

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
TECNOLOGIA EM GESTÃO AMBIENTAL**

LUCINÉIA LEMES GUIMARÃES

**UTILIZAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Moringa oleifera* Lam NA
INIBIÇÃO DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS DA SEMENTE DE
FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris*) DO GRUPO COMERCIAL CARIOCA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

MEDIANEIRA

2014

LUCINÉIA LEMES GUIMARÃES

**UTILIZAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Moringa oleifera* Lam NA
INIBIÇÃO DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS DA SEMENTE DE
FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris*) DO GRUPO COMERCIAL CARIOCA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial à
obtenção do título de Tecnólogo em
Gestão Ambiental, da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a. Me. Márcia Antonia
Bartolomeu Agustini

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Larissa de
Bortolli Chiamolera Sabbi

MEDIANEIRA

2014



TERMO DE APROVAÇÃO

UTILIZAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Moringa oleifera Lam* NA INIBIÇÃO DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS DA SEMENTE DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris*) DO GRUPO COMERCIAL CARIOCA.

LUCINÉIA LEMES GUIMARÃES

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado às 13:30 h do dia 26 de novembro de 2014 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo no Curso Superior de Tecnologia em Gestão Ambiental, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Medianeira. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof^a. Me. Márcia Antonia Bartolomeu
Agostini
Orientadora

Prof^a. Dr^a. Angela Laufer Rech
Membro titular

Prof^a. Dr^a. Larissa de Bortolli
Chiamolera Sabbi
Co-orientadora

Prof^o Me. Thiago Edwiges
Membro titular

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por me conceder a oportunidade de estar concluindo esta graduação, e por ser meu guia ao longo desta caminhada que passei.

Aos meus pais que com muito carinho, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

Ao meu esposo Marco pelo incentivo, paciência, compreensão e apoio, que foi de fundamental importância para que eu chegasse à concretização deste objetivo.

Aos meus colegas da graduação, em especial Claudia e Keila que sempre buscaram dar força e incentivo para que eu não desistisse nos momentos de dificuldades.

A todos os professores do curso, que foram tão importantes na minha vida acadêmica, proporcionando a busca por novos conhecimentos para o exercício da profissão.

A professora orientadora Márcia e co-orientadora Larissa responsáveis pela realização deste trabalho. A professora Márcia, pela paciência e dedicação durante as semanas que trabalhamos juntas, estando sempre disposta a auxiliar, e também a professora Larissa pela compreensão e apoio.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - FOLHAS DA <i>M. oleifera</i>	18
FIGURA 2 - EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>M. oleifera</i>	20
FIGURA 3 - TRATAMENTO SOBRE OS ESPOROS FÚNGICOS.....	22
FIGURA 4 - FUNGOS CRESCENDO NAS SEMENTES DE FEIJÃO.....	26
FIGURA 5 - FUNGOS QUE RECEBERAM TRATAMENTO COM ÓLEO ESSENCIAL DE MORINGA E FUNGICIDA.....	27
FIGURA 6 - EFEITO DAS DOSES DE ÓLEO ESSENCIAL DE MORINGA SOBRE A INCIDÊNCIA (%) DE <i>Penicillium sp.</i> EM SEMENTES DE FEIJÃO DA CULTIVAR COLIBRI (MÉTODO BLOTTER TEST).....	28
FIGURA 7 - GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE <i>Alternaria sp.</i>	31
FIGURA 8 - GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE <i>A. flavus</i>	32
FIGURA 9 - GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE <i>Fusarium sp.</i>	33

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE <i>Moringa oleifera</i>	24
TABELA 2 - PRINCIPAIS GÊNEROS FÚNGICOS E SUA INCIDÊNCIA (%) EM SEMENTES DE FEIJÃO DA CULTIVAR COLIBRI (MÉTODO BLOTTER TEST).....	26
TABELA 3 - EFEITO DAS DOSES DE ÓLEO ESSENCIAL DE MORINGA SOBRE A PORCENTAGEM DE GERMINAÇÃO DE ESPOROS FÚNGICOS.	29
TABELA 4 - EFEITO DAS DOSES DE ÓLEO ESSENCIAL DE MORINGA SOBRE A PORCENTAGEM DE GERMINAÇÃO DE ESPOROS FÚNGICOS.	30

LISTA DE ABREVIATURAS

<i>Alternaria sp.</i>	<i>Alternaria</i> espécie
<i>A. flavus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>A. niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>A. ochraceus</i>	<i>Aspergillus ochraceus</i>
BDA	Ágar Batata Dextrose
BOD	Demanda Bioquímica de Oxigênio
C.V.	Coeficiente de Variação
<i>Fusarium sp.</i>	<i>Fusarium</i> espécie
<i>Lam.</i>	Lamarck
<i>M. oifeifera</i>	<i>Moringa oleifera</i>
<i>Penicillum sp.</i>	<i>Penicillium</i> espécie
<i>Rhizopus sp.</i>	<i>Rhizopus</i> espécie
µL.	microlitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	11
2. 1 OBJETIVO GERAL	11
2. 2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3. 1 IMPORTÂNCIA DA CULTURA DO FEIJOEIRO	12
3. 2 DOENÇAS CAUSADAS POR FUNGOS NA CULTURA DO FEIJOEIRO.....	13
3. 3 USO DE AGROTÓXICOS E SEUS EFEITOS SOBRE O AMBIENTE.....	15
3. 4 ÓLEOS ESSENCIAIS	16
3. 5 <i>Moringa oleifera</i>	17
4 MATERIAIS E MÉTODOS	19
4. 1 QUALIDADE SANITÁRIA DAS SEMENTES	19
4. 2 EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL.....	19
4. 3 TRATAMENTO DA SEMENTE COM ÓLEO ESSENCIAL.....	21
4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	23
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5. 1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE MORINGA.....	24
5. 2 EFEITO DO ÓLEO SOBRE OS FUNGOS	25
6. CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	35

RESUMO

GUIMARÃES, Lucinéia Lemes. **Utilização de óleo essencial de *Moringa oleifera* Lam na inibição de fungos fitopatogênicos da semente de feijão (*Phaseolus vulgaris*) do grupo comercial carioca.** 2014. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Gestão Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2014.

A má qualidade sanitária das sementes de *Phaseolus vulgaris* interfere negativamente na germinação e vigor e resulta em perdas diretas na produtividade. O tratamento químico das sementes minimiza estes efeitos, mas pode impactar o ambiente. Assim, a utilização de produtos naturais com comportamento inibitório sobre fitopatógenos tem se difundido dada a necessidade de encontrar produtos naturais que não agridam a comunidade biótica. Neste contexto objetivou-se com este estudo, extrair e caracterizar o óleo essencial de *Moringa oleifera*, bem como avaliar seu efeito antimicrobiano na microbiota fitopatogênica de sementes de feijão grupo comercial carioca. O óleo essencial foi extraído por meio de extrator tipo Clevenger e seus componentes caracterizados por meio de cromatografia gasosa. Os tratamentos consistiram em emulsões contendo cinco diferentes doses de óleo essencial (0; 5; 10; 20 e 40 μL) e um fungicida. Após avaliação da qualidade sanitária, as sementes tratadas foram submetidas ao método blotter test para avaliação da incidência de fungos e, a germinação de seus esporos foi testada frente às diferentes concentrações de óleo essencial e fungicida. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis tratamentos (5 doses óleo essencial e fungicida) e 5 repetições. As médias foram comparadas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Foram identificados sete gêneros fúngicos nas sementes, sendo o *Penicillium sp.*, o de maior incidência. O óleo essencial de *Moringa oleifera* mostrou-se eficiente na inibição da germinação de esporos de *Fusarium sp.*, *Aspergillus flavus* e *Alternaria sp.* na dose equivalente a 40 μL ., visto que foram identificados 11 compostos químicos, dentre os quais constaram monoterpeno e sesquiterpeno.

PALAVRAS-CHAVE: Incidência de fungos. Germinação de esporos. Antimicrobiano.

ABSTRACT

GUIMARÃES, Lucinéia Lemes. **Use of essential oil *Moringa oleifera* Lam in inhibition phytopathogenic fungi seed bean (*Phaseolus vulgaris*) carioca commercial group.** 2014. 41 f. End of Course Work (Technology in Environmental Management) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2014.

The poor sanitary quality of seeds of *Phaseolus vulgaris* impairs the germination and vigor and results in direct losses in productivity. The chemical treatment minimizes these effects, but can impact the environment. Thus, the use of natural products with inhibitory behavior of phytopathogens has been given the widespread need for natural products that do not harm the biotic community. In this context, the objective of this work to extract and characterize the essential oil of *Moringa oleifera* as well as evaluate its antimicrobial effect on phytopathogenic microflora of bean seeds. The essential oil was extracted by Clevenger extractor type and its components characterized by gas chromatography. The treatments consisted of emulsions containing five different concentrations of essential oil (0; 5; 10; 20 and 40 μ L) and a fungicide. After evaluation of the sanitary quality, the treated seeds were subjected to blotter test method to assess the incidence of fungi and germination of spores was tested against the different concentrations of essential oil and fungicide. The experimental design was completely randomized with six treatments (5 essential oil doses and fungicide) and 5 replications. Means were compared at 5% probability by Tukey test. Seven genera of fungi were identified in seeds, *Penicillium sp.*, was the highest incidence. The essential oil of *Moringa oleifera* was effective in inhibiting spore germination of *Fusarium sp.*, *Aspergillus flavus* and *Alternaria sp.* dose equivalent to 40 μ L. Since they were identified 11 chemical compounds, among which consisted monoterpene and sesquiterpene.

KEYWORDS: Incidence of fungi. Spore germination. Antimicrobial.

1 INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris*), por apresentar alto valor nutritivo é uma leguminosa que está presente na dieta alimentar dos brasileiros. Trata-se de um alimento consumido em grande quantidade pela população, com média de consumo per capita de aproximadamente 17 Kg/ano (EMBRAPA, 2012).

O Paraná se destaca na produção do grão, visto que na safra 2012/13 o estado foi responsável por 23% da produção nacional (SEAB, 2013). No entanto, as doenças estão entre os fatores que interferem na produtividade do feijão, uma vez que a ação de micro-organismos fitopatogênicos pode causar danos ao feijoeiro e prejudicar a qualidade do grão, podendo reduzir significativamente a produção desta cultura. Assim, para evitar perdas nas lavouras tem sido necessário a adoção de medidas de controle que sejam eficientes no combate aos fitopatógenos.

No Brasil o tratamento convencional com produtos químicos é o método mais utilizado na agricultura. No entanto, apesar de contribuírem na produção agrícola, evitando maiores prejuízos, o uso intensivo de agrotóxicos tem provocado danos ambientais. Sua aplicação contínua e de forma inadequada pode acarretar na contaminação de alimentos, do solo, da água superficial e subterrânea, do ar, na resistência de pragas e de plantas invasoras, no desequilíbrio biológico, além de afetar a saúde humana.

Visando a agricultura sustentável, é de fundamental importância uma opção de controle menos agressiva, assim, sugere-se a substituição dos contaminantes químicos por substâncias naturais, entre as quais estão os extratos e os óleos essenciais, pois são de fácil acesso, apresentam baixo custo e reduzem o uso dos produtos químicos sintéticos, colaborando desta forma na minimização dos problemas ocasionados ao meio ambiente (ROMERO *et al.*, 2009).

Dentre os vegetais, que podem ser utilizados no controle alternativo de fitopatógenos, está a *Moringa oleifera*, uma vez que estudos demonstram eficácia na ação de seu extrato metanólico na inibição da atividade fúngica (SILVA *et al.*, 2009).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a ação antimicrobiana do óleo essencial de *Moringa oleifera* no controle de fungos fitopatogênicos da semente de feijão (*Phaseolus vulgaris*), do grupo comercial carioca.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar levantamento da qualidade sanitária de sementes de feijão do grupo comercial carioca;
2. Extrair e caracterizar o óleo essencial de *M. oleifera*;
3. Avaliar o efeito de diferentes doses do óleo essencial da *M. oleifera* na inibição da germinação de esporos de fungos fitopatogênicos;
4. Avaliar o efeito das diferentes doses de óleo essencial de *M. oleifera* no desenvolvimento de fungos fitopatogênicos na semente de feijão.
5. Comparar o efeito do óleo essencial de *M. oleifera* a um fungicida comercial na inibição de fungos fitopatogênicos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 IMPORTÂNCIA DA CULTURA DO FEIJOEIRO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* Lam) é uma leguminosa cultivada há milhares de anos. Originário do Continente Americano, sua disseminação pelo mundo ocorreu devido às grandes guerras, pois era um alimento importante na dieta dos guerreiros (EMBRAPA, 2012).

Devido às suas propriedades nutritivas, o feijão representa importante fonte protéica na alimentação da população dos países em desenvolvimento das regiões tropicais e subtropicais (YOKOYAMA, 2003). De acordo com o Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) o feijão está inserido como o principal alimento da dieta de mais de 400 milhões de pessoas nos trópicos, garantindo significativamente a sustentação alimentar e nutricional entre a população mais carente.

No Brasil o feijão constitui-se como alimento básico entre a população, visto que sua preferência de consumo é regionalizada e diferenciada principalmente quanto ao tipo de grão. Características como a cor, o tamanho e o brilho podem ser determinantes para a escolha do consumidor (EMBRAPA, 2003). Segundo dados do Ministério da Agricultura, (2009) existem cerca de 40 tipos de feijão, destes o grão tipo comercial carioca é aceito em praticamente todas as regiões brasileiras e representa 52% da área cultivada no país.

O Brasil também, se destaca como o maior produtor e consumidor mundial de feijão. A média de consumo per capita desta leguminosa é de aproximadamente 17 kg/ano, o que representa uma dieta nutricional dos brasileiros rica em proteínas, ferro e carboidratos (EMBRAPA, 2012).

Os estados do Paraná, Minas Gerais, Bahia, São Paulo e Goiás estão entre os principais produtores do grão, com destaque para o Paraná que na safra 2012/13 foi responsável por 23% da produção no país (SEAB, 2013). Segundo a Comissão Técnica Sul - Brasileira de Feijão, (2012) a maior parte produzida vem da agricultura familiar, que é responsável por cerca de 60% da produção nacional. O feijoeiro comum é cultivado em todas as regiões brasileiras, por pequenos e grandes

produtores, o plantio ocorre durante todo o ano e representa grande importância econômica e social no país, seu cultivo é a principal alternativa para pequenos e médios produtores paranaenses, pois gera emprego e renda no campo (EMBRAPA, 2012; SEAB, 2013).

3. 2 DOENÇAS CAUSADAS POR FUNGOS NA CULTURA DO FEIJOEIRO

A má qualidade das sementes representa uma das principais causas na redução da produtividade das lavouras de feijão do Brasil (SILVA *et al.*, 2008). A ação de micro-organismos fitopatogênicos pode causar danos ao feijoeiro e prejudicar a qualidade do grão, podendo reduzir significativamente a produção desta cultura (JASPER, 2010).

O feijoeiro é cultivado durante todo o ano, sob diversas condições ambientais, fator que expõe a planta, deixando-a vulnerável, pois existem mais de 200 doenças que afetam a cultura do feijão (CTSBF, 2012), causadas por fungos, bactérias e vírus transmitidos interna e externamente à semente durante o período de armazenamento a campo, e que influenciam diretamente na qualidade da semente, o feijoeiro pode ter sua produtividade afetada, uma vez que há redução na germinação com perda de vigor das sementes, problemas na formação e, ocorrência de deterioração das mesmas (SILVA *et al.*, 2008).

Kimati *et al.*, (1997) citam algumas das doenças causadas por fungos na cultura do feijão: a antracnose é provocada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum*, onde a qualidade do grão é afetada por manchas que o tornam impróprio para o consumo. A mancha-angular tem como agente causal o fungo *Phaeoisariopsis griseola* é uma doença típica do feijoeiro em regiões tropicais e subtropicais se manifesta no caule, folhas e vagens. A mancha de alternaria é provocada pelo fungo *Alternaria alternata* que afeta a parte aérea do feijoeiro com manifestações de manchas nas folhas e vagens, prejudicando a qualidade da semente e reduzindo a germinação. Na murcha de fusarium o agente causal é o fungo *Fusarium oxysporum f. sp. Phaseoli* que provoca amarelecimento progressivo das folhas, podendo também afetar os ramos, quando a infecção é severa, a planta seca e morre. O mofo branco é causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* que

atinge a parte aérea da planta. Com o desenvolvimento da doença ocorre uma podridão mole nos tecidos da planta provocando a morte dos ramos, as sementes infectadas são descoloridas ou recobertas pelo micélio branco.

Os fungos que atingem as sementes podem ser de campo ou de armazenamento. Quando de campo podem afetar as sementes durante seu desenvolvimento ou após a maturação, ainda na planta. Uma infestação acentuada pode causar descoloração, enrugamento, e redução na qualidade fisiológica da semente. Fatores como a umidade relativa e a temperatura influenciam no desenvolvimento de fungos na semente armazenada. Esporos e micélios de espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, geralmente estão presentes na superfície da semente quando esta é acondicionada no armazém, o fungo é capaz de reduzir ou até mesmo impedir o poder germinativo da mesma (POPINIGIS, 1985 p. 233).

No Brasil, as condições climáticas são favoráveis para o desenvolvimento de fungos produtores de micotoxinas (MAZIERO; BERSOT, 2010). Pereira; Carvalho; Prado, (2002) verificaram que fatores como umidade, temperatura, pH, potencial de oxirredução, composição do substrato e aditivos influenciam no crescimento de fungos e produção de aflotoxinas.

As micotoxinas são substâncias produzidas por certos fungos filamentosos, formadas por um grupo de compostos altamente tóxicos que pode contaminar os alimentos, causando doenças ou até mesmo a morte quando ingeridos pelo homem ou animais. Os gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* são os fungos mais comumente associados às toxinas que ocorrem naturalmente em alimentos (LAZZARI, 1997, p. 65; IAMANAKA; OLIVEIRA; TANIWAKI, 2010).

As aflotoxinas são um grupo de metabólitos tóxicos produzidos devido à esporulação dos fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, são consideradas carcinogênicas, teratogênicas e mutagênicas, provocam danos a saúde humana e prejudicam o desenvolvimento de bovinos, ovinos, suínos, aves e coelhos quando estes se alimentam de ração contaminada, uma vez que as aflotoxinas são encontradas em diversas culturas como milho, amendoim, trigo, coco, algodão, castanha do Pará, entre outros (LAZZARI, 1997 p. 73-75).

Para Popinigis, (1985 p. 157) “uma semente de qualidade é o somatório de todos os atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que afetam a sua capacidade de originar plantas de alta produtividade”.

3. 3 USO DE AGROTÓXICOS E SEUS EFEITOS SOBRE O AMBIENTE

Segundo dados da Associação Brasileira de Saúde Coletiva (ABRASCO), (2012) desde 2008, quando ultrapassou os Estados Unidos, o Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos, uma vez que diversas culturas recebem a aplicação destes produtos. Entre 2002 e 2011 a produção agrícola de soja utilizou a maior quantidade (40%), seguida pelo milho com 15%, ficando o feijão na oitava colocação, com 2% de uso. No ano de 2006, o estado do Paraná ocupou a terceira colocação no país, representando 14,3% do consumo.

O uso de produtos químicos tem sido utilizado como medida de controle para diminuir as perdas nas lavouras, visto que os agrotóxicos protegem as culturas agrícolas das pragas e doenças (EMBRAPA, 2004). Estes são classificados, de acordo com sua finalidade de uso, sendo definida pelo poder de ação do ingrediente ativo sobre organismos-alvo, são destaque os inseticidas que representam 25% do consumo mundial, fungicidas 22% e herbicidas 48% (PELAEZ; TERRA; SILVA, 2010 apud AGROW, 2007).

De acordo com a Lei nº 7.802/89 os agrotóxicos são definidos como:

Os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-la da ação danosa de seres vivos considerados nocivos (BRASIL, 1989).

Apesar de aumentar a produtividade agrícola evitando maiores prejuízos, diversos problemas de ordem ambiental podem ser ocasionados devido à utilização constante de produtos químicos sintéticos. Patógenos, pragas e plantas invasoras podem se tornar resistentes a certos princípios ativos destes produtos causando desequilíbrio biológico, assim como organismos benéficos podem ser eliminados, levando a redução da biodiversidade (EMBRAPA, 2012), devido seu efeito indesejável sobre as espécies consideradas não-alvo (RIBAS; MATSUMURA, 2009).

Os agrotóxicos apresentam ação biocida e são potencialmente prejudiciais para todos os organismos vivos, com capacidade de interferir sobre a dinâmica dos ecossistemas uma vez que, o uso intensivo e inadequado destes produtos tem

provocado danos ambientais. A toxicidade e os efeitos causados ao ambiente variam muito, no entanto a maior parte destes produtos utilizados constantemente em áreas agrícolas contribui para a contaminação de alimentos, do ar, do solo e da água, apresentando, conseqüentemente, efeitos negativos em organismos terrestres e aquáticos e oferecendo riscos à saúde humana (SPADOTTO *et al.*, 2004; LUNA; SALES; SILVA, 2011).

Para Spadotto *et al.* (2004) fatores como condições climáticas, frequência de uso, método de aplicação e propriedades físico-químicas, são determinantes para a destinação de agrotóxicos no ambiente em razão da lixiviação e o carreamento superficial provocados pela chuva favorecerem a contaminação do solo, das águas superficiais e subterrâneas, além do ar, devido à volatilização que determinados produtos químicos apresentam.

3. 4 ÓLEOS ESSENCIAIS

Sistemas de cultivo mais sustentáveis e menos dependentes do uso de agroquímicos têm sido desenvolvidos como alternativa ao uso de produtos tóxicos, especialmente no tocante à utilização de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais, condimentares e aromáticas que apresentam potencial para o manejo de doenças de plantas. Estudos comprovam o efeito de compostos extraídos de óleos essenciais de plantas que atuam como fungicidas naturais inibindo a atividade fúngica (SEIXAS *et al.*, 2011).

Os óleos essenciais constituem elementos aromáticos de metabolismo secundário de plantas, normalmente produzidos por células secretoras ou grupos de células, sendo encontrados em diversas partes do vegetal (SCHERER *et al.*, 2009) nas flores, folhas, caules, galhos, sementes, frutas, raízes, madeira e cascas (BRUM, 2012 apud BAKKALI *et al.*, 2008).

Os metabólitos secundários das plantas são considerados produtos finais do seu metabolismo, e apresentam importantes funções ecológicas nas mesmas, pois oferecem proteção contra o ataque de herbívoros e patógenos e, também atraem polinizadores (SILVA *et al.*, 2008; VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010). De acordo com Bettiol e Morandi, (2009) “óleos essenciais são misturas complexas de

substâncias voláteis, lipofílicas, com baixo peso molecular, geralmente odoríferas e líquidas, constituídos, na maioria das vezes, por moléculas de natureza terpênica”, normalmente constituídos de moléculas de dez carbonos (monoterpenos) e quinze carbonos (sesquiterpenos) (SIANI *et al.*, 2000).

Os compostos orgânicos presentes nos óleos essenciais se diversificam de acordo com a espécie considerada, condições de coleta, extração e partes da planta utilizada. Os terpenos e seus derivados oxigenados e terpenóides são os principais compostos isolados dos óleos essenciais, embora participe do processo de respiração e desenvolvimento celular importantes ao metabolismo primário, possuem a função de intermediar a relação planta x ambiente, além de atuar em mecanismos de defesa e comunicação da planta (PROBST, 2012).

Segundo Holey e Patel, (2005) a ação antimicrobiana dos óleos essenciais pode estar relacionada com a presença de compostos aromáticos e fenólicos que atuam diretamente na membrana citoplasmática, alterando sua função e estrutura.

3. 5 *Moringa oleifera*

A moringa (*Moringa oleifera* Lam.), pertence à família Moringaceae, que é composta apenas de um gênero (*Moringa*) e quatorze espécies. É um arbusto ou árvore de pequeno porte, de crescimento rápido podendo atingir a altura de 12 m (RANGEL, 2003).

Também é conhecida como lírio-branco, quiabo-de-quina e cedro. Apresenta baixo custo na sua produção, uma vez que é uma planta de fácil adaptação. O cultivo é influenciado devido seu valor nutricional, sobre tudo com alto teor de cálcio, ferro, proteínas, potássio, vitaminas do complexo B e aminoácidos (SILVA *et al.*, 2009).

É uma espécie arbórea originária da Índia, pode ser encontrada em diversos países tropicais de baixa altitude. Apresenta grande importância quanto a sua utilização na alimentação, produção de óleo, como planta medicinal e na clarificação de águas para o consumo humano (KIILL; MARTINS; LIMA, 2012). Seu uso é bastante diversificado, pois todas as partes da planta podem ser utilizadas (folhas,

frutos, flores, madeira, sementes e raízes) (BEZERRA; MOMENTE; MEDEIROS FILHO, 2004).

Dentre os vegetais com potencial antimicrobiano, destaca-se a *Moringa oleifera*. (Figura 1), O óleo essencial extraído de suas folhas apresenta alto teor de monoterpenos e sesquiterpenos oxigenados (BARRETO *et al.*, 2009). Estudos recentes demonstraram eficiência de seu extrato metanólico sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum*, *Cladosporim sphaerospermum* e *Colletotrichum lindemuthianum* (Silva *et al.*, 2009). Há também, de acordo com Donli e Dauda (2003), redução na incidência de *Mucor sp*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer* e *Aspergillus flavus* após utilização do extrato aquoso de moringa em sementes de amendoim (*Arachis hypogea*) nas concentrações de 5, 10, 15 e 20 g L⁻¹.



Figura 1 - Folhas da *M. oleifera*.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 QUALIDADE SANITÁRIA DAS SEMENTES

Para o experimento foram utilizadas sementes de *Phaseolus vulgaris* do grupo comercial carioca da cultivar IPR Colibri, procedente do Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR) proveniente da safra de 2012/2013.

As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia da UTFPR, Câmpus Medianeira. A identificação dos fungos associados a cultivar foi realizada por meio do método de papel filtro (blotter test), conforme indica a Regra para Análise de Sementes – RAS, que consiste em colocar dois discos de papel filtro esterilizados pré-umedecidos (2,5 vezes seu peso seco) em água destilada em gerbox. Foram utilizados 5 gerbox por repetição, com 20 sementes por gerbox, totalizando 500 sementes (BRASIL, 2009) e incubadas a $26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$, com fotoperíodo de 12h/luz, por sete dias em câmara do tipo BOD. Para reduzir o processo de germinação das sementes durante o período de incubação, o substrato de papel foi umedecido em solução de sal de 2,4-D (2,4-diclorofenoxiacetato de sódio) a 5 mg L^{-1} de concentração.

Após este período, as sementes foram examinadas individualmente com auxílio de um estereomicroscópio em aumento de 30-80X, pela ocorrência de frutificações típicas do crescimento de fungos para posterior identificação por meio da chave taxonômica de Barnett e Hunter (1986), sendo os resultados expressos em percentual de ocorrência dos fungos, com duas casas decimais (BRASIL, 2009).

4.2 EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

A extração do óleo essencial das folhas de *Moringa oleifera*, coletadas nas cidades de Cascavel – PR foram realizadas por meio de hidrodestilação utilizando-se extrator de vidro tipo Clevenger modificado (Figura 2a), no Laboratório de

Saneamento e Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Medianeira.

As folhas foram processadas logo que chegaram ao laboratório. A fim de mantê-las frescas durante o processo de extração do óleo essencial, as mesmas foram separadas e acondicionadas em embalagens plásticas que foram mantidas em um refrigerador com temperatura de aproximadamente 10 °C. Foram utilizadas aproximadamente 160 g de folhas de *M. oleifera* para 350 mL de água destilada, sendo o tempo de extração de 4 horas para cada amostra.

Para a separação do hidrolato e obtenção do óleo essencial, utilizou-se o solvente n-hexano, para cada 100 mL de hidrolato foram realizadas triplicatas de 30 mL do solvente para lavagem em funil de separação (Figura 2b). Após a separação se obteve a mistura n-hesano-óleo que foi dividida em béqueres e disposta para o banho-maria à temperatura de 60 °C para evaporação do solvente e obtenção do óleo essencial. O óleo foi acondicionado em recipiente de vidro tipo âmbar sob refrigeração.

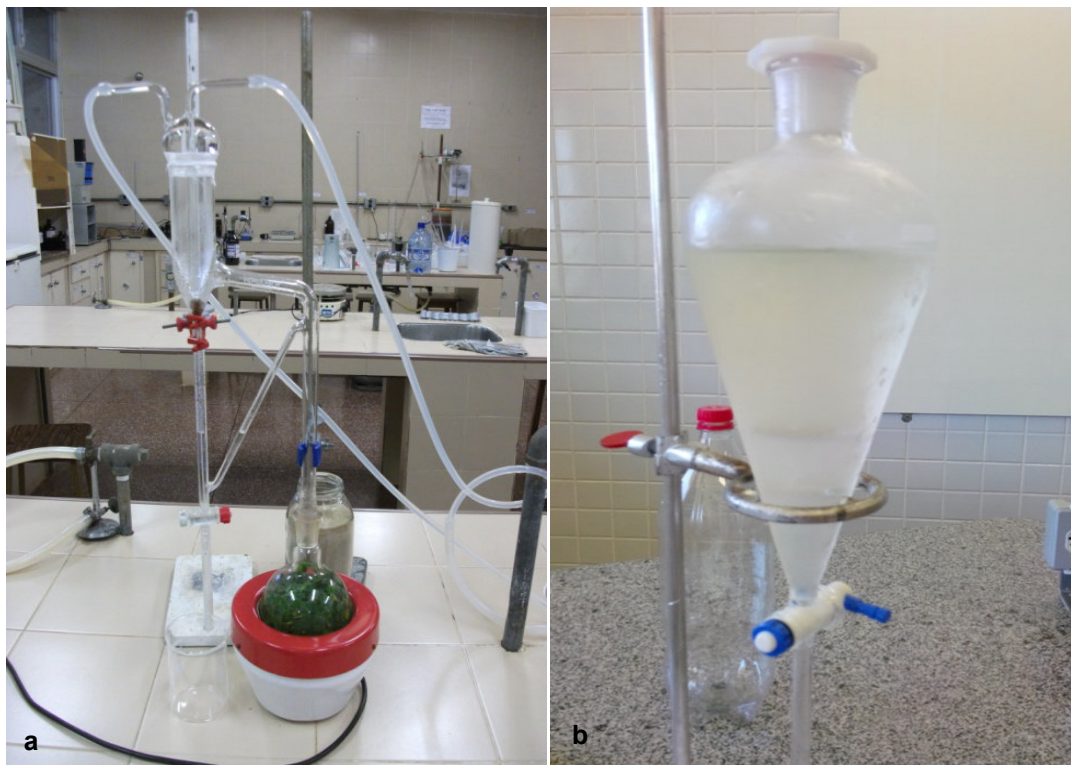


Figura 2 – Extração do óleo essencial de *M. oleifera* em hidrodestilador tipo Clevenger (a); Partição do hidrolato em funil de separação (b).

A caracterização dos compostos químicos presentes no óleo essencial da moringa foi realizada na Central Analítica do Instituto de Química da USP. Utilizou-se o método de cromatografia de fase gasosa com detecção de massas (CG/EM) em equipamento Varian®, equipado com coluna capilar DB-5 (25m x 0,20mm x 0,25 µm de filme) usando-se hélio como gás de arraste (1,02 mL min⁻¹) com programação de temperatura 75 °C – 150 °C (4 °C/min).

A identificação das substâncias contidas no óleo essencial de moringa foi realizada por comparação dos índices de retenção (IR) e do padrão de fragmentação dos espectros de massas com os registros da literatura científica especializada (ADAMS, 2007), com o banco de dados do computador conectado ao espectrômetro de massas e por meio da comparação dos espectros de massas com o espectro do banco de dados da biblioteca de espectros NIST - National Institute of Standards and Technology (NIST, 2014).

Para o rendimento de óleo essencial foi utilizada a fórmula proposta por Gonçalves; Mancinelli; Moraes (2009), onde o rendimento corresponde à massa de óleo essencial obtido em gramas x 100, dividido pela massa do material vegetal (g).

$$\text{Rendimento} = \frac{\text{Massa de óleo essencial obtido (g)} \times 100}{\text{Massa do material vegetal (g)}}$$

4. 3 TRATAMENTO DA SEMENTE COM ÓLEO ESSENCIAL

As sementes de feijão do grupo comercial carioca da cultivar IPR Colibri receberam doses do óleo essencial da *M. oleifera* contendo 0 (0µL); 0,1% (5µL); 0,2% (10µL); 0,4% (20µL) e 0,8% (40µL), incluindo o fungicida Vitavax® sendo que, a dose utilizada foi de acordo com o indicado pelo fabricante. Foram distribuídas 20 sementes tratadas em cada gerbox com 5 repetições e acondicionadas em câmara do tipo BOD a 26 °C.

Após sete dias foi verificada a ocorrência dos fungos *Alternaria sp.*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Fusarium sp.* *Penicillium sp.* e *Rhizopus sp.*, os quais foram isolados em placas de Petri contendo meio BDA

com sete dias de crescimento, para a contagem de esporos de fungos que foi realizada com auxílio da câmara de Neubauer. Em seguida, para a avaliação da germinação de esporos, procedeu-se a raspagem dos esporos fúngicos com auxílio da alça de Drigalski em 10 mL de água esterilizada e preparou-se as diluições para obtenção da concentração equivalente a 10^4 esporos/mL.

Alíquotas de 50 μ L da suspensão de esporos (concentração de 10^4 esporos por mL) de fungos foram distribuídas na superfície das lâminas contendo Ágar água e em seguida foi acrescentado 50 μ L dos tratamentos contendo óleo essencial e fungicida separadamente, com 5 repetições cada (Figura 3a). As lâminas foram mantidas em placas de Petri em Câmara do tipo BOD à temperatura de 26 °C por 24 horas (Figura 3b).

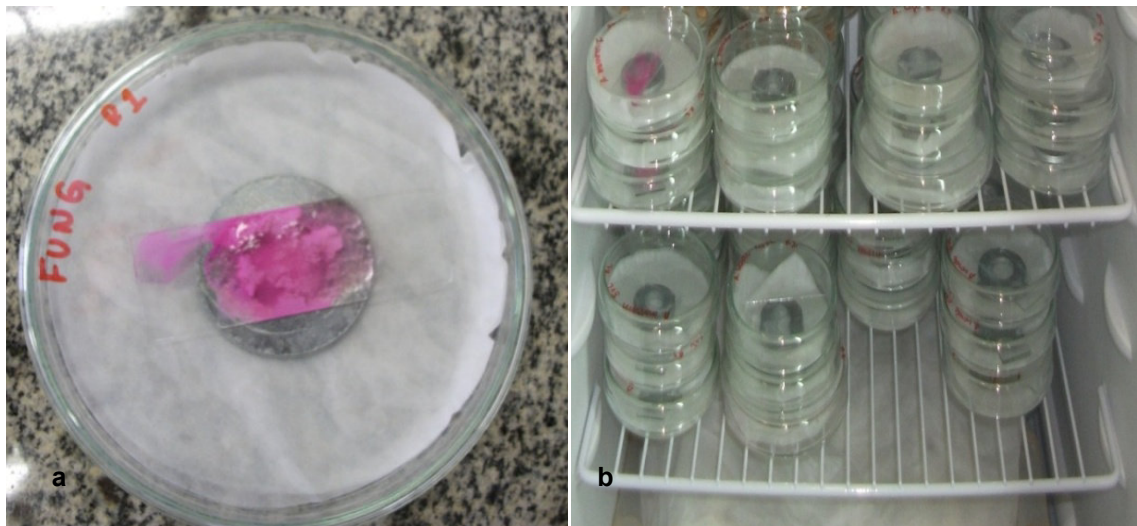


Figura 3 - Tratamento sobre os esporos fúngicos.

Determinou-se a porcentagem de germinação dos esporos pela contagem aleatória dos 100 primeiros esporos encontrados em um microscópio. Para inativar o crescimento do tubo germinativo aplicou-se corante azul algodão de lactofenol sobre os tratamentos.

4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental para o tratamento de sementes consistiu em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos, sendo 0; 0,1%; 0,2%; 0,4% e 0,8% de óleo essencial de moringa e o fungicida comercial.

Após obtenção dos dados, estes foram submetidos a teste de normalidade (Shapiro-Wilk test), distribuição dos resíduos, homogeneidade e à análise de variância por meio do programa estatístico SISVAR. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE MORINGA

A hidrodestilação das folhas de moringa obteve rendimento de 0,02% com base na massa do produto fresco utilizado. O óleo produzido apresentou coloração amarela e sua composição química está descrita na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição química do óleo essencial das folhas de *Moringa oleifera*.

Compostos	Componente	Tempo de Retenção	(%)
Terpeno	Ácido but-2-enóico	15,08	1,28
Hidrocarboneto	2-iodo-6-metil heptano	17,67	1,74
Hidrocarboneto	Bis(2-etilhexil) ftalato	25,31	21,46
Hidrocarboneto	Dietil benzeno-1,2-dicarboxilato	26,22	5,87
Hidrocarboneto	Ácido hexadecanóico	26,28	10,07
Hidrocarboneto	Diisopentil ftalato	27,04	11,63
Hidrocarboneto	n-heptacosano	29,82	3,54
Hidrocarboneto	Bis(2-etilhexil) ftalato	30,03	28,74
Hidrocarboneto	n-heptacosano	30,90	4,01
Hidrocarboneto	n-heptacosano	31,91	2,49
Terpeno	10-epi- β -Eudesmol	34,91	9,15

Foram identificados 11 compostos, sendo 89,55% do total correspondente a hidrocarbonetos e 10,43% por terpenos. Dentre os hidrocarbonetos os em maior quantidade foram encontrados o hexacosano (31,53%), tetracosano (28,74%), octadecano (17,5%) e heptacosano (10,04%). Marrufo *et al.*, (2013) obtiveram resultado semelhante ao avaliarem a composição química do óleo essencial de folhas de moringa cultivada em Moçambique, o composto mais abundante foi o hexacosano (13,9%), seguido por pentacosano (13,3%) e heptacosano (11,4%). No entanto, ao avaliar o extrato bruto da folha de moringa Chuang *et al.*, (2007) verificaram quantidade maior de pentacosano (17,41%) e hexacosano (11,20%). Porém, estes resultados se diferem dos citados por Barreto *et al.*, (2009) que encontraram em maior quantidade fitol (21,6%) e timol (9,6%) no óleo essencial de moringa cultivada no estado do Ceará.

Diversos fatores como a parte da planta utilizada, seu estágio de desenvolvimento, condições climáticas e de crescimento, destilação e estocagem, influenciam na composição química do óleo essencial. Observa-se na Tabela 1 que 1,28% dos terpenos é composto por monoterpeno (linalol) e 9,15% por sesquiterpeno (β -eudesmol). Estudos realizados por Marrufo *et al.*, (2013) com o óleo essencial da moringa cultivada em Moçambique, indicaram que o linalol foi encontrado em sua composição. Vicenço *et al.*, (2009) avaliaram a eficiência *in vitro* do linalol, (98,84%) composto majoritário puro do Ho-Sho no controle de *Colletotrichum sp.*, sendo que todas as concentrações avaliadas inibiram significativamente o desenvolvimento do fungo.

A ação antimicrobiana dos óleos essenciais pode estar associada com mecanismo de ação que os monoterpenos envolvem, principalmente, efeitos tóxicos à estrutura e à função da membrana celular (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Segundo Greay e Hammer (2011), os monoterpenos promovem mudança de potencial da membrana, perda de material citoplasmático e inibição da cadeia respiratória.

5. 2 EFEITO DO ÓLEO SOBRE OS FUNGOS

O *Penicillium sp.* foi o fungo que apresentou maior incidência (17,5%) nas sementes de feijão em estudo (Tabela 2). De acordo com Morais *et al.*, (2008) o *Penicillium* é considerado fungo de armazenamento e afeta a qualidade das sementes, devido à redução no poder germinativo, alteração na coloração e deterioração das mesmas, além de produzir micotoxinas prejudiciais à saúde humana e aos animais.

Por meio do método blotter test, Sallis; Lucca Filho; Maia (2001), obtiveram maior incidência de *Penicillium sp.* (63,0%) sobre as sementes de feijão-miúdo (*Vigna unguiculata (L) Walp*) produzidas em São José do Norte – RS. Os autores também registraram incidência de *Aspergillus sp.* (50,5%), *Alternaria sp.* (47,5%) e *Fusarium sp.* (33,75%), visto que as sementes de feijão podem transportar grande número de patógenos dos quais são capazes de causar doenças que prejudicam seu rendimento, como é o caso da *Alternaria sp.*, agente causal da mancha de

alternaria e o *Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli* causador da murcha ou amarelecimento de fusarium (ITO, 2004).

Os fungos do gênero *Aspergillus* são considerados de armazenamento e afetam a qualidade fisiológica das sementes (POPINIGIS, 1985 p. 233).

Tabela 2 - Principais gêneros fúngicos e sua incidência (%) em sementes de feijão da Cultivar colibri (método blotter test).

GÊNEROS	PORCENTAGEM (%)
<i>Alternaria sp.</i>	2,5
<i>Aspergillus flavus</i>	4,0
<i>Aspergillus Niger</i>	1,0
<i>Aspergillus ochraceus</i>	3,0
<i>Fusarium sp.</i>	3,0
<i>Penicillium sp.</i>	17,5
<i>Rhizopus sp.</i>	11,0

Na Figura 4 é possível observar o crescimento de fungos sobre as sementes de feijão. Suas estruturas e esporos visíveis com auxílio de um microscópio, podem ser observados na Figura 5.

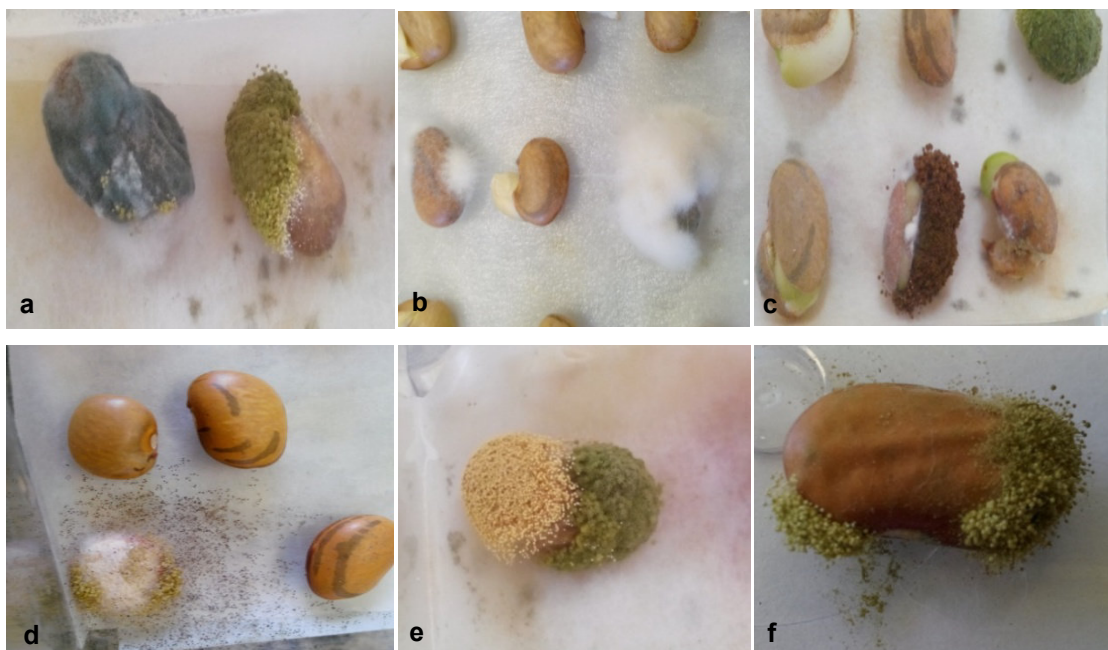


Figura 4 - Fungos crescendo nas sementes de feijão. *Penicillium sp.* (a); *Fusarium sp.* (b); *A. ochraceus* (c); *Rhizopus sp.* (d); *A.niger* (e) e *A. flavus* (f).

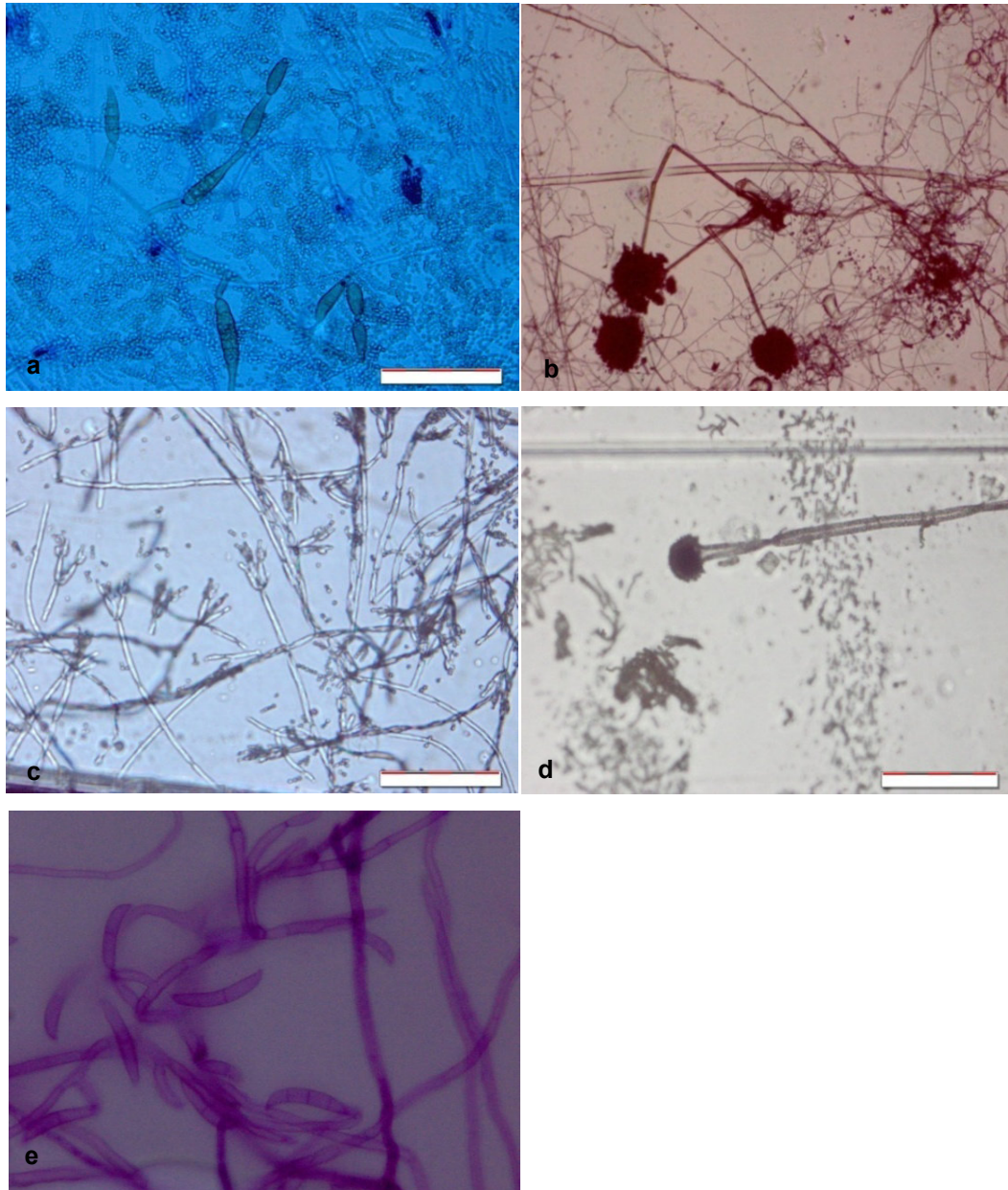


Figura 5 - Fungos que receberam tratamento com óleo essencial de moringa e fungicida: *Alternaria sp.* (a); *Rhizopus sp.* (b); *Penicillium sp.* (c); *Aspergillus* (d) e *Fusarium sp.* (e).

Os efeitos das doses de óleo essencial de moringa sobre a incidência (%) de *Penicillium sp.* em sementes de feijão da cultivar colibri (método blotter test) podem ser observados na Figura 6.

Pode-se observar que o tratamento com fungicida obteve melhor desempenho na inibição de germinação de esporos (1,02%), porém não diferindo estatisticamente dos tratamentos com 40 e 20 μL , (1,40%) e (1,25%) respectivamente, que por sua vez diferiram do tratamento testemunha (0 μL) que apresentou o pior desempenho (2,09%).

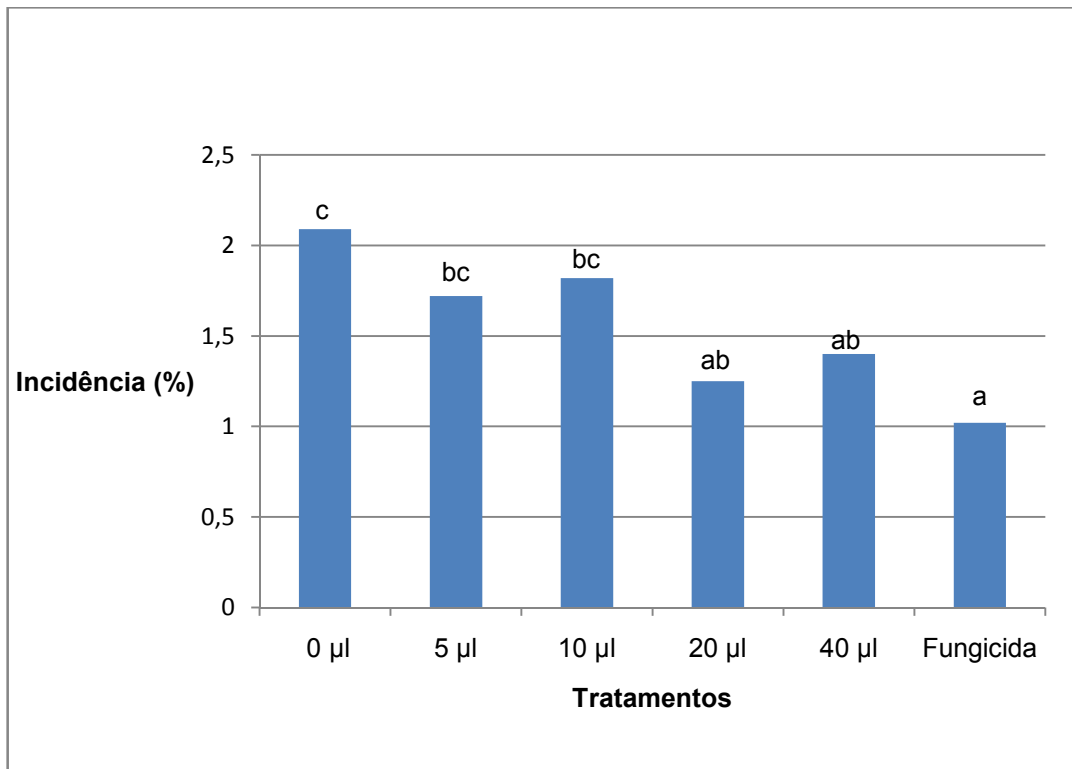


Figura 6 - Efeito das doses de óleo essencial de moringa sobre a incidência (%) de *Penicillium sp.* em sementes de feijão da cultivar colibri (método blotter test).

*Médias seguidas por letras distintas nas barras são estatisticamente diferentes entre si por meio do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Considerando que a ação antimicrobiana dos óleos essenciais depende de sua composição química, de acordo com os resultados observa-se, que a inibição de fungos pode estar associada com os compostos terpenos presentes no óleo essencial de moringa. Melo e Santos, (2002 apud SILVA *et al.*, 2009) verificaram que a ação fungitóxica do extrato de angico contra patógenos, pode ocorrer devido à presença de compostos taninos (polifenóis) que apresentam a capacidade de inibir enzimas ou até mesmo modificar complexos com íons metálicos reduzindo a disponibilidade desses para o metabolismo dos microrganismos.

As porcentagens de germinação de esporos dos fungos *Alternaria sp.*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Fusarium sp.* *Penicillium sp.*, *Rhizopus sp.* em função dos tratamentos com fungicida e diferentes doses de óleo essencial de moringa são apresentados nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 3 - Efeito das doses de óleo essencial de moringa sobre a porcentagem de germinação de esporos fúngicos.

Tratamento	<i>A. niger</i>	<i>A. ochraceus</i>	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Rhizopus sp.</i>
0 µL	7,77 ^d	4,03 ^{cd}	5,71 ^c	7,56 ^b
5 µL	5,97 ^c	5,31 ^e	4,46 ^{bc}	7,51 ^b
10 µL	7,63 ^d	4,59 ^{de}	7,33 ^d	7,48 ^b
20 µL	7,43 ^d	2,81 ^{bc}	4,75 ^c	7,33 ^b
40 µL	5,28 ^b	2,12 ^{ab}	3,21 ^b	7,20 ^b
Fungicida	1,00 ^a	1,00 ^a	1,00 ^a	1,00 ^a
C.V.	6,22	22,06	14,58	9,93

*Médias seguidas por letras distintas nas colunas são estatisticamente diferentes entre si por meio do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O menor percentual de germinação de esporos foi observado no tratamento com fungicida sobre os fungos *A. niger*, *Penicillium sp.*, *Rhizopus sp.*, *Alternaria sp.*, *A. flavus* e *Fusarium sp.* que diferiu estatisticamente dos demais. De acordo com Garcia, (1999) a alta fungitoxicidade constitui-se na principal propriedade requerida nos fungicidas.

Em relação ao *A. ochraceus* os tratamentos com fungicida e com a dose de óleo essencial correspondente a 40 µL apresentaram os melhores percentuais na inibição de germinação de esporos sendo estatisticamente iguais. Entretanto, a dose com 40 µL não diferiu do tratamento com 20 µL.

Souza; Araújo e Nascimento, (2007) avaliaram o efeito do extrato de alho (*Allium sativum L.*) sobre a germinação de esporos de *Fusarium proliferatum* nas concentrações de 0,5%, 1,0%, 2,5%, 5% e 1,00% e a partir da concentração de 2,5% constataram maior eficiência na ação fúngica do extrato.

Para o *A. niger* os tratamentos com doses de óleo essencial correspondentes a 5 e 40 µL apresentaram melhor desempenho diferindo estatisticamente dos demais. Porém, as doses com 10 e 20 µL apresentaram maior percentual de germinação de esporos, sendo estatisticamente iguais ao tratamento controle (0 µL). Lobato *et al.*, (2007), testaram a ação do óleo essencial de *Piper aducum L* sobre a incidência de fungos fitopatogênicos utilizando doses de 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 80%. Os resultados mostraram o mesmo efeito para as doses de 0,5 e

80%, o que torna, segundo o autor, o custo/benefício viável da concentração de 0,5% devido sua eficiência.

Quanto ao *Penicillium sp.* o tratamento com a dose de óleo essencial correspondente a 40 µL obteve melhor resultado, mas não diferiu estatisticamente do tratamento com 5 µL. Observa-se ainda que a dose correspondente a 10 µL obteve o pior desempenho, com porcentagens de germinação de esporos acima do tratamento controle (0 µL), sugerindo assim, que a inibição ou estímulo a germinação do esporo fúngico está relacionado à dose do óleo essencial de moringa utilizada.

Venturoso (2009) observou maior crescimento micelial de *Fusarium solani* em relação ao tratamento controle (0 µL), utilizando extrato de nim na concentração de 20%. De acordo com o autor isso pode ter ocorrido devido à presença de subprodutos nas sementes da planta que estimularam o crescimento do fungo. Carnelossi *et al.* (2009), verificaram resultado semelhante utilizando óleo essencial de *A. dracuncululus*, na inibição do fungo *C. gloeosporioides* com a dose de 25 µL sendo superior ao tratamento controle (0 µL).

Ainda observa-se que as doses de óleo essencial de moringa correspondentes a 5, 10, 20 e 40 µL e, também o tratamento controle (0 µL) não diferiram estatisticamente na inibição de germinação de esporos de *Rhizopus sp.*

Tabela 4 - Efeito das doses de óleo essencial de moringa sobre a porcentagem de germinação de esporos fúngicos.

Tratamento	<i>Alternaria sp.</i>	<i>A. flavus</i>	<i>Fusarium sp.</i>
0 µL	9,84 ^d	9,41 ^c	9,98 ^e
5 µL	9,81 ^d	9,16 ^c	9,94 ^e
10 µL	9,89 ^d	8,71 ^c	8,73 ^d
20 µL	8,64 ^c	9,12 ^c	6,04 ^c
40 µL	4,89 ^b	6,39 ^b	1,85 ^b
Fungicida	1,00 ^a	1,00 ^a	1,00 ^a
C.V.	3,46	4,93	4,58

*Médias seguidas por letras distintas nas colunas são estatisticamente diferentes entre si por meio do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para inibição de germinação de esporos de *Alternaria sp.* a dose de óleo essencial com 40 μL apresentou melhor resultado em relação ao tratamento com 20 μL . Os demais tratamentos correspondentes a 5 e 10 μL e tratamento controle (0 μL) foram estatisticamente iguais e obtiveram o pior desempenho, como pode ser visualizado na Figura 7. Seixas (2011) obteve resultado semelhante utilizando óleo essencial do capim-citronela na redução do crescimento micelial in vitro do fungo *Fusarium subglutinans* utilizando doses de 15 e 25 μL .

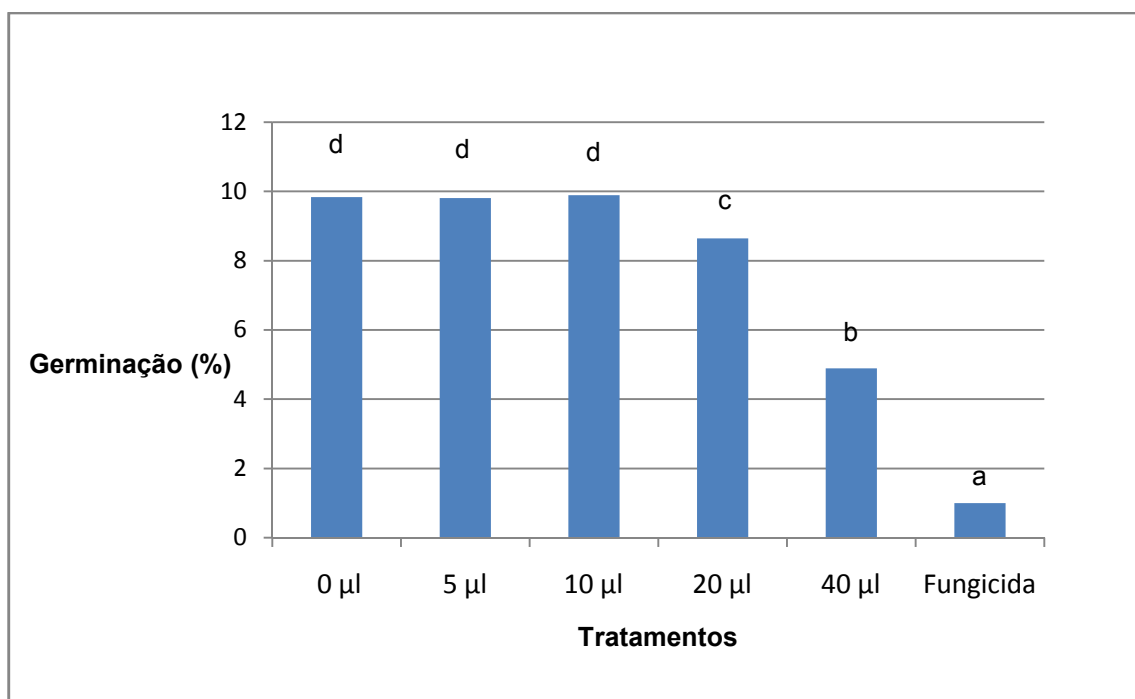


Figura 7 - Germinação de esporos de *Alternaria sp.*

*Médias seguidas por letras distintas nas barras são estatisticamente diferentes entre si por meio do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Com relação ao *A. flavus* o tratamento com óleo essencial correspondente a dose de 40 μL obteve o menor percentual de germinação de esporos (Figura 8) e apresentou melhor desempenho em relação às demais doses (5, 10 e 20 μL), visto que estas foram estatisticamente iguais ao tratamento controle (0 μL). Diniz *et al.*, (2008) utilizando óleo essencial de *Mentha arvensis L.* no controle de *Aspergillus sp.*, *Penicillium rubru*, *Fusarium moniliforme-UEM*, *Sclerotinia sp.* e *Corynespora cassicola* com tratamento de 10 μL , somente o fungo *Sclerotinia sp.* não apresentou

crescimento, no entanto sob o tratamento com maior dose de 100 μL todos os fungos sofrerão ação fúngica do óleo.

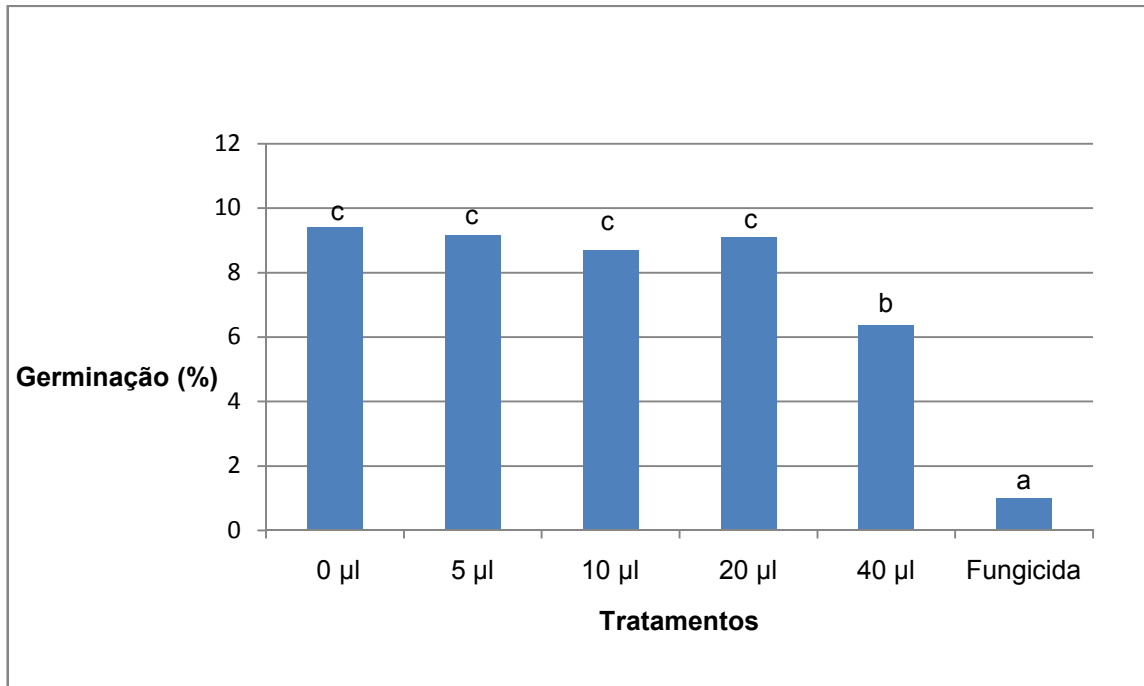


Figura 8 - Germinação de esporos de *A. flavus*.

*Médias seguidas por letras distintas nas barras são estatisticamente diferentes entre si por meio do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O tratamento com óleo essencial correspondente a dose de 40 μL obteve o melhor desempenho para a inibição de germinação de esporos de *Fusarium sp.*, e observou-se ainda que as doses de 10 e 20 μL apresentaram ação fúngica e diferiram estatisticamente, por sua vez, o tratamento controle (0 μL) e a dose de 5 μL foram estatisticamente iguais e apresentaram o pior resultado.

Silva, (2009) testou a atividade antifúngica por meio da inibição do crescimento micelial dos fungos *Cladosporium sphaerospermum*, *Colletotrichum lindemuthianum* e *Fusarium oxysporum* com o extrato metanólico da moringa nas concentrações de 2mg/mL, 4mg/mL e 6 mg/mL, o extrato foi eficiente na diminuição do crescimento micelial de todos os fungos em estudo, na proporção em que a dose aumentou o crescimento micelial diminuiu. Para Venturoso (2009) a ocorrência de disparidade na inibição do desenvolvimento de fitopatógenos pode estar relacionada com as diferentes concentrações testadas, visto que a uma tendência de que quanto

maior a concentração de extrato vegetal no meio de cultura, maior o efeito deste extrato na inibição do crescimento micelial do fungo, utilizando extrato aquoso de canela o autor verificou diminuição no crescimento micelial de *Colletotrichum sp.* e *Cercospora kikuchii* de acordo com o aumento das concentrações aplicadas.

De acordo com a Figura 9, é possível observar que ocorreu diminuição na germinação de esporos de *Fusarium sp.* na medida em que aumentou a dose de óleo essencial da moringa, demonstrando que o óleo de moringa é eficiente na eliminação deste fitopatógeno à medida em que há aumento na concentração de seus componentes químicos.

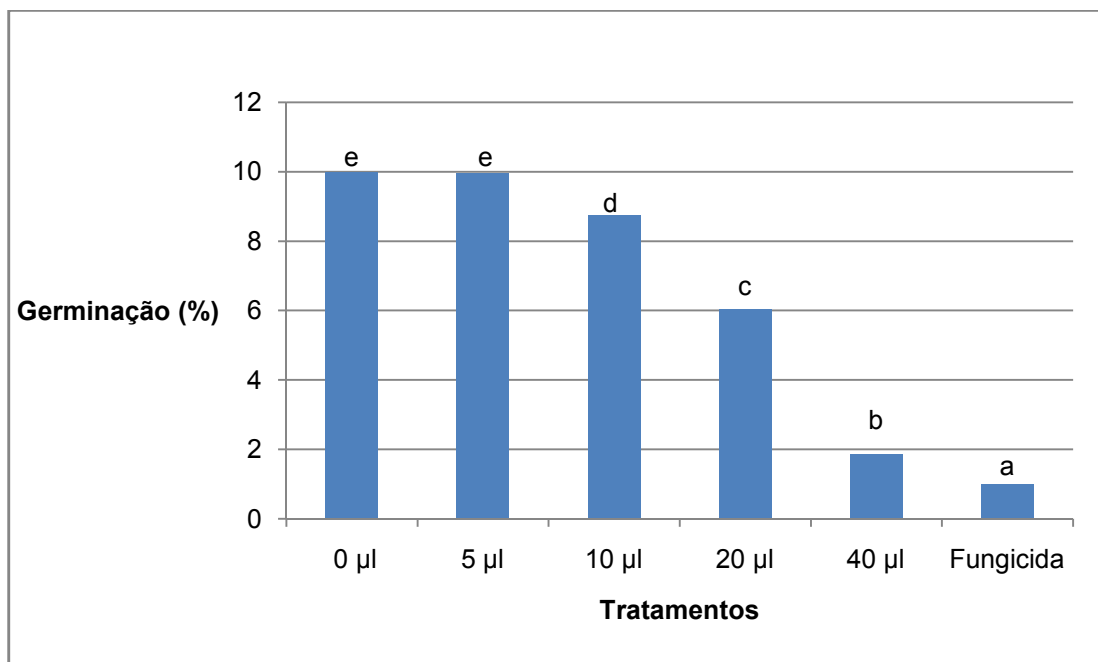


Figura 9 - Germinação de esporos de *Fusarium sp.*

*Médias seguidas por letras distintas nas barras são estatisticamente diferentes entre si por meio do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

6. CONCLUSÃO

Quanto à composição química do óleo essencial extraído da folha da moringa, foram identificados 11 compostos, dentre os quais constaram monoterpeno e sesquiterpeno, compostos que atuam como antimicrobianos.

O *Penicillium sp.* foi o fungo de maior incidência (17,5%) nas sementes de feijão avaliadas.

O tratamento com fungicida apresentou melhores resultados na inibição da germinação de esporos para os fungos *A. niger*, *Penicillium sp.*, *Alternaria sp.*, *A. flavus* e *Fusarium sp.*

No entanto, o óleo essencial de *M. oleifera* mostrou-se eficiente na inibição da germinação de esporos de *Fusarium sp.*, *Aspergillus flavus* e *Alternaria sp.* sob a concentração da maior dose, correspondente a 40 µL e na inibição de *Penicillium sp.* pelo método blotter test.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. Identification of essential oils components by gás chromatography/mass spectroscopy. 4. Ed. Carol Stream: Allured, 2007. 469p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SAÚDE COLETIVA – ABRASCO. **Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde.** Dossiê ABRASCO. Grupo Inter GTs de Diálogos e Convergências da ABRASCO. Rio de Janeiro, Word Nutrition, Rio de Janeiro, 2012. 1º Parte. 98p.

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.

BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. **Illustrate genera of fungi imperfect.** New York: MacMillan Co. 1986, 218p.

BARRETO, M.B.; FREITAS, J.V.B.D.; SILVEIRA, E.R.; BEZERRA, A.M.E.; NUNES, E.P.; GRAMOSA, N.V. Volatile and non-volatile chemical constituents of *Moringa oleifera* Lam., Moringaceae. *Revista Brasileira Farmacognosia*. v.19, n.4, p.893–897, 2009.

BETTIOL, Wagner; MORANDI, Marcelo A. B. **Biocontrole de Doenças de Plantas: Uso e Perspectivas.** Embrapa Meio Ambiente. Jaguariúna. 2009, 341 p.

BEZERRA, Antonio Marcos E.; MOMENTÉ, Valéria G.; FILHO, Sebastião Medeiros. **Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de moringa (*Moringa oleifera* Lam) em função do peso da semente e do tipo de substrato.** *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.22 n2, p. 295-299, 2004.

BRASIL. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de arotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, 11 de julho de 1989. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l7802.htm > Acesso em 10 Set 2014.

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, 395p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Perfil do feijão no Brasil.** 2009. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/feijao/saiba-mais>>. Acesso em 21 Ago 2014.

BRUM, Rúbia Borges Cruz Sarmiento. **Efeito de óleos essenciais no controle de fungos fitopatogênicos.** Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Tocantins – Gurupi – TO, 2012.

CARNELOSSI, P.R. SCHWAN-ESTRADA, K.R.F; CRUZ, M.E.S; ITAKO, A.T.; MESQUINI, R.M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 4, p. 399-406, 2009.

CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL – CIAT. Investigación en frijol. Disponível em: <<http://ciat.cgiar.org/es/investigacion-en-frijol>> Acesso em 02 Set 2014.

CHUANG, P. H.; LEE, C. W.; CHOU, J. Y.; MURUGAN, M.; SHIEH, B. J.; CHEN, H. M. (2007). **Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam.** *Bioresource technology* 98, 2007. 232-236.

COMISSÃO TÉCNICA SUL-BRASILEIRA DE FEIJÃO. **Informações técnicas para o cultivo de feijão na Região Sul brasileira.** Empresa de Pesquisa e Extensão Rural de Santa Catarina - Florianópolis: Epagri, 2 ed. 2012. 157p. Disponível em: <http://www.epagri.sc.gov.br/wpcontent/uploads/2013/10/informacoes_tecnicas_cultivo_feijao.pdf> Acesso em 25 Ago 2014.

DINIZ, S. P. S. S.; COELHO, J. S.; ROSA, G. S., SPECIAN, V.; OLIVEIRA, R. C.; OLIVEIRA, R. R. (2008). Bioatividade do óleo essencial de *Mentha arvensis* L. no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira. Plantas Mediciniais**, v.10, 2008, p.9-11.

DONLI, P.; DAUDA, H. Valuation of aqueous *Moringa* seed extract as a seed treatment biofungicide for groundnuts. **Pest Management Science**, v.59, n.9, p.1060-1062, 2003.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Cultivo do Feijoeiro Comum. Sistemas de Produção. EMBRAPA Arroz e Feijão, 2. ISSN 1679-8869. Versão eletrônica. Jan/2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/cultivares.htm>> Acesso em 28 Ago 2014.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Monitoramento do Risco de Agrotóxicos: princípios e recomendações.** Embrapa meio ambiente. Documentos, 42. Jaguariúna – SP, 29 p. 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Biocontrole de Doenças de Plantas: Uso e Perspectivas.** Jaguariúna, SP, 341p. 2009. Disponível em <http://www.cnpma.embrapa.br/download/livro_biocontrole.pdf> Acesso em 15 Jun 2014.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Diagnóstico socioeconômico da cultura do feijão no Brasil.** Monitoramento por Satélite, Campinas – SP, 2012. Disponível em <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/959522>> Acesso em 25 Jul 2014.

GARCIA, A. **Fungicidas I: utilização no controle químico de doenças e sua ação contra os fitopatógenos.** Porto Velho: EMBRAPA-CPAF Rondônia Documentos 32p., 1999.

GONÇALVES G. G.; MANCINELLI R. C.; MORAES L. A. S. 2009. Influência do horário de corte no rendimento de óleo essencial de alfavaquinha e alecrim.

GREAY, S.; HAMMER, K.A. **Recent developments in the bioactivity of mono- and diterpenes: anticancer and microbial activity,** *PHYTOCHEMISTRY REVIEWS*, Online, p. 1-6. 2011.

HOOLEY, R. A.; PATEL, D. **Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oil and smoke antimicrobials.** *Food Microbiology*, 27, p. 273-292, 2005.

IAMANAKA, Beatriz Thie, OLIVEIRA, Idjane Santana, TANIWAKI, Marta Hiromi. **Micotoxinas em alimentos.** Anais da Academia Pernambucana de Ciências Agrônômica, Recife, vol. 7, p. 138-161, 2010.

ITO, Marcio Akira. Patogenicidade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, **Adução Nitrogenada e Produtividade de Feijão.** Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – SP. Piracicaba, 2004. 61p. CDD 635.652.

JASPER, Mônica. **Comparativo de diferentes grupos de fungicidas no controle de doenças do feijoeiro**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa – PR, Ponta Grossa, 2010.

KIILL, Lúcia Helena Piedade; MARTINS, Carla Tatiana de Vasconcelos Dias; LIMA, Paulo César Fernandes. **Moringa oleifera: Registro dos Visitantes Florais e Potencial Apícola para a Região de Petrolina**. Embrapa Semiárido. ISSN 18089968. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 101. Petrolina, PE 2012.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; FILHO, Bergamim A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas**. Departamento de Fitologia Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo vol 2 1997.

LAZZARI, Flavio Antonio. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações**. 2ª ed. Curitiba, 1997.

LOBATO, A. D. S.; SANTOS, D. G. C.; OLIVEIRA, F. C.; Gouvêa, D. D. S.; TORRES, G. I. O. S.; LIMA-JUNIOR, J. A.; NETO, C. F. O.; SILVA, M. H. L. **Ação do óleo essencial de *Piper aduncum* L. utilizado como fungicida natural no tratamento de sementes de *Vigna unguiculata* (L.) Walp.** Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v.5. supl., 2007, p.915-917

LUNA, Adeilson José de; SALES, Leonardo Teixeira de; SILVA, Ronaldo Faustino da. **Agrotóxicos: Responsabilidade de todos (Uma abordagem da questão dentro do paradigma do desenvolvimento sustentável)**. 2011. Disponível em: <http://www.mpba.mp.br/atuacao/ceama/material/doutrinas/agrotoxicos/agrotoxicos_responsabilidade_de_todos.pdf> Acesso em 11 Set 2014.

MARRUFO, T.; NAZARRO, F.; MANCINI, E.; FRATIANNI, F.; COPPOLA, R.; MARTINO, L.; AGOSTINHO, A. B.; DE FEO, V. Chemical Composition and Biological Activity of the Essential Oil from Leaves of *Moringa oleifera* Lam. Cultivated in Mozambique. *Molecules*, v.28, p.10. 989-11.000, 2013.

MAZIERO, Maike Taís; BERSOT, Luciano dos Santos. **Micotoxinas em Alimentos Produzidos no Brasil**. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.12, n.1, p.89-99, 2010.

MORAIS, L., RAMOS, N., GONÇALVES, G., BETIOL, W.; CHAVES, F. **Atividade antifúngica de óleos essenciais em sementes de feijão cv. carioquinha**. *Hortic. bras*, v.26, n2, 2008.

National Institute of Standards and Technology - NIST: Disponível em <www.nist.gov>. Acesso em 12 de Setembro de 2014.

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

PELAEZ, Victor; TERRA, Fábio Henrique Bittes; SILVA, Letícia Rodrigues da. **A regulamentação dos agrotóxicos no Brasil: entre o poder de mercado e a defesa da saúde e do meio ambiente.** Revista de economia, v.36, nº1 (ano 34), p.27-48. Editora UFPR 2010.

PEREIRA, Maria Marlucia Gomes; CARVALHO, Eliana Pinheiro de; PRADO, Guilherme. **Crescimento e produção de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*.** B. CEPPA, Curitiba, v. 20, n.1 p. 141-156, jan/jun. 2002.

POPINIGIS, Flávio. **Fisiologia da semente.** Brasília – DF. 2.ed., 1985. 289p. Disponível em < <http://www.popinigis.net/Home/Fisiologia>> Acesso em 08 Set 2014.

PROBST, Isabella da Silva. **Atividade Antibacteriana de óleos essenciais e Avaliação de Potencial Sinérgico.** Botucatu – SP, 2012.

RANGEL, Maria Salete. ***Moringa oleifera*: um Purificador Natural de Água e Complemento Alimentar para o Nordeste do Brasil.** 2003. Disponível em: <<http://www.jardimdeflores.com.br/floresefolhas/A10moringa.htm>> Acesso em 18 Set 2014.

RIBAS, Priscila Pauly; MATSUMURA, Aida Terezinha Santos. A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente. **Revista Liberato**, v. 10, n. 14, 2009.

ROMERO, Adriano Lopes; SPECIAN, Vânica; OLIVEIRA, Rodrigo Cardoso de; DINIZ, Sergio Paulo Severo de. **Atividade do óleo essencial de Tomilho (*Thymus vulgaris* L.) contra fungos fitopatogênicos.** UNOPAR, p.15, 2009.

SALLIS, M. G. V.; LUCCA-FILHO, Orlando Antonio; MAIA, M. S. Fungos associados às sementes de feijão-miúdo (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) produzidas no município de São José do Norte (RS). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 1, p. 36-39, 2001.

SCHERER, R; WAGNER, R; DUARTE, M.C.T.; GODOY, H.T. **Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. Botucatu, v.11, n4, p.442-449, 2009.

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO – SEAB. Feijão – **Análise da Conjuntura Agropecuária**, outubro, 2013. Disponível em <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/feijao_2013_14.pdf> Acesso em 20 Jul 2014.

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.** Universidade Federal do Tocantins, Curso de Agronomia. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.13, especial, p.523-524, 2011.

SIANE, Antônio Carlos; SAMPAIO, André Luiz Franco; SOUSA, Mariana Conceição de; HENRIQUES, Maria das Graças Muller Oliveira; RAMOS, Mônica Freiman de Sousa. **Óleos essenciais: Potencial anti-inflamatório.** Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento. 2000. Disponível em: <<http://s.terceiravia.org.br/wp-content/uploads/2011/07/leos-essenciais1.pdf>> Acesso em 20 Set 2014.

SILVA, M.B.; NICOLI, A; COSTA, A.S.V.; BRASILEIRO, B.G.; JAMAL, C.M.; SILVA, C.A.; PAULA JÚNIOR, T,J.; TEIXEIRA, H. **Ação antimicrobiana de extratos de plantas medicinais sobre espécies fitopatogênicas de fungos do gênero *Colletotrichum*.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. Botucatu, v.10, n.3, p. 57-60, 2008.

SILVA, R.A.C.; SOUZA, T.O.; DIAS, L.P.; ANDRADE, T.J.A.S. **Ação do extrato metanólico da *Moringa oleifera* sobre o crescimento micelial de fitopatógenos.** IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Inovação Tecnológica. Belém, PA, 2009.

SOUZA, Anne EF, Egberto Araújo; Luciana C. Nascimento. **Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho.** Fitopatologia Brasileira, São Paulo, n.32, 2007, p.465-471.

SPADOTTO, Claudio A.; GOMES, Marco Antônio F.; LUCHINI, Luiz Carlos; ANDRÉA, Mara M de. **Monitoramento do Risco Ambiental de Agrotóxicos: princípios e recomendações.** Embrapa Meio Ambiente. ISSN 1516-4691. Documentos, 42 Jaguariúna, 2004. 29p.

VENTUROSOS, Luciano dos Reis. **Extratos Vegetais no Controle de Fungos Fitopatogênicos à Soja**. Dissertação (Pós-Graduação em Agronomia) Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados - Mato Grosso do Sul, 2009.

VICENÇO, Camila Bonatto; CORÁ, Araceli; PANSERA; Marcia R.; RIBEIRO, Rute T. Silva. **Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais**. Universidade de Caxias do Sul, Centro de Ciências Agrárias e Biológicas, Instituto de Biotecnologia, Laboratório de Controle Biológico de Doenças de Plantas. XVII Encontro de jovens pesquisadores da UCS – 2009.

VIZZOTO, Márcia; KROLOW, Cristina; WEBER, Gisele Eva Bruch. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Embrapa Clima Temperado. ISSN 1516-8840. Documentos, 316. Pelotas, RS, 2010. 16p.

YOKOYAMA, Lidia Pacheco. **Cultivo do feijoeiro comum: Importância econômica**. Sistemas de produção, 2. Embrapa arroz e feijão. ISSN 1679-8869 Versão eletrônica. Janeiro, 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/importancia.htm>>. Acesso em: 28 Ago 2014.