períodos de armazenamento dentro de cada nível de tratamento, para a variável comprimento de plântulas.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO/Tratamento 1	4	8.707000	2.176750	7.768	0.0001*
TEMPO/Tratamento 2	4	11.457000	2.864250	10.221	0.0000*
TEMPO/Tratamento 3	4	10.967000	2.741750	9.784	0.0000*
Erro	45	12.610000	0.280222		

*Significativo a 5% de probabilidade

Variável analisada: **Peso de massa seca**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO	4	3766.854000	941.713500	19.236	0.0000*
TRATAMENTO	2	23276.197000	11638.098500	237.723	0.0000*
TEMPO*TRATAMENTO	8	3474.458000	434.307250	8.871	0.0000*
erro	45	2203.047500	48.956611		
Total corrigido	59	32720.556500			
CV (%) =	4.51				
Média geral:	155.2850000	Número de observações:	60		

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação tratamentos x períodos de armazenamento, para a variável peso de massa seca.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO/mês 0	2	3036.506667	1518.253333	31.012	0.0000*
TRATAMENTO/Mês 2	2	6632.315000	3316.157500	67.737	0.0000*
TRATAMENTO/Mês 4	2	7615.500000	3807.750000	77.778	0.0000*
TRATAMENTO/Mês 6	2	6203.166667	3101.583333	63.354	0.0000*
TRATAMENTO/Mês 8	2	3263.166667	1631.583333	33.327	0.0000*
Erro	45	2203.047500	48.956611		

*Significativo a 5% de probabilidade.

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação períodos de armazenamento dentro de cada nível de tratamento, para a variável peso de massa seca.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO/Tratamento 1	4	2986.300000	746.575000	15.250	0.0000*
TEMPO/Tratamento 2	4	567.300000	141.825000	2.897	0.0321*
TEMPO/Tratamento 3	4	3687.712000	921.928000	18.832	0.0000*
Erro	45	2203.047500	48.956611		

*Significativo a 5% de probabilidade

Variável analisada: **Teor de água**

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO	4	0.902667	0.225667	3.396	0.0164*
TRATAMENTO	2	3.576333	1.788167	26.912	0.0000*
TEMPO*TRATAMENTO	8	2.150333	0.268792	4.045	0.0011*
erro	45	2.990000	0.066444		
Total corrigido	59	9.619333			
CV (%) =	2.28				
Média geral:	11.2966667	Número de observações:	60		

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação tratamentos x períodos de armazenamento, para a variável teor de água.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO/Mês 0	2	1.166667	0.583333	8.779	0.0006*
TRATAMENTO/Mês 2	2	1.481667	0.740833	11.150	0.0001*
TRATAMENTO/Mês 4	2	2.535000	1.267500	19.076	0.0000*
TRATAMENTO/Mês 6	2	0.261667	0.130833	1.969	0.1485
TRATAMENTO/Mês 8	2	0.281667	0.140833	2.120	0.1292
Erro	45	2.990000	0.066444		

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação períodos de armazenamento dentro de cada nível de tratamento, para a variável teor de água.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO/Tratamento1	4	1.480000	0.370000	5.569	0.0010*
TEMPO/Tratamento 2	4	1.555000	0.388750	5.851	0.0007*
TEMPO/Tratamento 3	4	0.018000	0.004500	0.068	0.9912
Erro	45	2.990000	0.066444		

*Significativo a 5% de probabilidade

Variável analisada: **Infestação por insetos**

Opção de transformação: Raiz quadrada de $Y + 0.5 - \text{SQRT}(Y + 0.5)$

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO	4	0.648182	0.162045	2.583	0.0497
TRATAMENTO	2	1.351727	0.675864	10.775	0.0002*
TEMPO*TRATAMENTO	8	1.104081	0.138010	2.200	0.0453*
erro	45	2.822685	0.062726		
Total corrigido	59	5.926675			
CV (%) =	24.24				
Média geral:	1.0333870	Número de observações:	60		

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação tratamentos x períodos de armazenamento, para a variável infestação por insetos.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO/Mês 0	2	0.981678	0.490839	7.825	0.0012*
TRATAMENTO/Mês 2	2	0.044658	0.022329	0.356	0.7008
TRATAMENTO/Mês 4	2	0.261297	0.130648	2.083	0.1337
TRATAMENTO/Mês 6	2	0.560599	0.280299	4.469	0.0164*
TRATAMENTO/Mês 8	2	0.607576	0.303788	4.843	0.0120*
Erro	45	2.822685	0.062726		

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação períodos de armazenamento dentro de cada nível de tratamento, para a variável infestação por insetos.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO/Tratamento 1	4	1.199789	0.299947	4.782	0.0026*
TEMPO/Tratamento 2	4	0.133975	0.033494	0.534	0.7109
TEMPO/Tratamento 3	4	0.418499	0.104625	1.668	0.1733
Erro	45	2.822685	0.062726		

*Significativo a 5% de probabilidade

Avaliação da qualidade sanitária de sementes revestidas com zeína e armazenadas durante oito meses.

Variável analisada: *Aspergillus* sp.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO	4	1.251262	0.312815	5.996	0.0006*
TRATAMENTO	2	22.920310	11.460155	219.683	0.0000*
TEMPO*TRATAMENTO	8	3.440305	0.430038	8.244	0.0000*
erro	45	2.347501	0.052167		
Total corrigido	59	29.959378			
CV (%) =	5.90				
Média geral:	3.8709185	Número de observações:	60		

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação tratamentos x períodos de armazenamento, para a variável incidência de *Aspergillus* sp.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO/mês 0	2	1.611374	0.805687	15.444	0.0000*
TRATAMENTO/mês 2	2	3.525451	1.762726	33.790	0.0000*
TRATAMENTO/mês 4	2	5.989747	2.994874	57.410	0.0000*
TRATAMENTO/mês 6	2	7.455434	3.727717	71.458	0.0000*
TRATAMENTO/mês 8	2	7.778609	3.889304	74.555	0.0000*
Erro	45	2.347501	0.052167		

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação períodos de armazenamento dentro de cada nível de tratamento, para a variável incidência de *Aspergillus* sp.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO/Tratamento 1	4	0.577340	0.144335	2.767	0.0383*
TEMPO/Tratamento 2	4	0.151235	0.037809	0.725	0.5790
TEMPO/Tratamento 3	4	3.962991	0.990748	18.992	0.0000*
Erro	45	2.347501	0.052167		

*Significativo a 5% de probabilidade

Variável analisada: *Penicillium* sp.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO	4	0.820500	0.205125	5.820	0.0007*
TRATAMENTO	2	26.193000	13.096500	371.605	0.0000*
TEMPO*TRATAMENTO	8	4.774495	0.596812	16.934	0.0000*
erro	45	1.585937	0.035243		

Total corrigido	59	33.373933	
CV (%) =	4.90		
Média geral:	3.8310705	Número de observações:	60

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação tratamentos x períodos de armazenamento, para a variável incidência de *Penicillium* sp.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO/mês 0	2	0.643657	0.321828	9.132	0.0004*
TRATAMENTO/mês 2	2	4.500136	2.250068	63.844	0.0000*
TRATAMENTO/mês 4	2	6.938026	3.469013	98.431	0.0000*
TRATAMENTO/mês 6	2	8.565328	4.282664	121.518	0.0000*
TRATAMENTO/mês 8	2	10.320349	5.160174	146.417	0.0000*
Erro	45	1.585937	0.035243		

*Significativo a 5% de probabilidade

Tabela da Análise de Variância (ANAVA) da interação períodos de armazenamento dentro de cada nível de tratamento, para a variável incidência de *Penicillium* sp.

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TEMPO/Tratamento 1	4	0.803731	0.200933	5.701	0.0008*
TEMPO/Tratamento 2	4	0.651549	0.162887	4.622	0.0032*
TEMPO/Tratamento 3	4	4.139716	1.034929	29.365	0.0000*
Erro	45	1.585937	0.035243		

*Significativo a 5% de probabilidade