

**ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO DE CRAVO-
DA-ÍNDIA NO CONTROLE DE *Colletotrichum*
gloeosporioides, AGENTE DA MANCHA
MANTEIGOSA, EM SEMENTES E MUDAS DE
CAFÉ**

ROSANA OLIVEIRA PIERRE

2009

ROSANA OLIVEIRA PIERRE

**ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO DE CRAVO-DA-ÍNDIA NO
CONTROLE DE *Colletotrichum gloeosporioides*, AGENTE DA MANCHA
MANTEIGOSA, EM SEMENTES E MUDAS DE CAFÉ**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador
Prof. Dr. Mario Sobral de Abreu

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Pierre, Rosana Oliveira.

Óleo essencial e extrato de cravo-da-índia no controle de
Colletotrichum gloeosporioides, agente da mancha manteigosa, em
sementes e mudas de café / Rosana Oliveira Pierre. – Lavras :
UFLA, 2009.

61 p.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: Mario Sobral de Abreu.

Bibliografia.

1. *Coffea arabica*. 2. Controle alternativo. 3. *Colletotrichum
gloeosporioides*. 4. Óleos essenciais 5. Extratos vegetais I.

Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 633.739424

ROSANA OLIVEIRA PIERRE

**ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO DE CRAVO-DA-ÍNDIA NO
CONTROLE DE *Colletotrichum gloeosporioides*, AGENTE DA MANCHA
MANTEIGOSA, EM SEMENTES E MUDAS DE CAFÉ**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 19 de fevereiro de 2009

Prof. Dr. Eduardo Alves

UFLA

Dra. Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa

Embrapa Café

Prof. Dr. Mario Sobral de Abreu
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

A **Deus**, que me deu a vida e sempre esteve comigo, me guiando, iluminando e me dando forças para seguir.

A minha mãe, **Rita Maria Pierre (no coração)**: minha vida e minha inspiração. Como gostaria de poder sentir o calor do seu abraço e ver o brilho dos seus olhos no dia de hoje. Brilho que sempre esteve presente em todas as minhas conquistas e na realização de todos os meus sonhos. Sinto muito por não poder ouvir suas doces palavras de orgulho. Lamento muito, mas acredito que fui muito feliz até o momento que Deus a levou, pois tive a benção de ter compartilhado tantos outros momentos da minha vida com a senhora. Agradeço muito por tudo que fez para mim. Agora só restam lágrimas de saudades e lembranças eternas. Você estará sempre viva em meu coração, na minha memória e na minha vida.

OFEREÇO

Ao meu amado pai, **Paulo**, pelo imenso amor, paciência, apoio e confiança.

Aos meus amados irmãos, **Patrícia e Danilo**, que sempre me apoiaram.

Ao **Marcos**, meu amor, pela paciência incondicional, amor e confiança.

A minha avó **Andreлина**, que tanto amo e admiro.

A todos meus familiares e amigos, por todo amor e carinho.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre me iluminou e me guiou pelo caminho certo em todos os momentos da minha vida.

Ao professor Mario Sobral de Abreu (um verdadeiro “pai”), a quem faço um agradecimento especial, pela orientação, dedicação amizade e paciência demonstrados em todos os momentos. Sua confiança foi essencial para a realização do meu trabalho.

Ao professor Eduardo Alves, pela coorientação, auxílio, quando necessitei e pela gentileza de aceitar participar da banca examinadora.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (Fapemig), pela concessão da bolsa.

À pesquisadora Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa, pela atenção, sugestões e pela gentileza em aceitar participar da banca examinadora.

A todos os professores do Departamento, pelos seus ensinamentos e amizade.

A minha amiga Eloísa Leite, pela confiança, amizade e pelo seu constante auxílio na microscopia de varredura.

Aos amigos Bruno Marques e Cláudio Ogoshi (que foram meu braço direito), pela amizade, entusiasmo, dedicação, atenção, paciência e ajuda na condução dos experimentos.

Aos grandes amigos Luciane Rozwalka, Eudes Arruda e Vanessa Foresti, pela amizade, apoio, paciência e ajuda que só fizeram enriquecer os meus trabalhos.

Aos amigos Felipe, Régis, Douglas, Vladimir, Josiane e Angélica, pela amizade e ajuda na condução dos experimentos.

À secretária Jaqueline, pela amizade, paciência e atenção sempre.

Aos funcionários dos Departamentos de Fitopatologia e Agricultura: Rutinha, Ana, Eliane, Eliana (Léa), Dona Rosângela, Biotita, Ângela, Tarley, Edinho, Moisés e Dona Elza, por toda atenção e auxílio prestados.

Aos grandes amigos, Elma, Lahyre e Rejane, pela amizade e carinho.

Às amigas e irmãs de coração que sempre estarão em minhas recordações: Jucilayne Vieira e Fernanda Martins, pela ajuda, paciência, carinho, amizade e pelos momentos de alegria.

Aos amigos do departamento: Valquíria, Stélio, Cecília, Flávia, Ana Beatriz, Ana Cristina (Aninha), Bernardo, Esdras, Hebe, Igor, Henrique, João Eduardo, Rodrigo, Amanda, Pedro, Daniel, Juliano, Mirella, Karol, Luana, Luis Henrique, Glauco, Fabiano, Luciana, Cleilson e Eduardo, que deixarão saudades.

Às amigas Patrícia e Tânia, pela amizade e ajuda na estatística de alguns trabalhos.

Aos meus amados pais, que sempre se dedicaram de corpo e alma à minha educação, que sempre se preocuparam com o meu bem-estar, que sempre acreditaram em mim e me deram amor e carinho.

Aos meus irmãos Patrícia e Danilo, que muito me ajudaram em todos os momentos da minha, pelo amor, dedicação, carinho e confiança.

As minhas cunhadas, Marília e Maísa, pela amizade, carinho e incentivo.

Aos meus sogros Maria (Fia) e Maurílio, por trazerem ao mundo o meu amor, Marcos e por todo amor e carinho durante todos esses anos.

Ao meu noivo, Marcos, meu amor, minha vida que, mesmo distante, muito me incentivou a lutar pelos meus objetivos, por seu amor, apoio incansável, carinho, paciência e por sempre ter me acolhido de braços abertos em todos os momentos da minha vida.

Ao amigo e eterno professor, João Lúcio de Rezende, que me fez ver e aprender a importância dos estudos em minha vida, pela sua ajuda, dedicação e amizade, sem o seu apoio e perseverança eu não estaria onde estou hoje.

Ao amigo Aurélio, por sua companhia nas arriscadas caronas, pelos momentos de alegria, por sua sincera amizade.

Aos meus tios Antônio, Irani, Francisca e Tita e minha vovózinha Maria Andreлина, pelo carinho, amor e apoio no momento mais difícil da minha vida.

A todos os meus familiares pelo amor e carinho.

À amiga, madrinha e irmã, Marly, pela eterna amizade, carinho, paciência, companhia, dedicação e pelos conselhos amorosos.

Às amigas de república, Lidy, Dani e Telma, pela amizade, ótima convivência e carinho sempre.

Aos meus VERDADEIROS AMIGOS de Porto Firme: Leley, Danúbia, Zé do Carmo, Carina, Rayane, Bruno, Janaine, Giovani, Damilton e Camila, pela amizade, carinho, companheirismo e pelos momentos de descontração e muita alegria.

À amiga, irmã e confidente: Soninha que, mesmo com a distância sempre esteve ao meu lado, me apoiando nos momentos difíceis, me incentivando a lutar nos momentos de fraqueza. Alguém por quem tenho muita admiração e carinho.

À amiga/Madrinha Yara, pela amizade, carinho e por sempre estar do meu lado.

Às grandes amigas Sidnéia, Eliana e Rosana, pelo carinho, pela amizade e por poder contar com elas sempre que precisei.

Meu agradecimento especial a todas as pessoas cujos nomes foram omitidos, mas que contribuíram para a realização deste trabalho.

A todos que colaboraram, direta ou indiretamente, para a minha formação e realização de mais um sonho, O MEU MUITO OBRIGADA!!!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
ABSTRACT	ii
CAPÍTULO 1: Óleo essencial e extrato de cravo-da-índia no controle de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , agente da mancha manteigosa, em sementes e mudas de café.....	1
1 Introdução geral.....	2
2 Referências bibliográficas.....	7
CAPÍTULO 2: Óleo essencial e extrato de cravo-da-índia no tratamento de sementes de café inoculadas com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	10
Resumo.....	11
Abstract.....	12
1 Introdução.....	13
2 Material e métodos.....	15
2.1 Obtenção do isolado de <i>C. gloeosporioides</i>	15
2.2 Inoculação e tratamento das sementes de café.....	16
2.3 Óleo essencial e extrato de cravo-da-índia na inibição do crescimento micelial de <i>C. gloeosporioides</i>	17
2.4 Incidência de <i>C. gloeosporioides</i> e outros fungos associados às sementes de café tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia.....	17
2.5 Parâmetros fisiológicos de sementes e plântulas de café.....	18
2.5.1 Germinação de sementes de café tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia	18
2.5.2 Índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de café tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia.....	19

2.5.3	Matéria seca (MS) da parte aérea e raiz das plântulas em estágio de orelha de onça, provenientes de sementes de café tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia.....	19
3	Delineamento experimental e análise estatística.....	20
4	Resultados e discussão.....	21
4.1	Óleo essencial e extrato de cravo-da-índia na inibição do crescimento micelial de <i>C. gloeosporioides</i>	21
4.2	Incidência de <i>C. gloeosporioides</i> e outros fungos associados às sementes de café tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia.....	22
4.3	Desempenho fisiológico de sementes e plântulas de café.....	28
4.3.1	Germinação de sementes de café tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia.....	28
4.4	Índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de café tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia.....	30
4.5	Produção de matéria seca (MS) da parte aérea e raiz das plântulas em estágio de orelha de onça, provenientes de sementes de café tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia.....	32
5	Conclusões.....	34
6	Referências bibliográficas.....	35
	CAPÍTULO 3: Óleo essencial e extrato de cravo-da-índia no controle da mancha manteigosa (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>) em mudas de cafeeiro.....	38
	Resumo.....	39
	Abstract.....	40
1	Introdução.....	41

2	Material e métodos.....	44
2.1	Obtenção do isolado de <i>C. gloeosporioides</i>	44
2.2	Obtenção das mudas de café.....	45
2.3	Óleo essencial e extrato de cravo-da-índia no controle de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , agente da mancha manteigosa, <i>in vivo</i>	45
2.4	Matéria seca (MS) da parte aérea e raiz de mudas provenientes de sementes de plantas saudas e doentes tratadas com o óleo essencial e extrato de cravo-da-índia.....	48
3	Resultados e discussão.....	49
3.1	Óleo essencial e extrato de cravo-da-índia no controle de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , agente da mancha manteigosa, <i>in vivo</i>	49
3.2	Matéria seca (MS) da parte aérea e raiz de mudas saudas e doentes tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia.....	53
4	Conclusões.....	56
5	Referências bibliográficas.....	57
	Considerações finais.....	60

RESUMO

PIERRE, Rosana Oliveira. **Óleo essencial e extrato de cravo-da-índia no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente da mancha manteigosa, em sementes e mudas de café.** 2009. 61 p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) a 0,25%, 0,5%, 0,75% e 1,0% e extrato de cravo-da-índia a 0,1%, 1,0%, 10% e 20%: (i) na inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides*; (ii) na incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* e de outros fungos associados às sementes; (iii) em parâmetros fisiológicos de sementes e plântulas de café; (iv) no controle da mancha manteigosa em mudas de cafeeiro; (v) e na produção de matéria seca (MS) da parte aérea e da raiz das mudas. O óleo essencial e o extrato de cravo-da-índia apresentaram-se como produtos potenciais, inibindo o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, *in vitro*. Nas sementes, foi constatada uma microflora formada por *C. gloeosporioides* e fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Cladosporium*, sendo que o óleo e extrato reduziram a ocorrência de alguns desses fungos. O óleo de cravo a 0,5% e 1,0% e o extrato de cravo a 20% promoveram um aumento da porcentagem de sementes normais de café. O óleo de cravo a 0,25%, 0,5% e 1,0% e o extrato de cravo a 20% promoveram aumento do IVE das sementes. Todos os tratamentos com óleos e extratos com exceção do óleo a 0,75% e extrato a 1,0% promoveram uma maior produção de MS da parte aérea das plântulas de café. O extrato a 0,1%, 10% e 20% e o óleo essencial de cravo a 0,5%, 0,75% e 1,0% apresentaram-se como produtos potenciais na redução da AACPS da doença. O óleo de cravo a 0,75%, o extrato de cravo nas concentrações 0,1%, 1,0% e 10%, e o fungicida apresentaram maior MS de parte aérea para as mudas doentes. O extrato de cravo a 10% apresentou maior MS de parte aérea para as mudas doentes do que para as mudas saudias. O fungicida e a testemunha inoculada apresentaram maior MS de raiz para as mudas saudias. A testemunha inoculada apresentou maior MS de raiz para as mudas saudias do que para as mudas doentes.

***Comitê de Orientação:** Mario Sobral de Abreu – UFLA (Orientador); Eduardo Alves – UFLA (Co-orientador).

ABSTRACT

PIERRE, Rosana Oliveira. **Clove essential oil and extracts in the control of *Colletotrichum gloeosporioides*, battery spot agent, in seeds and seedlings of coffee.** 2009. 61 p. Dissertation (Master in Phytopathology) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

This study aimed to evaluate the effect of essential oil of clove (*Syzygium aromaticum*) at 0.25%, 0.5%, 0.75%, 1.0%, and extract at 0.1%, 1.0%, 10% and 20% in: (i) the inhibition of mycelial growth of *C. gloeosporioides*, in vitro, (ii) the incidence of *C. gloeosporioides* and other fungi associated with seeds, (iii) the physiologic parameter from seeds and seedlings of coffee; (iv) in the control of the battery spot; (v) and in the production of dry mass (DM) from roots and foliage of seedlings. The essential oil and extract of clove showed it were potential products to inhibiting the mycelial growth of *C. gloeosporioides*, in vitro. It was found a microflora formed by *C. gloeosporioides* and fungi of the genus *Aspergillus*, *Fusarium* and *Cladosporium*. The clove essential oil and extract reduced the occurrence of some these fungi. The essential oil at 0,5% e 1,0% and extract at 20% stimulated the germination of coffee seeds. The clove oil at concentrations 0.25%, 0.5% and 1,0% and the extract at 20% showed higher IVG. All treatments with the oil and extract, with the exception of oil at 0.75% and fungicide, promoted greater production of DM of the foliage of the seedlings in relation to control. For disease seedlings, clove extract at 0.1%, 10% and 20%, and clove oil at 0.5%, 0.75% and 1.0% had the lowest area under the disease progress curve (AUDPC). The clove oil at 0.75%, the extract of clove in the concentrations 0.1%, 1.0% and 10%, and the Chlorothalonil fungicide had higher foliage DM in the disease seedlings. The extract of clove at 10% showed greater foliage DM for the diseased seedlings than healthy seedlings. The fungicide and inoculated control had higher root DM than healthy seedlings. The inoculated control had higher root DM for healthy seedlings than for diseased seedlings.

***Comitê de Orientação:** Mario Sobral de Abreu – UFLA (Orientador); Eduardo Alves – UFLA (Co-orientador).

CAPÍTULO 1

ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO DE CRAVO-DA-ÍNDIA NO CONTROLE DE *Colletotrichum gloeosporioides*, AGENTE DA MANCHA MANTEIGOSA, EM SEMENTES E MUDAS DE CAFÉ

1 INTRODUÇÃO GERAL

As plantas do gênero *Coffea* pertencem à família Rubiaceae e têm como provável centro de origem, ou de diversificação, a Etiópia. Esse gênero abrange várias espécies botânicas, porém, apenas *Coffea arabica* (L) e *Coffea canephora* (Pierre ex Froenher) são cultivadas no mundo em regiões tropicais e subtropicais, sendo da primeira a maior parte do café produzido mundialmente (Conagin & Mendes, 1961).

O Brasil destaca-se como o maior produtor e exportador mundial de café com uma safra estimada, para 2008/2009, entre 36,9 e 38,8 milhões de sacas de 60 kg de café (arábica e conilon) beneficiado e com área total cultivada com café (arábica e conilon), estimada em 2.350.779 hectares, dos quais 228,2 mil hectares (9,7%) estão em formação e 2.122,6 mil hectares (90,3%) em produção (Companhia Nacional de Abastecimentos, 2009).

A cafeicultura é uma das mais importantes atividades agrícolas do Brasil, especialmente pela geração de emprego e renda em municípios interioranos dos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Bahia, Rondônia e Rio de Janeiro, que correspondem a 98,2% da produção nacional. O estado de Minas Gerais vem se destacando como o maior produtor nacional, sendo responsável por 50,1% do total da produção nacional (Conab, 2009).

Nos países produtores, a cultura do café é afetada por diversos problemas fitossanitários que causam perdas de produção quando não são adotadas medidas eficazes de controle. No continente africano, *Colletotrichum kahawae* ocasiona a “coffee berry disease” (CBD), que ataca frutos verdes em desenvolvimento e é o principal fator limitante da produção, com redução na produtividade entre 50% a 80%, estando restrita à África (Orozco, 2003).

No Brasil, problemas fitossanitários tais como as antracnoses e a mancha manteigosa (Complexo *Colletotrichum*), a ferrugem (*Hemileia vastatrix*), a cercosporiose (*Cercospora coffeicola*), a mancha de phoma (*Phoma spp.*), as bacterioses (*Xylella fastidiosa*) e as viroses acometem a cultura do café, podendo ocasionar redução na produção e qualidade (Dorizzotto & Abreu, 1993 b; Chalfoun, 1997; Paradela Filho et al., 2001).

No complexo *Colletotrichum*-cafeeiro, há diversos patossistemas, tais como mancha manteigosa, antracnose de folhas e frutos, seca ou morte de ponteiros (*dieback*), queima castanha (*brown blight*) e antracnose-dos-frutos-verdes ou CBD (*coffee berry disease*) (Hocking, 1966; Pereira & Chaves, 1978; Waller et al., 1993; Voltan, 2002; Orozco, 2003)

No Brasil, a mancha manteigosa é uma doença altamente deletéria aos cafeeiros infectados, levando a uma diminuição progressiva na produtividade, culminando, inclusive com a morte dos cafeeiros (Ferreira et al., 2005).

A grande preocupação é que se acredita que a transmissibilidade deste patógeno seja pela semente, já que a maioria de nossas lavouras é formada a partir de mudas provenientes de sementes e outras formas de transmissão ainda não foram confirmadas. Dessa forma, é de fundamental importância a obtenção de sementes de alta qualidade fisiológica e sanitária. O uso de sementes sadias, obtidas de lavouras com controle fitossanitário, tem proporcionado bons resultados na produtividade, além de lavouras mais vigorosas (Orozco et al., 2002).

A flora microbiana do café é bastante vasta e sua atuação está diretamente relacionada a alguns sabores e aromas que alteram as características peculiares do produto. Bitancourt (1957), trabalhando com café em diferentes fases do preparo, no cafezal e no terreiro de secagem, realizou diversos isolamentos e observou que os fungos mais abundantes eram *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, *Colletotrichum coffeanum* (Zinn) Noack, *Fusarium sp. e*

bolores verdes (*Penicillium* spp.). Também foram identificados *Aspergillus niger* v. *Tiegh*, no café seco no terreiro e *Cladosporium* sp., que se desenvolve ainda no pé e não no terreiro durante a secagem, como normalmente ocorre com outros fungos. Ainda no mesmo trabalho, verificou-se que 55% dos frutos de café seco do terreiro apresentaram leveduras.

Considerando que o *C. gloeosporioides* é um patógeno altamente destrutivo aos cafeeiros, o controle químico é uma das práticas mais utilizadas. Porém o uso indiscriminado de agrotóxicos pode causar danos ao ambiente, levando a um desequilíbrio ambiental (Schwan-Estrada et al., 2003).

É importante ressaltar a inexistência de produtos registrados para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, na cultura do cafeeiro (Agrofit, 2009). Portanto, a procura por produtos alternativos, que sirvam como defensivos e que possam causar menor dano ao ambiente, sejam estes químicos, biológicos orgânicos ou naturais, vem crescendo, devido às suas características de baixa ou de nenhuma agressividade ao homem e à natureza, eficiência no combate aos insetos e microrganismos nocivos, não favorecendo a ocorrência de formas de resistência de pragas e patógenos, custo reduzido para aquisição e emprego, simplicidade quanto ao manejo, aplicação e alta disponibilidade para aquisição. Algumas dessas alternativas são a utilização de óleos essenciais de plantas medicinais e extratos brutos vegetais, que têm mostrado resultados promissores no controle de doenças de plantas. Assim, poderiam ser enquadrados nesta categoria, também, diversos biofertilizantes, caldas e agentes de biocontrole (Schwan-Estrada et al., 2003).

Ao lado da indução de resistência, a exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleo essencial em plantas medicinais pode constituir-se em mais uma forma potencial de controle alternativo de doenças de plantas cultivadas (Schwan-Estrada et al., 2003).

Diversos trabalhos utilizando óleos essenciais e extratos vegetais de plantas medicinais têm sido realizados visando comprovar a ação direta destes na inibição do crescimento micelial e da germinação de conídios, no controle de doenças em partes aéreas por meio de pulverizações, bem como no tratamento de sementes.

Como exemplos desses produtos alternativos no controle de fitopatógenos, tem-se o controle da mancha-marrom [*Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker] em trigo utilizando extrato aquoso de *Artemisia camphorata* Vill. (cânfora); do oídio (*Oidium lycopersici* Cooke & Masee) do tomateiro, pelo óleo emulsionável de *Azadirachta indica* A. Juss; do tomilho a 0,3% na redução da severidade da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi* Sydow & P. Sydow) em plantas de soja; do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) contra mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) da alface; do fosfito de potássio a 40,6 ppm, na proteção contra o míldio da alface e do fosfito de potássio (250mL/100L) + CaCl₂ (2%) no controle das podridões pós-colheita em maçãs (Pajot et al., 2001; Carneiro, 2003; Franzener et al., 2003; Brackmann et al., 2004; Rodrigues, 2004; Medice, et al., 2007).

Atualmente a utilização de produtos alternativos no manejo de doenças do cafeeiro tem sido realizada com o emprego do extrato de casca de café (ECC), extrato de casca de café naturalmente infectadas com *Hemileia vastarix* (EFID e NEFID), extrato de casca de frutos de café (CFC e NCFC), óleo de cravo-da-índia, óleo de tomilho, óleo de citronela e capim-limão no controle da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) e cercosporiose (*Cercospora coffeicola*) (Pereira, 2006; Amaral, 2008; Toyota, 2008).

Portanto, espera-se que a descoberta de substâncias naturais com efeito fungitóxico possa contribuir no controle do *C. gloeosporioides* em café.

Diante do exposto, considerando a importância da cultura do café e das perdas decorrentes do ataque do *C. gloeosporioides*, assim como as limitadas

medidas de controle sem prejuízo ao meio ambiente, este trabalho foi realizado com o objetivo de utilizar produtos alternativos no controle do referido patógeno em sementes e plântulas de cafeeiro.

2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/DAS. **Consulta de pragas/ doenças**. 2009. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit>>. Acesso em: 2 jan. 2009.

AMARAL, D.R. **Formulações de extratos vegetais e micronutrientes na indução de resistência em mudas de cafeeiro contra *Cercospora coffeicola***. 2008. 92 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BITANCOURT, A.A. As fermentações e podridões da cereja de café. **Boletim da Superintendência dos Serviços do Café**, São Paulo, v.32, n.359, p.7-14, jan. 1957.

BRACKMAN, A.; GIEHL, R. F. H.; SESTARI, I.; STEFFENS, C. A. Fosfitos para o controle de podridões pós-colheita em maçãs 'Fuji' durante o armazenamento refrigerado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.4, p.1039-1042, jul./ago. 2004.

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

CHALFOUN, S. M. **Doenças do cafeeiro: importância, identificação e métodos de controle**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 93 p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTOS. **Safra grãos 2008/2009**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.com.br>>. Acesso em: 2 jan. 2009.

CONAGIN, C.H.T.M.; MENDES, A.J.T. Pesquisas citológicas e genéticas em três espécies *Coffea*. Auto-incompatibilidade em *Coffea canephora*. **Bragantia**, Campinas, v.20, n.1, p.787-804, jan./dez. 1961.

DORIZZOTTO, A.; ABREU, M. S. Reação de plântulas e frutos verdes de cafeeiros (*Coffea arabica* L.) a *Colletotrichum coffeanum* NOACK e *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, ago. 1993. Suplemento.

FERREIRA, J. B.; SILVA, E. H.; FERNANDES, K. D.; PEREIRA, R. B.; ABREU, M. S.; PEREIRA, I. S. Efeito de fungicidas no controle da seca de ramos do cafeeiro (*C. arabica* L.) com mancha manteigosa (*Colletotrichum* spp.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, p.111-111, ago. 2005. Suplemento.

FRANZENER, G., STANGARLIN, J.R., SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. & CRUZ, M.E.S. Atividade antifúngica e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia camphorata*. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.25, n.2, p.503-507, jul./dez. 2003.

HOCKING, D. Brown blight (*Colletotrichum coffeanum* Noack.) of arabica coffee in East Africa. **Annals of Applied Biology**, London, v.58, n.3, p.409-421, Dec. 1966.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R.T.A.; JÚNIOR, R. G.M.; LOPES, E. A. G. L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* H. Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.1, p.83-90, jan./fev. 2007.

OROZCO, E.F.M. **Caracterização morfológica, molecular, bioquímica e patogênica de isolados de *Colletotrichum* spp. associados ao cafeeiro em Minas Gerais e Comparação com *Colletotrichum kahawae***. 2003. 147 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OROZCO, E.F.M.; FREITAS, M.; PIGOZZO, P.; ABREU, M. S. Incidência de *Colletotrichum* spp. em frutos cereja e sementes de café arabica (*Coffea arabica*) no estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO DE PÓS GRADUAÇÃO, 11., 2002, Lavras, MG. **Anais...**Lavras: UFLA/APG, 2002.

PAJOT, E.; CORRE, D. L.; SILUÉ, D. Phytogard® and DL-β-amino butyric (BABA) induce resistance to downy mildew (*Bremia lactucae*) in lettuce (*Lactuca sativa* L.) **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.107, n.8, p. 861-869, Oct. 2001.

PARADELA FILHO, O.; PARADELA, A. L.; THOMAZIELLO, R. A.; RIBEIRO, I. J. A.; SUGIMORI, M. H.; FAZUOLI, L. C. **O complexo *Colletotrichum* do cafeeiro**. Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas, 2001. 11 p. (Boletim Técnico, 191).

PEREIRA, A.A.; CHAVES, G.M. Antracnose do cafeeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 4, n.44, p.82-90, ago. 1978.

PEREIRA, R.B. **Extrato de casca de café e óleo de tomilho no controle de *Cercospora coffeicola* Berk & Cooke em cafeeiro.** 2006. 79 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RODRIGUES, E. **Atividade antimicrobiana *in vitro*, indução de peroxidase e controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em alface cultivado organicamente pelo uso de extrato de gengibre.** Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, ME.S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, n.4, p.54-56, ago. 2003.

TOYOTA, M. **Extratos vegetais e produtos comerciais no manejo da ferrugem e nos mecanismos de defesa do cafeeiro à cercosporiose.** 2008. 66p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

VOLTAN, R.B.Q.; CABRAL, L.P.; PARADELA FILHO, O. Avaliação preliminar do efeito do *Colletotrichum* spp. na estrutura de plantas de cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 28., 2002, Caxambu, MG. **Anais...** Rio de Janeiro: MAPA/Procafé, 2002. p. 364-365.

WALLER, J.M.; BRIDGE, P.D.; BLACK, R.; HAKIZAT, G. Characterization of the coffee berry disease pathogen, *Colletotrichum kahawae* sp. nov. **Mycological Research**, Cambridge, v.97, n.8, p.989-994, Aug. 1993.

CAPÍTULO 2

ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO DE CRAVO-DA-ÍNDIA NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE CAFÉ INOCULADAS COM *Colletotrichum gloeosporioides*

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do óleo essencial e extrato de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) na inibição do crescimento micelial, na incidência de *C. gloeosporioides* e de outros fungos associados às sementes, e sobre parâmetros fisiológicos de sementes e plântulas de café. O óleo essencial de cravo a 0,25%, 0,5%, 0,75% e 1,0%; o extrato de cravo a 0,1%, 1,0%, 10% e 20% ou o fungicida Clorotalonil (0,2g.L⁻¹) foram incorporados em meio MEA a 2% previamente autoclavado. Após a solidificação do meio, discos de micélio foram depositados sobre o meio e as placas incubadas à 23 ± 2°C. Como testemunha um disco de micélio foi repicado diretamente para o meio MEA 2%. Avaliou-se o crescimento micelial a cada 24 horas. Lotes de sementes de café da cultivar Catuaí, provenientes de plantas com sintomas de mancha manteigosa, foram inoculados e tratados com os produtos para realização dos testes. Um lote das sementes foi submetido ao “blotter-test” e o outro foi colocado para germinar em papel “germitest” para avaliação da porcentagem de plântulas normais. O último lote foi semeado em bandejas de isopor contendo substrato Plantmax® para avaliação do IVE. As plântulas em estágio de orelha de onça foram retiradas do substrato para avaliação da MS da parte aérea e da raiz. Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizados. O óleo essencial de cravo-da-índia a 0,25%, 0,5%, 0,75% e 1,0%, e o extrato a 1,0%, 10%, 20% apresentaram-se como produtos potenciais, inibindo o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* em 100%. O óleo a 0,5%, 0,75% e 1,0% apresentaram efeito inibitório para *C. gloeosporioides* nas sementes. O óleo a 0,25% e o extrato a 0,1% e 1,0% reduziram a incidência de fungos do gênero *Aspergillus*. O fungicida Clorotalonil foi o único tratamento eficiente no controle de fungos do gênero *Fusarium*. O óleo a 0,5%, 0,75% e 1,0% e o extrato a 10% e 20% diminuíram a incidência de fungos do gênero *Cladosporium*. O óleo a 0,5%, 1,0% e o extrato a 20% apresentaram os maiores percentuais de sementes normais. O óleo a 0,25%, 0,5% e 1,0% e o extrato a 20% promoveram um aumento do IVE das sementes. Todos os tratamentos com óleos e extratos com exceção do óleo a 0,75% e extrato a 1,0% promoveram maior produção de MS da parte aérea das plântulas de café.

***Comitê de Orientação:** Mario Sobral de Abreu – UFLA (Orientador); Eduardo Alves – UFLA (Co-orientador).

ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of essential oil and extract of clove (*Syzygium aromaticum*) in the control of *C. gloeosporioides in vitro*, in the incidence of fungi associated with coffee seeds e on physiologic parameter of seeds and seedlings of coffee. The essential oil of clove at 0.25%, 0.5%, 0.75% and 1.0%, clove extracts at 0.1%, 1.0%, 10% and 20% and the fungicide Chlorothalonil (0.2 g.L-1) were added to hot oats medium 2%. To control was used oats medium 2%. After solidification of the medium, plugs were removed from the fungal colony and transferred to Petri dishes and these were incubated at 23 ± 2 ° C. Evaluating of the mycelial growth were carried out every 24 hours. Seed parts from Catuaí cultivar, from plants with battery leaf spot symptoms, were inoculated and treated with the products for carried out the tests. One seed part was placed to germinate in "germitest" paper to evaluate of normal germinated seedlings percentage. Another seed part was incubated on filter paper ("Blotter test") for analysis of fungi associated with the seeds. The last seed part was sown in polystyrene trays containing substrate Plantmax ® to evaluate the SEI. Seedlings at the stage of two primary leaves were removed from the substrate to evaluate the dry mass (DM) from foliage and root. The statistical delineation used was the randomized complete. The essential oil of clove at 0.25%, 0.5%, 0.75% and 1.0%, and the extract at 1.0%, 10%, 20% showed as potential products, inhibiting the mycelial growth of *C. gloeosporioides, in vitro* at 100%. The oil at 0.5%, 0.75% e 1.0% showed inhibitory effect on the *C. gloeosporioides* in seeds. The oil at 0.25% and the extract at 0.1% and 1.0% reduced the incidence of fungi of the genus *Aspergillus*. The fungicide Chlorotalonil was the unique efficient in the control of fungi of the genus *Fusarium*. The clove oil at concentrations 0.5%, 0.75% and 1.0% and extract at concentrations 10% and 20% reduced the incidence of fungi of the genus *Cladosporium*. The oil at 0.5%, 1.0% and the extract at 20% showed more percentage of normal seedlings. There was an increase in SEI seeds treated with the oil at 0.25% and 0.5% and the extract at 20%. All treatments with the oil and extract, except, of the oil at 0.75% and the extract at 1.0% promoted greater production of DM of the foliage.

***Advising Committee:** Mario Sobral de Abreu – UFLA (Adviser); Eduardo Alves (Co-Adviser).

1 INTRODUÇÃO

A associação de fungos e sementes pode provocar perdas, levando à redução de germinação, à descoloração do embrião ou de toda semente, a mudanças bioquímicas e à produção de toxinas que podem ser letais aos homens e aos animais (Christensen & Kaufmann, 1969). Quando presentes nas sementes, diversos fungos podem provocar redução do seu poder germinativo, diminuindo sua qualidade e seu valor comercial (Lasca et al., 2004).

No Brasil, a mancha manteigosa é uma doença altamente deletéria aos cafeeiros infectados, levando a uma diminuição progressiva na produtividade, culminando inclusive, com a morte dos cafeeiros (Ferreira et al., 2005).

A grande preocupação é que se acredita que a transmissibilidade deste patógeno seja pela semente, já que a maioria de nossas lavouras é formada a partir de mudas provenientes de sementes e outras formas de transmissão ainda não foram confirmadas. Dessa forma, é de fundamental importância a obtenção de sementes de alta qualidade fisiológica e sanitária. A utilização de sementes saudáveis obtidas de lavouras com controle fitossanitário tem proporcionado bons resultados na produtividade, além de lavouras mais vigorosas (Vargas & Gonzales 1972; Orozco et al., 2002).

A utilização de substâncias extraídas de vegetais que podem atuar na inibição de fungos associados a sementes pode ser de grande utilidade no controle de doenças no campo, com a vantagem de reduzir gastos e o impacto ambiental causado pelos agroquímicos (Coutinho et al., 1999).

Convém ressaltar que não há fungicidas recomendados para o tratamento de sementes de cafeeiros contra *C. gloeosporioides* (Agrofit, 2009), portanto, o óleo e o extrato de cravo poderiam ser utilizados como uma alternativa no controle deste fitopatógeno.

O craveiro-da-índia (*Syzygium aromaticum*) é uma árvore nativa das ilhas Molucas, na Indonésia. Atualmente, é cultivado em outras regiões do mundo, como as ilhas de Madagascar e de Granada (Mazzafera, 2003). O botão floral do cravo-da-índia confere um composto fenólico volátil, o eugenol. Segundo Ferrão (1993), o eugenol representa, em média, 84,4% dos componentes do óleo essencial de cravo-da-índia.

Dentre as espécies medicinais com potencial no controle de patógenos destaca-se o cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) que apresenta atividade nematocida, inseticida, antiviral, bactericida e fungicida (Yukawa et al., 1996; Walker & Melin, 1996; Ouattara et al., 1997; El-Hag et al., 1999; Delespaul et al., 2000; Dorman & Deans, 2000; Nascimento et al., 2000 e Tsao & Yu, 2000) citados por Mazzafera (2003).

O eugenol, um dos principais constituintes do óleo essencial presente na especiaria, possui amplo espectro de ação contra fungos como *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bacillus cereus*, além de outras espécies de fungos, bactérias e leveduras com efeitos antiinflamatório, cicatrizante e analgésico (Delespaul et al., 2000).

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do óleo essencial e do extrato de cravo-da-índia: na inibição do crescimento micelial, na incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* e de outros fungos associados às sementes e sobre parâmetros fisiológicos de sementes e plântulas de café.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Diagnose e Controle de Enfermidades Fúngicas em Plantas, no Laboratório de Patologia de Sementes e em casa de vegetação, localizados no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG.

2.1 Obtenção do isolado de *C. gloeosporioides*

O isolado de *C. gloeosporioides* utilizado neste experimento foi obtido de hastes de cafeeiro com sintomas da mancha manteigosa do campo experimental da UFLA. Tecidos infectados desinfestados com álcool a 50% por 30 segundos e hipoclorito de sódio a 1% por 1 minuto, lavados em água destilada e esterilizada e secados em papel filtro esterilizado foram transferidos para placa de Petri contendo meio de cultura MEA a 2% (extrato de malte e ágar) e mantidos, durante 7 dias, em câmara de crescimento, a 25°C e fotoperíodo de 12 horas.

As culturas monospóricas foram obtidas, a partir da suspensão de esporos (1×10^5 esporos/mL), das colônias puras de *C. gloeosporioides*, vertida em placas de Petri contendo meio agar-água a 2%. Após 24 horas, em câmara de crescimento a 25°C e fotoperíodo de 12 horas, em câmara de fluxo laminar, com o auxílio do microscópio de luz, esporos germinados foram transferidos individualmente para placas de Petri contendo MEA a 2%. Discos de micélio dos isolados monospóricos foram preservados em água destilada e esterilizada, segundo o método de Castellani.

2.2 Inoculação e tratamentos das sementes de café

Foram utilizadas sementes de café da Cultivar Catuaí com sintomas de mancha manteigosa (com fator de suscetibilidade), produzidas na safra de 2007/2008, coletadas na Fazenda da Laje, localizada no município de Paraguaçu, Minas Gerais. As sementes foram obtidas de frutos no estágio cereja, colhidos manualmente, submetidos ao despulpamento. Em seguida, as sementes foram desmuciladas por fermentação em água, por 24 horas. Após a retirada da mucilagem, foram lavadas em água corrente e dispostas em bandejas forradas com papel filtro esterilizado e deixadas à sombra para a retirada do excesso de água. Após a secagem e a retirada do pergaminho, as sementes foram desinfestadas com hipoclorito a 2%, por 1 minuto, em seguida lavadas em água destilada e esterilizada e colocadas para secar, por 24 horas, em papel filtro. Após a secagem, estas foram inoculadas em placas de Petri contendo cultura monospórica do *C. gloeosporioides*, por 120 horas. Após esse período de inoculação, foram submetidas aos tratamentos com o óleo e extrato, em diferentes concentrações.

As sementes foram tratadas por imersão, durante 5 minutos, em solução contendo óleo de cravo a 0,25%, 0,5%, 0,75% e 1,0%, em solução contendo extrato bruto de cravo a 0,1%, 1,0%, 10% e 20% e em calda de fungicida Clorotalonil, na concentração de $(0,2\text{g.L}^{-1})$. A seguir, foram colocadas para secar sobre papel filtro, por 24 horas, para a realização dos experimentos. As testemunhas sem inoculação e inoculada não foram submetidas a qualquer tratamento.

2.3 Óleo essencial e extrato de cravo-da-índia na inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides*

Alíquotas do óleo essencial de cravo a 0,25%, 0,5%, 0,75% e 1,0% foram incorporadas em MEA a 2%, previamente autoclavado. Os extratos de cravo-da-índia a 0,1%, 1,0%, 10% e 20% foram obtidos pela autoclavagem do botão floral em meio MEA a 2%. O fungicida Clorotalonil (0,2g.L⁻¹) foi adicionado em MEA a 2% fundente. Discos de 0,5 cm do isolado de *C. gloeosporioides* foram repicados para o centro de placas de Petri (9,0 cm de diâmetro) contendo os tratamentos acima citados, num total de 4 placas para cada tratamento, e incubados, a 23±2°C, com fotoperíodo de 12 horas. A testemunha foi repicada em meio MEA a 2%.

Avaliou-se o crescimento micelial a cada 24 horas, medindo-se o diâmetro das colônias, até que a testemunha ocupasse toda a superfície do meio.

Com as medições diárias foi calculado o Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), por meio da fórmula de Maguire (1962) adaptada:

$$IVCM = [\Sigma(D-Da)]/N$$

D: diâmetro médio atual;

Da: diâmetro médio do dia anterior;

N: número de dias após a inoculação.

2.4 Incidência de *C. gloeosporioides* e outros fungos associados às sementes de café tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia

Para a verificação da incidência de *C. gloeosporioides* e de outros fungos associados às sementes inoculadas e tratadas, foi utilizada a técnica de *Blotter test*. Essa técnica consiste na distribuição das sementes em placas de Petri de 15cm de diâmetro, contendo duas folhas de papel de filtro previamente esterilizadas e umedecidas em água destilada esterilizada e uma fina camada de meio ágar-água, para posterior incubação em câmara de crescimento, a 20°C, até a exteriorização dos fungos.

Cada placa com 25 sementes foi considerada uma repetição, sendo 8 placas para cada tratamento. As avaliações foram realizadas aos sete dias após a montagem do experimento. A microflora associada às sementes foi avaliada por meio da identificação dos fungos, individualmente, em cada semente, em microscópio estereoscópico, sendo os dados expressos em porcentagem. A identificação das estruturas morfológicas foi confirmada em microscópio de luz.

2.5 Parâmetros fisiológicos de sementes e plântulas de café

2.5.1 Germinação de sementes de café tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia

As sementes tratadas, inoculadas e não inoculadas foram colocadas para germinar em rolos contendo três folhas de papel “germitest” previamente umedecidos com água destilada e esterilizada, na quantidade de 2,5 vezes o peso do papel. Foram colocadas 50 sementes em cada rolo, sendo 4 repetições num total de 200 sementes para cada tratamento. Os rolos foram colocados em câmara de germinação, a 30°C, por 30 dias. Foi avaliada a porcentagem de sementes normais, conforme descrito nas Regras para Análise de Sementes (RAS), sendo os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais germinadas (Brasil, 1992).

Foram consideradas sementes normais aquelas que apresentavam estruturas essenciais ao desenvolvimento de uma planta, ou seja, destacavam-se das demais por apresentar uma raiz principal e, no mínimo, duas raízes secundárias, oriundas da raiz principal, bem desenvolvidas.

2.5.2 Índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de café tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia

Para avaliar as respostas fisiológicas das sementes aos diversos tratamentos, foram utilizadas bandejas de isopor com 200 células, contendo o

substrato Plantmax® esterilizado, colocando-se uma semente por célula, na profundidade de 1,5 cm, realizando-se irrigações diárias. Foram utilizadas 200 sementes por tratamento, sendo 4 repetições de 50 sementes. As bandejas foram colocadas em casa de vegetação sob temperatura ambiente. As primeiras avaliações do IVE foram realizadas 30 dias após a semeadura, pela contagem diária das sementes normais emergidas durante 22 dias. Foi considerada como semente emergida aquela que apresentava os cotilédones desprendidos do solo. O IVE foi calculado de acordo com a fórmula de Maguire (1962).

2.5.3 Matéria seca (MS) da parte aérea e raiz das plântulas em estágio de orelha de onça, provenientes de sementes de café tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia

Ao final do teste de emergência, as plântulas em estágio de orelha de onça, obtidas das sementes tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia, foram retiradas do substrato Plantmax®, lavadas e secadas.

Para a avaliação da matéria seca (MS), as raízes e a parte aérea foram acondicionadas separadamente em sacos de papel previamente identificados e colocados em estufa de circulação forçada, a 37 °C, por 5 dias. Foram colocadas 50 partes aéreas por saco de papel, sendo 4 repetições, num total de 200 plântulas para cada tratamento. O mesmo foi feito com as raízes. Após a secagem, as raízes e as partes aéreas foram pesadas em balança analítica.

3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise dos dados, utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado e os dados obtidos foram submetidos ao teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade (SISVAR VERSÃO 4.6) (Ferreira, 2000).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Óleo essencial e extrato de cravo-da-índia na inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides*

O óleo essencial de cravo-da-índia a 0,25%, 0,5%, 0,75% e 1,0% e o extrato a 1,0%, 10% e 20% apresentaram-se como produtos potenciais, inibindo o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, *in vitro* em 100% (Tabela 1).

Semelhantemente, Pierre et al. (2008) comprovaram que o extrato de cravo a 10% apresentou efeito fungicida inibindo em 100% o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* isolado de frutos de goiaba. Esses resultados também corroboram com Rozwalka et al. (2008), que observaram inibição de 100% do crescimento micelial de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* isolados de frutos de goiaba, quando utilizados o extrato de cravo nas concentrações 1,0% e 10% e o óleo de cravo (por volatilização) na concentração de 10µL por placa de Petri

O fungicida Clorotalonil e o extrato de cravo a 0,1% proporcionaram redução do crescimento micelial, diferindo estatisticamente da testemunha, porém, com menor eficiência que os tratamentos acima citados.

Para a espécie *C. gloeosporioides*, os resultados demonstram que as sementes tratadas com o óleo de cravo nas concentrações 0,75% e 1,0% e o fungicida Clorotalonil apresentaram 0% de incidência do fungo, enquanto a testemunha e o óleo de cravo a 0,5% apresentaram 1,5% e 2% de incidência deste fungo, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si. O óleo de cravo a 0,25% apresentou 3,5% de incidência do fungo, diferindo estatisticamente de todos os tratamentos. O extrato de cravo, nas concentrações 10% e 20%, apresentou 27,5% e 21%, respectivamente, de incidência do fungo, não havendo diferenças estatísticas entre eles. Já o extrato de cravo a 0,1% (72,5%), 1,0% (62,5%) e a testemunha inoculada (73%) apresentaram as maiores incidências de *C. gloeosporioides*, não havendo diferenças estatísticas entre esses tratamentos (Tabela 2).

Estes resultados mostram que todas as concentrações do óleo de cravo e as duas maiores concentrações do extrato de cravo possuem efeito inibitório ao desenvolvimento do patógeno, em comparação com a testemunha inoculada com o *C. gloeosporioides*. Destaca-se, ainda, que o óleo de cravo, nas três maiores concentrações (0,5%, 0,75% e 1,0%), foi semelhante ao fungicida, o que permite inferir que o óleo de cravo pode substituir o tratamento químico de sementes de café, pois o mesmo apresenta ação não poluente (Carvalho & Nakagawa, 2000). Resultados semelhantes foram encontrados por Nascimento et al. (2008), em que o extrato de nim, nas concentrações 0%, 15%, 25%, 35% e 45%, diminuiu a incidência de *Colletotricum* spp., *Rhizoctonia* spp. e *Curvularia* spp., em sementes de faveleira (*Cnidoscylus phylacanthus*) em relação à testemunha. Esses resultados são também semelhantes aos de Amaral (2005), em que foram testadas diferentes concentrações de óleo essencial de cravo da-índia (0,01, 0,025, 0,05, 0,2, 0,3 e 0,5%), tendo sido observado que a concentração mínima inibitória para fungos filamentosos em sementes de arroz, milho, soja e feijão foi de 0,05%.

Para os fungos do gênero *Aspergillus*, observou-se que as sementes tratadas com o fungicida Clorotalonil, óleo de cravo a 0,25% e extrato de cravo a 1,0% apresentaram 0% de incidência de fungos do gênero *Aspergillus*. O extrato de cravo a 0,1% e a testemunha apresentaram 0,5% de incidência de fungos deste gênero. A testemunha inoculada com *C. gloeosporioides* apresentou 1% de incidência de fungos do gênero *Aspergillus*, não havendo diferenças estatísticas entre os tratamentos acima relatados. As sementes tratadas com o óleo de cravo nas concentrações 0,5% e 0,75% apresentaram 6% e 11 % de incidência de fungos do gênero *Aspergillus*, respectivamente e o extrato de cravo, nas concentrações 10% e 20%, apresentaram 9% de incidência de fungos do gênero *Aspergillus*, não havendo diferenças estatísticas entre esses tratamentos. As sementes tratadas com o óleo de cravo a 1,0% (31,5%) apresentaram a maior incidência de fungos do gênero *Aspergillus* (Tabela 2), diferindo estatisticamente de todos os tratamentos.

Pode-se observar que as menores concentrações do óleo (0,25%) e do extrato de cravo (0,1% e 1,0%) reduziram a incidência de fungos do gênero *Aspergillus* em relação à testemunha. Em contrapartida, os resultados do presente trabalho não corroboram os resultados observados por Gonçalves et al. (2003), que trabalharam com o tratamento de sementes de feijão utilizando o óleo de cravo-da-índia nas concentrações 1,0%, 5% e 10%, armazenadas por 3 e 6 meses. Estes autores verificaram que as maiores concentrações (5% e 10%) inibiram em 100% a incidência de *Aspergillus* sp., quando armazenadas, por 6 meses, em embalagens metálicas. Neste mesmo trabalho, o fungicida Captan se comportou semelhantemente ao fungicida Clorotalonil, apresentando 0% de incidência de *Aspergillus* sp. quando as sementes foram armazenadas por 6 meses em embalagens metálicas.

Contudo, esses resultados apontam que seria desnecessária a utilização de altas concentrações do óleo e do extrato de cravo para o controle de fungos

do gênero *Aspergillus*, uma vez que as mais baixas concentrações foram efetivas no controle deste gênero de fungo. Ressalta-se, ainda, que seria possível a substituição do fungicida Clorotalonil por um controle não poluente para o homem, os animais e o meio ambiente.

Para os fungos do gênero *Fusarium*, foi possível observar que as sementes tratadas com o fungicida Clorotalonil (1,5%) apresentaram a menor incidência de fungos deste gênero, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. O óleo de cravo nas concentrações 0,25%, 0,5%, 0,75% e 1,0%, a testemunha e o extrato de cravo a 0,1% apresentaram 33,5%, 26,5%, 23,5% e 10%, 13% e 19,5% de fungos do gênero *Fusarium*, respectivamente, não havendo diferenças estatísticas entre esses tratamentos. O extrato de cravo nas concentrações 1,0% (72,5%), 10% (75,5%) e 20% (69,5%) e a testemunha inoculada (77,5%) apresentaram as maiores incidências de fungos do gênero *Fusarium*, não havendo diferenças estatísticas entre os tratamentos (Tabela 2). Esses resultados indicam que o fungicida foi o melhor tratamento, pois este diminuiu a incidência de fungos do gênero *Fusarium* em relação à testemunha e aos demais tratamentos. O extrato de cravo nas concentrações 1,0%, 10% e 20% estimulou a incidência de *Fusarium* nas sementes. Mesmo em se tratando de patossistema diferente, resultados semelhantes foram observados por Silva & Pasin (2006). Segundo estes autores, sementes de girassol tratadas com os extratos aquosos de piracá (*Vernonia scorpioides*) e manjerição a 30% estimularam o crescimento de *Fusarium* sp., sendo 48% e 35% de incidência do fungo, respectivamente, quando as sementes foram desinfestadas superficialmente com hipoclorito de sódio a 1%. Já as sementes imersas no extrato aquoso de capim-limão a 30% apresentaram menor incidência do fungo (7%) em relação à testemunha (16%).

Pôde-se observar que a testemunha inoculada com o *C. gloeosporioides* aumentou a incidência de fungos do gênero *Fusarium* nas sementes, logo, pode

ter havido um sinergismo positivo entre esses fungos, em que, com o aumento da população de *C. gloeosporioides*, ocorre também um aumento na população de fungos do gênero *Fusarium*.

Para fungos do gênero *Cladosporium*, foi possível observar que o óleo de cravo 0,5% (3%), 0,75% (2%) e 1,0% (1%), o extrato de cravo 10% (2%), 20% (2%), a testemunha inoculada (2,5%) e o fungicida Clorotalonil (3,5%) obtiveram as menores incidências de fungos do gênero *Cladosporium*, não diferindo estatisticamente entre si e diferindo significativamente da testemunha. O óleo de cravo a 0,25%, o extrato de cravo nas concentrações 0,1% e 1,0% e a testemunha obtiveram as maiores incidências de fungos deste gênero, de 10%, 9,5%, 10,5% e 11%, respectivamente, não havendo diferenças estatísticas entre esses tratamentos. Esses resultados revelam que as três maiores concentrações para o óleo e as duas maiores concentrações para o extrato de cravo apresentaram efeito negativo para o referido gênero. Deve-se frisar que fungos do gênero *Cladosporium* estão relacionados com a melhoria da qualidade de bebida do café (Alves & Castro, 1998; Carvalho et al., 1989; Meirelles, 1990), portanto, é importante que os produtos utilizados no controle de fitopatógenos em sementes de café sejam seletivos aos microrganismos benéficos à qualidade do café.

Observou-se também que a testemunha inoculada com o *C. gloeosporioides* diminuiu a incidência de fungos do gênero *Cladosporium* nas sementes. Logo, pode ter havido um sinergismo negativo entre esses fungos, em que, com o aumento da população de *C. gloeosporioides*, ocorre diminuição na população de fungos do gênero *Cladosporium*.

TABELA 2 Incidência de fungos associados às sementes de café tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia. UFLA, Lavras, MG, 2009.

Tratamentos	<i>C. gloeosporioides</i> (%)	<i>Aspergillus</i> (%)	<i>Fusarium</i> (%)	<i>Cladosporium</i> (%)
Óleo de cravo-da-índia a 0,25%	3,5 b*	0,0 a	33,5 b	10,0 b
a 0,50%	2,0 a	6,0 b	26,5 b	3,0 a
a 0,75%	0,0 a	11,0 b	23,5 b	2,0 a
a 1,00%	0,0 a	31,5 c	10,0 b	1,0 a
Extrato de cravo-da-índia a 0,1%	72,5 d	0,5 a	19,5 b	9,5 b
a 1%	62,5 d	0,0 a	62,5 c	10,5 b
a 10%	27,5 c	9,0 b	75,5 d	2,0 a
a 20%	21,0 c	9,0 b	69,5 d	2,0 a
Clorotalonil (0,2g.L ⁻¹)	0,0 a	0,0 a	1,5 a	3,5 a
Testemunha	1,5 a	0,5 a	13,0 b	11,0 b
Testemunha inoculada	73,0 d	1,0 a	77,5 d	2,5 a
CV (%)	41,55	52,14	30,62	50,20

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

4.3 Parâmetros fisiológicos de sementes e plântulas de café

4.3.1 Germinação de sementes de café tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia

Verificou-se que a porcentagem de sementes normais apresentou diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 3). Os resultados demonstram que a testemunha (3%) e o fungicida Clorotalonil (6%) apresentaram os menores percentuais de sementes normais, não havendo diferenças estatísticas entre esses tratamentos. O extrato de cravo nas concentrações 1,0% e 10%, o óleo de cravo a 0,75% e a testemunha inoculada apresentaram 20%, 16% 18% e 27% de sementes normais, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si. O óleo de cravo na concentração 0,25% e o extrato de cravo na concentração 0,1% apresentaram 48% e 51% de sementes normais, não havendo diferenças estatísticas entre esses tratamentos. O óleo de cravo nas concentrações 0,5% (61%) e 1,0% (71%) e o extrato de cravo a 20% (68%) apresentaram os maiores percentuais de sementes normais, não havendo diferenças estatísticas entre esses tratamentos (Tabela 3).

TABELA 3 Germinação de sementes de café tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia. UFLA, Lavras, MG, 2009.

Tratamentos	Sementes normais germinadas (%)
Óleo de cravo-da-índia a 0,25%	48,0 b
a 0,50%	61,0 a
a 0,75%	18,0 c
a 1,00%	71,0 a
Extrato de cravo-da-índia a 0,1%	51,0 b
a 1%	20,0 c
a 10%	16,0 c
a 20%	68,0 a
Clorotalonil (0,2g.L ⁻¹)	6,0 d
Testemunha	3,0 d
Testemunha inoculada	27,0 c
CV (%)	35,98

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Esses resultados indicam que os tratamentos realizados com as diferentes concentrações de óleo e extrato de cravo, com destaque para o óleo de cravo a 0,5% e 1,0% e para o extrato de cravo a 20%, aumentaram a germinação das sementes, diferindo estatisticamente da testemunha. Estes resultados permitem afirmar que não há fitotoxicidade do óleo e do extrato de cravo sobre o crescimento inicial do embrião ou de intoxicação dos tecidos da semente (Bewley & Black, 1994). Foi possível observar também que esses produtos afetaram menos a germinação das sementes de café do que o tratamento com o fungicida Clorotalonil. Esses resultados corroboram os de Gonçalves et al. (2003), segundo os quais, sementes de feijão tratadas com o extrato de cravo-da-

índia a 1% e 5% e armazenadas, por 3 meses, em embalagens metálicas apresentaram maior germinação e vigor, 75,51% e 77,14%, respectivamente, em relação à testemunha, que apresentou 71,84% de germinação.

4.4 Índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de café tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia

Verificou-se que o IVE de sementes apresentou diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 4). A testemunha absoluta (0,043) e o fungicida Clorotalonil (0,048) obtiveram os menores valores de IVE, não havendo diferenças estatísticas entre si, seguidos pelo extrato de cravo a 1,0% (0,204) e óleo de cravo a 0,75% (0,230), não havendo diferenças significativas entre si. A testemunha inoculada e o extrato de cravo a 0,1% e 10%, obtiveram 0,412, 0,396 e 0,418 de IVE, respectivamente, não havendo diferenças estatísticas entre esses tratamentos. O óleo de cravo nas concentrações de 0,25% (0,712), 0,5% (0,849) e 1,0% (0,770) e o extrato de cravo a 20% (0,747) apresentaram os maiores IVE, não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 4).

4.5 Produção de matéria seca (MS) da parte aérea e raiz das plântulas em estádio de orelha de onça, provenientes de sementes de café tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia

De acordo com os resultados obtidos, nota-se que a produção de MS da parte aérea de sementes tratadas com o óleo e extrato de cravo apresentou diferenças significativas entre si (Tabela 5). Foi possível observar que a parte aérea das plântulas provenientes de sementes tratadas com o óleo de cravo a 0,75%, testemunha, fungicida, extrato de cravo a 1,0% e a testemunha inoculada apresentaram a menor produção de MS, sendo 0,24g, 0,30g, 0,30g, 0,52g, 0,58g, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si. Já a parte aérea das plântulas provenientes de sementes tratadas com o extrato de cravo a 0,1% e 10% apresentou uma maior produção de MS que os tratamentos anteriores, sendo 1,09g e 0,90g, respectivamente, não havendo diferenças estatísticas entre si.

A parte aérea das plântulas provenientes de sementes tratadas com o extrato de cravo a 20% e o óleo de cravo a 0,25% apresentaram um aumento na produção de MS em relação aos tratamentos que os antecederam, sendo 1,69g e 1,83g, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si. A parte aérea das plântulas provenientes de sementes tratadas com os óleos de cravo a 0,5% e 1,0% apresentou a maior produção de MS, de 2,35g e 2,22g, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 5). Esses resultados demonstram que todos os tratamentos com óleos e extratos, com exceção do óleo a 0,75% e do extrato a 1,0%, promoveram maior produção de MS da parte aérea das plântulas em relação à testemunha, testemunha inoculada e em relação ao tratamento realizado com o fungicida, que apresentaram menor produção de MS.

Quanto aos resultados de MS das raízes das plântulas, não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos, os quais produziram entre 0,19g a 0,67g (Tabela 5). Mesmo em se tratando de patossistemas diferenciados, resultados similares foram observados por Balbi-Peña et al. (2006), segundo os

5 CONCLUSÕES

O óleo essencial de cravo a 0,25%, 0,5%, 0,75% e 1,0% e o extrato de cravo a 1,0%, 10% e 20% apresentam-se como produtos potenciais na inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides*.

O óleo de cravo a 0,5%, 0,75% e 1,0% diminuiu consideravelmente a incidência de *C. gloeosporioides*.

O óleo de cravo a 0,5% e 1,0% e o extrato de cravo a 20% promoveram um aumento da porcentagem de sementes normais de café.

O óleo de cravo a 0,25%, 0,5% e 1,0%, bem como o extrato de cravo a 20%, promoveu um aumento do índice de velocidade de emergência das sementes.

Todos os tratamentos com óleos e extratos, com exceção do óleo a 0,75% e do extrato a 1,0%, promoveram maior matéria seca da parte aérea das plântulas de café.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/DAS. **Consulta praga/doenças**. 2009. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit>>. Acesso em: 2 jan. 2009.

ALVES, E.; CASTRO, H.A. de. Fungos associados ao café (*Coffea arabica* L.) nas fases pré e pós-colheita em lavouras da região de Lavras. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.24, n.1, p.4-7, jan./fev. 1998.

AMARAL, M.F.Z.J.; BARA, M.T.F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v.2, n.22, p.5-8, jan./jun.2005.

BALBI-PEÑA, M.I.; BEKER, A.; STANGARLIN, J.R.; FRANZENER, M.C.L.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e Curcumarina – II. Avaliação in vivo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.31, n.3, p.401-404, maio/jul. 2006.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum, 1994. 445p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília: DNPV-DISEM, 1992. 365 p.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Campinas: FUNEP, 2000. 588p.

CARVALHO, V.D. de; CHALFOUN, S.M.; CHAGAS, S.J. de R. Relação entre classificação de café pela bebida e composição físico-química e química do grão beneficiado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRAS, 15., 1989, Maringá. **Anais...** Rio de Janeiro: MIC/IBC, 1989. p.25-26.

CHRISTENSEN, C.M., KAUFMANN, H.H. **Grain storage: o role of fungi in quality loss**. Minneapolis: University of Minnesota, 1969.

COUTINHO, W.M.; ARAÚJO, E.; MAGALHÃES, F.H.L. Efeito de extratos de plantas anacardiáceas e dos fungicidas químicos Benomyl e Captan sobre a micoflora e qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.23, n.3, p.560-568, jul/set., 1999.

DELESPAUL, Q.; BILLERBECK, V.G.; ROQUES, C.G.; MICHEL, G.; MARQUIER-VINUALES, C.; BESSIERE, J.M. The antifungal activity of essential oils as determined by different screening methods. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v.12, n.2, p.256-266, Mar. 2000.

FERRÃO, J.E.M. **Especiarias: cultura, tecnologia e comércio**. Lisboa: Ministério do Planejamento e da Administração do Território/Secretaria de Estado da Ciência e Tecnologia/Instituto de Investigação Científica Tropical, 1993. 443p.

FERREIRA, D.F. Análise estatística por meio do SISVAR para Windows: versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. **Anais...** São Carlos: UFScar, 2000. p. 235.

FERREIRA, J. B.; SILVA, E. H.; FERNANDES, K. D.; PEREIRA, R. B.; ABREU, M. S.; PEREIRA, I. S. Efeito de fungicidas no controle da seca de ramos do cafeeiro (*C. arabica* L.) com mancha manteigosa (*Colletotrichum* spp.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, p.111-111, ago. 2005. Suplemento.

GONÇALVES, E.P.; ARAÚJO, E.; ALVES, E.U.; COSTA, N.P. Tratamento químico e natural sobre a qualidade fisiológica e sanitária em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) armazenadas. **Revista de Biociência**, Taubaté, v.9, n.1, p.23-29, jan/mar. 2003.

LASCA, C.C., VECHIATO, M., KOHARA, E.Y. Controle de fungos de sementes de *Brachiaria spp*: eficiência de fungicidas e influência do período de armazenamento de sementes tratadas sob a ação desses produtos. **Revista Arquivos do Instituto de Biológico**, São Paulo, v.71, n.4, p.465-472, out./dez. 2004.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling and vigour. **Crop Science**, Madison, v.2, n.2, p.176-177, Mar./Apr. 1962.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.26, n.2, p.231-238, jun. 2003.

MEIRELLES, A.M.A. **Ocorrência e controle da microflora associada aos frutos de café (*Coffea arabica* L.) provenientes de diferentes localidades do estado de Minas Gerais.** 1990. 71p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MEIRELES, R.C.; ARAUJO, E.F.; REIS, M.S.; SEDIYAMA, C.S.; SAKIYAMA, N.S.; REIS, L.S. Secafé: Metodologia para acelerar a germinação das sementes de café. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.29, n.3, p.90-96, set. 2007.

NASCIMENTO, L.C.; MATA, M.F.; SILVA, K.B; ARAÚJO, E.; COUTINHO, O.L. Efeito do extrato de nim sobre a microflora de faveleira (*Cnidoscylus phylacanthus*). **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.33, n.3, p.276, maio/jun. 2008. Suplemento.

OROZCO, E.F.M.; FREITAS, M.; PIGOZZO, P.; ABREU, M.S. Incidência de *Colletotrichum* spp. em frutos cereja e sementes de café arábica (*Coffea arabica*) no estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO DE PÓS GRADUAÇÃO, 11., 2002, Lavras, MG. **Anais...** Lavras: UFLA/APG, 2002.

PIERRE, R.O.; ROZWALKA, L.C.; BRAGA, A.S.; ABREU, M.S.; ALVES, E. Extratos de plantas medicinais e aromáticas na inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.33, n3, p.123, maio/jun. 2008. Suplemento.

ROZWALKA, L.C.; LIMA, M.L.R.Z.C.; MAY DE MIO, L.L.; NAKASHIMA, T. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.2, p.301-307, mar./abr. 2008.

SILVA, P.V.; PASIN, L.A.A.P. Efeito de extrato aquoso de *Cymbopogon citratus* Staupf. (capim-limão) *Ocimum basilicum* L. (manjeriçã), *Veronica scorpioides* (piracá) na incidência fúngica nas sementes de *Heliantus annuus* L. (girassol). In: ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 10.,2006; ENCONTRO LATINO AMERICANO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 4., 2006, São José dos Campos. **Anais...** São José dos Campos: Universidade do Vale do Paraíba, 2006. p.167-170,

VARGAS, G.E.; GONZALEZ, U.L.C. La mancha mantecosa del café causada por *Colletotrichum* spp. **Turrialba**, San José, v.22, n.2, p.129-135, abr./jun. 1972.

CAPÍTULO 3

ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO DE CRAVO-DA-ÍNDIA NO CONTROLE DE *Colletotrichum gloeosporioides*, AGENTE DA MANCHA MANTEIGOSA, EM MUDAS DE CAFEEIRO

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito do óleo essencial a 0,25%, 0,5%, 0,75% e 1,0% e extrato de cravo-da-índia a 0,1%, 1,0% 10% e 20% no controle de *C. gloeosporioides* e na produção de matéria seca (MS) por mudas de café da cultivar Catuai. Mudas de café provenientes de sementes de plantas saudáveis e doentes, foram dispostas em blocos casualizados, inoculadas com suspensão de conídios na concentração de $2,5 \times 10^6$ esporos/mL e submetidas aos tratamentos. Foram avaliadas a área abaixo da curva de progresso de severidade da doença (AACPS) nas mudas e a produção de MS da parte aérea e da raiz. Para as mudas doentes o extrato de cravo a 0,1%, 10% e 20% e o óleo de cravo a 0,5%, 0,75% e 1,0% apresentaram-se como produtos potenciais no controle do patógeno em mudas de café onde os mesmos apresentaram as menores AACPS, seguidos pelo extrato de cravo a 1,0%, o fungicida e o óleo de cravo a 0,25%. Entre as mudas provenientes de plantas saudáveis não houve diferenças significativas para os diferentes tratamentos. Contudo, os valores da AACPS dessas mudas foram estatisticamente menores que os encontrados para mudas de plantas doentes. Com relação às mudas doentes o óleo a 0,75%, o extrato a 0,1%, 1,0% e 10%, e o fungicida foram os melhores tratamentos, com maior MS de parte aérea. Dentre as mudas saudáveis não houve diferenças significativas para os tratamentos. Os tratamentos aplicados nas mudas doentes foram estatisticamente iguais aos tratamentos aplicados nas mudas saudáveis com exceção para o extrato a 10% que apresentou MS de parte aérea para as mudas doentes, maior do que para as mudas saudáveis. Para as mudas saudáveis, todas as concentrações do óleo e extrato comportaram-se estatisticamente iguais à testemunha absoluta em relação à MS de raiz. Apenas as mudas tratadas com o fungicida e a testemunha inoculada apresentaram maior MS de raiz. Dentre as mudas doentes não houve diferenças significativas para os tratamentos. Os tratamentos para as mudas doentes foram estatisticamente iguais aos tratamentos para as mudas saudáveis, com exceção, da testemunha inoculada que apresentou maior MS seca de raiz para as mudas saudáveis do que para as mudas doentes.

***Comitê de Orientação:** Mario Sobral de Abreu – UFLA (Orientador); Eduardo Alves – UFLA (Co-orientador).

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of essential oil at 0.25%, 0.5%, 0.75% and 1.0% and the extract of clove (*Syzygium aromaticum*) at 0.1%, 1.0% 10% and 20% in the control of *C. gloeosporioides* and dry mass (DM) production for seedlings of Catuaí coffee cultivar. The coffee seedlings from seeds of healthy and diseased plants were arranged in randomized blocks and inoculated with conidial suspension of the concentration of 2.5×10^6 spores/mL. After that, they received the treatments. It was evaluated the area under the curve of progress of severity of the disease (AUDPC) in seedlings and production of dry mass (DM) of foliage and root of the seedlings. The clove extract at 0.1%, 10% and 20%, and clove oil at 0.5%, 0.75% and 1.0% presented as potential products in the control of the pathogen on coffee seedlings showing the lowest AUDPS. The extract of clove to 1.0%, the fungicide and clove oil at 0.25%, differed statistically of the control. The inoculated control had the highest AUDPC. Among the seedlings come from healthy plants there were no significant differences for the treatments. However, the values of the AUDPC for healthy seedlings were statistically lower these from seedlings come from diseased plant. For the diseased seedlings, clove oil at 0.75%, the extract in the concentrations of 0.1%, 1.0% and 10%, as well the fungicide had higher DM of the foliage. In relation to the healthy seedlings there were no significant differences for the treatments. The treatments used on diseased seedlings were not different from healthy seedlings, except to the extract at 10% with higher DM at foliage in diseased seedlings than healthy seedlings. For healthy seedlings, all concentrations of extract and oil behaved statistically equal to the absolute control in terms of dry mass of root. Only those seedlings treated with fungicide and the inoculated control had higher root dry mass. Among the diseased seedlings there were no significant differences for the treatments. The treatments in diseased seedlings were statistically equal to those treatments in healthy seedlings inoculated with the exception of the inoculated control who had higher dry mass in root for healthy seedlings than for diseased seedlings.

***Advising Committee:** Mario Sobral de Abreu – UFLA (Adviser); Eduardo Alves (Co-Adviser).

1 INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se como o maior produtor e exportador mundial de café, com uma safra estimada, para 2008/2009, entre 36,9 e 38,8 milhões de sacas de 60 kg de café (arábica e conilon) beneficiado e com área total cultivada (arábica e conilon) estimada em 2.350.779 hectares. Desse total, 228,2 mil hectares (9,7%) estão em formação e 2.122,6 mil hectares (90,3%) em produção (Companhia Nacional de Abastecimentos, 2009).

A cafeicultura é uma das mais importantes atividades agrícolas do Brasil, especialmente pela geração de empregos e renda, em municípios dos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Bahia, Rondônia e Rio de Janeiro, cuja produção corresponde a 98,2% da produção nacional (Conab, 2009).

No Brasil, problemas fitossanitários tais como as antracnoses e a mancha manteigosa (Complexo *Colletotrichum*), a ferrugem (*Hemileia vastatrix*), a cercosporiose (*Cercospora coffeicola*), a mancha de phoma (*Phoma spp.*), as bacterioses (*Xylella fastidiosa*) e as viroses acometem a cultura do café, podendo ocasionar redução na produção e qualidade (Dorizzotto & Abreu, 1993 b; Chalfoun, 1997; Paradela Filho et al., 2001).

No Brasil, a mancha manteigosa é uma doença altamente deletéria, levando a uma diminuição progressiva na produtividade, culminando, inclusive, com a morte dos cafeeiros infectados (Ferreira et al., 2005). Em cafeeiros com mancha manteigosa, cuja produção é muito afetada chegando a ser nula, são observadas a morte de hipocótilos, a mumificação e a abscisão de folhas e frutos, a murcha e a seca descendente de ramos plagiotrópicos (Costa et al., 2003; Ferreira, et al., 2004).

Observações a campo têm revelado o agravamento desta doença, pois, além dos sintomas já descritos, pode-se constatar um elevado declínio vegetativo

e, conseqüentemente, produtivo, devido ao encurtamento dos internódios em ramos plagiotrópicos e à baixa fecundação ao florescimento, acarretando em reduzidos percentuais de chumbinho e mumificação, com o desenvolvimento e crescimento destes frutos. Plantas enfermas, quando recepadas, emitem brotações atrofiadas com sintomas da doença, e esta prática não contribui para a eliminação do patógeno (Orozco et al., 2002).

Para o controle da mancha manteigosa, doença altamente destrutiva, o controle químico é a prática mais utilizada, porém, o uso indiscriminado de agrotóxicos pode causar danos ao ambiente, levando a um desequilíbrio ambiental (Schwan-Estrada et al., 2003).

Entretanto, o controle químico com a utilização de fungicidas, considerado, em muitos casos, como a única medida eficiente e economicamente viável em alguns casos, vem ocorrendo de forma exacerbada e indiscriminada, oferecendo riscos à saúde da população e danos irreparáveis ao meio ambiente, seja pela não-observância de dosagens e do período de carência, seja pelo uso de princípios ativos não registrados para a cultura. Além disso, o uso contínuo pode promover a seleção de fungos patogênicos resistentes (Ghini & Kimati, 2002). É ainda importante ressaltar a inexistência de produtos registrados para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, na cultura do cafeeiro (Agrofit, 2009).

Portanto, a procura por produtos alternativos que atuem no controle de doenças de plantas de forma eficiente, com baixa ou nenhuma agressividade ao homem e à natureza, que não favoreçam a ocorrência de formas de resistência de pragas e patógenos, com custo reduzido para aquisição e aplicação, vem crescendo (Schwan-Estrada et al., 2000). Uma dessas alternativas é a utilização de óleos essenciais de plantas medicinais e de extratos brutos vegetais.

A exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleo essencial em plantas medicinais pode constituir mais uma forma potencial de controle alternativo de doenças de plantas cultivadas

(Schwan-Estrada et al., 2000), o que tem demonstrado resultados promissores no controle de doenças de plantas (Schwan-Estrada et al., 2003).

O craveiro-da-índia (*Syzygium aromaticum*) é uma árvore nativa das ilhas Molucas, na Indonésia. Atualmente, é cultivado em outras regiões do mundo, como as ilhas de Madagascar e de Granada (Mazzafera, 2003). O botão floral do cravo-da-índia confere um composto fenólico volátil, o eugenol. Segundo Ferrão (1993), o eugenol representa, em média, 84,4% dos componentes do óleo essencial de cravo-da-índia.

Dentre as espécies medicinais com potencial no controle de patógenos destaca-se o cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) que apresenta atividade nematicida, inseticida, antiviral, bactericida e fungicida (Yukawa et al., 1996; Walker & Melin, 1996; Ouattara et al., 1997; El-Hag et al., 1999; Delespaul et al., 2000; Dorman & Deans, 2000; Nascimento et al., 2000 e Tsao & Yu, 2000), citados por Mazzafera (2003). O eugenol, um dos principais constituintes do óleo essencial presente na especiaria, possui amplo espectro de ação contra fungos como *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bacillus cereus*, além de outras espécies de fungos, bactérias e leveduras com efeitos antiinflamatório, cicatrizante e analgésico (Delespaul et al., 2000).

Neste contexto, o presente trabalho foi realizado com os objetivos de avaliar o efeito do óleo essencial e do extrato de cravo-da-índia no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente da mancha manteigosa, e verificar a produção de matéria seca (MS) da parte aérea e da raiz das mudas provenientes de sementes de plantas sadias e doentes (com fator de suscetibilidade) tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Diagnose e Controle de Enfermidades Fúngicas em Plantas e em casa de vegetação, localizados no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG

2.1 Obtenção do isolado de *C. gloeosporioides*

O isolado de *C. gloeosporioides* utilizado neste experimento foi obtido de hastes de cafeeiros com sintomas da mancha manteigosa do campo experimental da UFLA. Tecidos infectados desinfestados com álcool a 50% por 30 segundos e hipoclorito de sódio a 1%, por 1 minuto, lavados em água destilada e esterilizada e secados em papel filtro esterilizado foram transferidos para placa de Petri contendo meio de cultura MEA a 2% (extrato de malte e ágar) e mantidos, durante 7 dias, em câmara de crescimento a 25°C e fotoperíodo de 12 horas.

As culturas monospóricas foram obtidas a partir da suspensão de esporos (1×10^5 esporos/mL), das colônias puras de *C. gloeosporioides*, vertida em placas de Petri contendo meio ágar-água a 2%. Após 24 horas em câmara de crescimento a 25°C e fotoperíodo de 12 horas em câmara de fluxo laminar, com o auxílio do microscópio de luz, esporos germinados foram transferidos individualmente para placas de Petri contendo MEA a 2%. Discos de micélio dos isolados monospóricos foram preservados em água destilada e esterilizada, segundo o método de Castellani.

2.2 Obtenção das mudas de café

Para a obtenção das mudas foram utilizadas sementes de cafeeiro da cultivar Catuaí, provenientes de plantas sadias que originaram as chamadas “mudas sadias” e de plantas doentes que originaram as chamadas “mudas doentes” (com fator de suscetibilidade), produzidas na safra de 2007/2008 e coletadas na Fazenda da Laje, localizada no município de Paraguaçu, Minas Gerais.

As sementes foram obtidas de frutos no estágio cereja, colhidos manualmente. Os frutos foram submetidos ao despulpamento e, em seguida, as sementes foram desmuciladas por fermentação em água, por 24 horas. Após a retirada da mucilagem, foram lavadas em água corrente e dispostas em bandejas forradas com papel filtro esterilizado, colocadas à sombra para a retirada do excesso de água.

As sementes foram semeadas em copos descartáveis de 500 mL contendo substrato composto por terra, areia e esterco, na proporção 2:1:2, mantidos em casa de vegetação. Os tratamentos foram distribuídos em blocos casualizados, esquema fatorial 11 tratamentos x 2 estados (“mudas sadias” e “mudas doentes”), com 5 repetições.

2.3 Óleo essencial e extrato de cravo-da-índia no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente da mancha manteigosa, *in vivo*

A primeira pulverização do óleo essencial de cravo-da-índia nas concentrações 0,25%, 0,5%, 0,75% e 1,0%, do extrato de cravo-da-índia nas concentrações 0,1%, 1,0% , 10% e 20%, do fungicida Clorotalonil (0,2g⁻¹) e de água destilada (testemunha e testemunha inoculada) foi realizada nas mudas de cafeeiro quando as mesmas apresentavam três pares de folhas totalmente expandidas (6 meses de idade).

Três dias antes da inoculação, as mudas foram submetidas à condição de câmara úmida, feita com o auxílio de sacos plásticos transparentes umedecidos com água destilada e esterilizada, que foram mantidas em casa de vegetação por 48 horas.

Sete dias após a primeira pulverização, 4 folhas/muda foram inoculadas com suspensão de conídios, na concentração de $2,5 \times 10^6$ esporos/mL em água e Tween a 20%. A suspensão de conídios do isolado foi inoculada com uma gota de 10 μ L na face abaxial das folhas, em locais marcados com o auxílio de discos autocolantes com orifícios de 1,4 cm de diâmetro. Foram feitos ferimentos nos locais da inoculação nas folhas com o auxílio de um conjunto de agulhas para permitir a penetração e a colonização do fungo. Sobre a área inoculada, colocou-se um disco de papel semipermeável com 1,3 cm de diâmetro, previamente umedecido, formando, assim, uma microcâmara úmida (Abreu, 1978). Essa microcâmara úmida foi retirada 48 horas após a inoculação. Sete dias após a inoculação das mudas, procedeu-se a mais quatro pulverizações semanais do óleo e extrato de cravo-da-índia.

Foi avaliada a severidade da doença (porcentagem de área foliar afetada pela doença, nas folhas inoculadas), sete dias após a inoculação, por meio da escala de notas adaptada por Várzea (1995) e modificada por Martins & Abreu citado por Martins (2008) (Tabela 1). A severidade foi avaliada durante 4 semanas.

TABELA 1 Critérios de avaliação do espectro de reação a *Colletotrichum* sp. apresentada por plantas de café.

Nota (grau de sintomas)	Severidade/Sintomas
0	Ausência de reação visível.
1	Pequenas e poucas (1 a 2) lesões cloróticas ou acastanhadas.
2	Mais de 2 lesões acastanhadas ou lesões coalescentes. O diâmetro da lesão excede 0,5 mm
3	Extensas lesões acastanhadas com numerosos pontos pretos ou lesões escuras. Mais de 50% da área do disco lesionada.
4	Área do disco totalmente necrosada (100%).

A partir dos dados de severidade foi determinado o índice da doença (ID), conforme a fórmula proposta por Cirulli & Alexander, citado por Carvalho (2004).

$$ID (\%) = 100 \Sigma[(f.v)/(n.x)],$$

em que:

f = número de folhas com a mesma nota;

v = nota observada;

n = número total de discos;

x = nota máxima da escala.

Em seguida, com os valores do ID (%), foi calculada a área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) com base nos índices de severidade, de acordo com Campbell & Madden (1990), calculados pela fórmula:

$$\text{AACPS} = \sum_{i=1}^{n-1} [(X_i + X_{i+1})/2](t_{i+1} - t_i),$$

em que:

$i=1$
 x : índice da doença;

t : o tempo;

n : o número de avaliações no tempo;

Para a avaliação da AACPS, utilizou-se o delineamento experimental em blocos casualizados. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Tukey, a 5% de probabilidade (Sisvar versão 4.6) (Ferreira, 2000).

2.4 Matéria seca (MS) da parte aérea e raiz de mudas provenientes de sementes de plantas sadias e doentes tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia

Ao final de todas as avaliações, as mudas tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia foram retiradas do substrato, lavadas e secadas.

Para avaliação da produção de matéria seca (MS), as raízes e partes aéreas foram acondicionadas separadamente em sacos de papel previamente identificados e colocados em estufa de circulação forçada, a 37°C, por 5 dias. Foi colocada uma parte aérea por saco de papel, num total de cinco para cada tratamento (cinco repetições para cada tratamento). O mesmo foi realizado com as raízes. Cada material vegetal foi pesado em balança analítica.

Para a análise da produção de matéria seca (MS), utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade (Sisvar versão 4.6), (Ferreira, 2000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Óleo essencial e extrato de cravo-da-índia no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* agente da mancha manteigosa, *in vivo*

Houve diferenças significativas ($P \leq 0,05$) para a interação entre tratamentos e estado das mudas (“doentes” e “sadias”), para a área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) (Tabela 2).

As testemunhas absoluta e inoculada das mudas sadias e a testemunha absoluta das mudas doentes não apresentaram qualquer sintoma da doença. Observou-se que, para as mudas doentes, o extrato de cravo a 0,1%, 10% e 20% e o óleo de cravo a 0,5%, 0,75% e 1,0% apresentaram as menores AACPS, com 660,63; 888,13; 809,38; 678,13 e 835,63 respectivamente, não havendo diferenças estatísticas entre si e diferindo estatisticamente da testemunha. Em seguida, o extrato de cravo a 1,0% apresentou 975,45; o fungicida, 1.045,63 e o óleo de cravo a 0,25%, 1.089,67, que diferiram da estatisticamente da testemunha (Tabela 2). A testemunha inoculada apresentou a maior AACPS, com 1.334,38. Dentre as mudas sadias não houve diferenças significativas para os diferentes tratamentos aplicados.

É importante salientar que o óleo a 0,5% e o extrato a 0,1% foram os tratamentos mais eficientes no controle do *C. gloeosporioides*. Esse potencial de inibição observado permite a recomendação destes em substituição ao tratamento químico das mudas, pois tais tratamentos, além de eficientes, apresentam-se não poluentes (Carvalho & Nakagawa, 2000). Contudo, quando se observam, ainda, a eficiência de aplicação e o custo benefício do óleo a 0,5% em relação ao extrato a 0,1%, o melhor tratamento seria o extrato a 0,1%, pois o mesmo apresenta maior facilidade de aplicação e menor custo para a sua aquisição.

Quando foram comparadas as mudas doentes e sadias em relação aos tratamentos realizados, observou-se que todos os tratamentos foram mais eficientes para as mudas sadias do que para as doentes (Tabela 2). Isso pode ter ocorrido porque esta última apresenta vários fatores de suscetibilidade para a doença. Segundo Ferreira (2006), a interação entre *Colletotrichum gloeosporioides* e plântulas de café é muito variável, dependendo da suscetibilidade do material genético em expressar sintomas da doença, da variabilidade genética dos isolados e do tempo após inoculação para expressar sintomas.

TABELA 2 Óleo essencial e extrato de cravo-da-índia na área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) das mudas de cafeeiro. UFLA, Lavras, MG, 2009.

Tratamentos	AACPS		
	Mudas “doentes”	Mudas “sadias”	
Óleo de cravo-da-índia	a 0,25%	1088,67 cB	170,63 aA *
	a 0,50%	678,13 bB	218,40 aA
	a 0,75%	835,63 bB	236,25 aA
	a 1,00%	975,45 bB	126,88 aA
Extrato de cravo-da-índia	a 0,1%	660,63 bB	223,13 aA
	a 1%	975,45 cB	135,63 aA
	a 10%	888,13 bB	87,50 aA
	a 20%	809,38 bB	0,00 aA
Clorotalonil (0,2g.L ⁻¹)	1045,63 cB	231,88 aA	
Testemunha	0,00 aA	0,00 aA	
Testemunha inoculada	1334,38 dB	0,00 aA	
CV (%)	44,28		

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

É importante ressaltar que relatos envolvendo controle no patossistema *Colletotrichum gloeosporioides* x cafeeiro são inexistentes na literatura. No entanto, trabalhos envolvendo o óleo essencial de cravo-da-índia, óleo de tomilho, óleo de citronela e óleo de capim-limão no controle da cercosporiose do cafeeiro foi realizado por Pereira (2008), que observou que os mesmos proporcionaram redução a AACPSD de 73,7%, 83%, 77,2% e 70,8%, respectivamente, em relação à testemunha.

Pereira (2006) estudou também a utilização de extratos de resíduos do café no controle da cercosporiose do cafeeiro e observou que o extrato de casca de café (ECC), nas doses 50, 100, 150 e 200g/L, diminuiu a área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI), com 12,4%, 11,3%, 28,1% e 9,6%, respectivamente, diferindo estatisticamente da testemunha.

Santos et al. (2007), em estudo sobre o efeito de extratos vegetais contra patógenos fúngicos, observaram que o extrato vegetal de folhas de café infectadas por ferrugem (EFID) e o extrato de casca de café (ECC) proporcionaram redução na incidência da cercosporiose, da ferrugem e da mancha-de-phoma do cafeeiro, comparativamente aos percentuais de doença observados nas testemunhas pulverizadas com água e Viça Café.

Toyota (2008), testando o extrato vegetal de folhas de café infectadas por ferrugem (EFID) e a combinação EFID mais ASM (acibenzolar-S-metil) contra a ferrugem do cafeeiro, observou que a combinação proporcionou redução na área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) de 52%, enquanto o EFID reduziu em 26%, quando comparado à testemunha.

Nascimento et al. (2008) observaram que, no terceiro dia após a inoculação, mudas de mamoeiro pulverizadas com extrato de alho, angico e manjerição e com o indutor Bion® não apresentaram sintomas de antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). Aos 6 dias após a inoculação, verificaram também que os mesmos tratamentos diferiram estatisticamente dos demais, tendo sido observadas apenas pequenas lesões cloróticas.

3.2 Matéria seca (MS) da parte aérea e raiz de mudas sadias e doentes tratadas com óleo essencial e extrato de cravo-da-índia

Não houve interação significativa ($P \leq 0,05$) entre tratamentos x estado das mudas. Apenas as “mudas doentes” apresentaram diferenças significativas para a matéria seca da parte aérea. As médias encontram-se na Tabela 3.

Dentre as mudas doentes, o óleo de cravo a 0,75%, o extrato de cravo nas concentrações 0,1%, 1,0% e 10% e o fungicida foram os melhores tratamentos, tendo os mesmos apresentado maior MS de parte aérea, 0,79g, 0,75g, 0,76g, 0,77g e 0,79g, igualando-se estatisticamente à testemunha absoluta, que apresentou 0,82g. O óleo de cravo nas concentrações 0,25%, 0,5% e 1,0%, o extrato de cravo a 20% e a testemunha inoculada apresentaram menor MS de parte aérea, sendo 0,65g, 0,62g, 0,54g, 0,65g e 0,66g, respectivamente, não havendo diferenças estatísticas entre esses tratamentos (Tabela 3).

Dentre as mudas sadias, não houve diferenças significativas para os diferentes tratamentos aplicados. Os tratamentos aplicados nas mudas doentes foram estatisticamente iguais aos tratamentos aplicados nas mudas sadias, com exceção para o extrato de cravo a 10%, que apresentou maior matéria seca de parte aérea para as mudas doentes do que para as mudas sadias (Tabela 3).

TABELA 3 Matéria seca de parte aérea de mudas “doentes” e “sadias” pulverizadas com óleos e extratos de cravo-da-índia. UFLA, Lavras, MG, 2009.

Tratamentos	Matéria seca de parte aérea (g)		
	Mudas “doentes”	Mudas “sadias”	
Óleo de cravo-da-índia	a 0,25%	0,65 aA	0,63 aA *
	a 0,50%	0,62 aA	0,69 aA
	a 0,75%	0,79 bA	0,71 aA
	a 1,00%	0,54 aA	0,62 aA
Extrato de cravo-da-índia	a 0,1%	0,75 bA	0,74 aA
	a 1%	0,76 bA	0,68 aA
	a 10%	0,77 bB	0,56 aA
	a 20%	0,65 aA	0,46 aA
Clorotalonil (0,2g.L ⁻¹)	0,79 bA	0,66 aA	
Testemunha	0,82 bA	0,70 aA	
Testemunha inoculada	0,66 aA	0,73 aA	
CV (%)	21,41		

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

Não houve interação significativa ($P \leq 0,05$) entre tratamentos x estado das mudas. Apenas as “mudas sadias” apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos para a matéria seca de raiz. As médias encontram-se na Tabela 4.

Para as mudas sadias, todas as concentrações do óleo e do extrato de cravo comportaram-se estatisticamente iguais à testemunha absoluta em relação à matéria seca de raiz. Apenas as mudas tratadas com o fungicida (0,29g) e a testemunha inoculada (0,33g) apresentaram maior matéria seca de raiz em

relação à testemunha absoluta. Dentre as mudas doentes, não houve diferenças significativas para os diferentes tratamentos aplicados.

Os tratamentos aplicados nas “mudas doentes” foram estatisticamente iguais aos tratamentos aplicados nas “mudas sadias”, com exceção da testemunha inoculada, que apresentou maior matéria seca de raiz para as mudas sadias do que para as mudas doentes (Tabela 4).

TABELA 4 Matéria seca da raiz de mudas “doentes” e “sadias” pulverizadas com óleos e extratos de cravo-da-índia. UFLA, Lavras, MG, 2009.

Tratamentos	Matéria seca de raiz (g)	
	Mudas “doentes”	Mudas “sadias”
Óleo de cravo-da-índia a 0,25%	0,19 aA	0,21 aA *
a 0,50%	0,18 aA	0,20 aA
a 0,75%	0,22 aA	0,16 aA
a 1,00%	0,18 aA	0,18 aA
Extrato de cravo-da-índia a 0,1%	0,24 aA	0,22 aA
a 1,0%	0,22 aA	0,22 aA
a 10%	0,21 aA	0,20 aA
a 20%	0,19 aA	0,19 aA
Clorotalonil (0,2g.L ⁻¹)	0,29 aA	0,29 bA
Testemunha	0,24 aA	0,22 aA
Testemunha inoculada	0,19 aA	0,33 bB
CV (%)	35,57	

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

4 CONCLUSÕES

O extrato a 0,1%, 10% e 20% e o óleo essencial de cravo a 0,5%, 0,75% e 1,0% apresentaram-se como produtos potenciais na redução da AACPS da doença para as “mudas doentes”.

O óleo de cravo a 0,75%, o extrato de cravo nas concentrações 0,1%, 1,0% e 10% e o fungicida foram os melhores tratamentos, tendo apresentado maior matéria seca de parte aérea para as mudas doentes.

O extrato de cravo a 10% apresentou maior matéria seca de parte aérea para as mudas doentes do que para as mudas sadias.

O fungicida e a testemunha inoculada apresentaram maior matéria seca de raiz para as mudas sadias.

A testemunha inoculada apresentou maior matéria seca de raiz para as mudas sadias do que para a testemunha inoculada das mudas doentes.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, M.S. **Identificação de parâmetros para avaliação da resistência horizontal de *Coffea sp.* à *Hemileia vastatrix* Berk & Br.** 1978. 64 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- AGROFIT. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/DAS. **Consulta de praga/doenças.** 2009. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit>>. Acesso em: 2 jan. 2009.
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology.** New York, J. Wiley, Sons. 1990. 532p.
- CARVALHO, G.A. **Efeito in vitro e in vivo de filtrados de rizobactérias sobre *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ. do cafeeiro.** 2004. 55p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** 4. ed. Campinas : FUNEP, 2000. 588p.
- CHALFOUN, S.M. **Doenças do cafeeiro: importância, identificação e métodos de controle.** Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 93 p.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTOS. **Safra grãos 2008/2009.** Disponível em: <<http://www.conab.gov.com.br>>. Acesso em: 2 jan. 2009.
- COSTA, H.; VENTURA, J.A.; FERRÃO, M.A. Mancha manteigosa em café arábica na região serrana do Estado do Espírito Santo. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 3., 2003, Porto Seguro-BA **Anais...**Porto Seguro: Embrapa Café, 2003. p.206.
- DELESPAUL, Q.; BILLERBECK, V.G.; ROQUES, C.G.; MICHEL, G.; MARQUIER-VINUALES, C.; BESSIERE, J.M. The antifungal activity of essential oils as determined by different screening methods. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v.12, n.2, p. 256-266, Mar. 2000.

DORIZZOTTO, A.; ABREU, M. S. Reação de plântulas e frutos verdes de cafeeiros (*Coffea arabica* L.) a *Colletotrichum coffeanum* NOACK e *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, ago. 1993. Suplemento.

FERRÃO, J.E.M. **Especiarias: cultura, tecnologia e comércio**. Lisboa: Ministério do Planejamento e da Administração do Território/Secretaria de Estado da Ciência e Tecnologia/Instituto de Investigação Científica Tropical, 1993. 443p.

FERREIRA, D.F. Análise estatística por meio do SISVAR para Windows: versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. **Anais...** São Carlos: UFScar, 2000. p.235.

FERREIRA, J.B. **Aspectos histopatológicos, epidemiologia e controle da mancha manteigosa em *Coffea arabica* L.** 2006. 159 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FERREIRA, J. B.; PEREIRA, I. S.; FERNANDES, K. D.; ABREU, M. S. Prejuízos ocasionados pela mancha manteigosa em cafeeiros (*Coffea arabica* L.). In: ENCONTRO SUL MINEIRO DE CAFEICULTURA, 10.; SIMPÓSIO DE PESQUISA CAFEIEIRA DO SUL DE MINAS, 5., 2004, Lavras. **Anais...**Lavras: Necaf, 2004. 1 CD-ROM.

FERREIRA, J. B.; SILVA, E. H.; FERNANDES, K. D.; PEREIRA, R. B.; ABREU, M. S.; PEREIRA, I. S. Efeito de fungicidas no controle da seca de ramos do cafeeiro (*C. arabica* L.) com mancha manteigosa (*Colletotrichum* spp.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, p.111-111, ago. 2005. Suplemento.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2002. 78p

MARTINS, F.G. **Aspectos epidemiológicos e fisiológicos da interação *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ x mudas micropropagadas de cafeeiro (*Coffea arabica*).** 2008. 56p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.26, n.2, p.231-238, jun. 2003.

NASCIMENTO, L.C.; NERY, A.R.; RODRIGUES, L.N. Controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamoeiro utilizando extratos vegetais, indutores de resistência e fungicida. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.30, n.3, p.313-319, 2008. Sep.

OROZCO, E.F.M; FREITAS, M.; PIGOZZO, P.; ABREU, M. S. Incidência de *Colletotrichum* spp. em frutos cereja e sementes de café arábica (*Coffea arabica*) no estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO DE PÓS GRADUAÇÃO, 11., 2002, Lavras, MG. **Anais...** Lavras: UFLA/APG, 2002.

PARADELA FILHO, O.; PARADELA, A.L.; THOMAZIELLO, R.A.; RIBEIRO, I.J.A.; SUGIMORI, M.H.; FAZUOLI, L.C. **O complexo *Colletotrichum* do cafeeiro**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2001. 11 p. (Boletim Técnico, 191).

PEREIRA, R.B. **Extrato de casca de café e óleo de tomilho no controle de *Cercospora coffeicola* Berk & Cooke em cafeeiro**. 2006. 79 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PEREIRA, R.B. **Potencial de óleos essenciais no manejo da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro**. 2008. 107 p. Tese (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SANTOS, F.S.; SOUZA, P.E.; RESENDE, M.L.V.; POZZA, E.A.; MIRANDA, J.C.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; MANERBA, F.C. Efeito de extratos vegetais no progresso de doenças foliares do cafeeiro orgânico. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.32, n.1, p.59-63, jan./fev. 2007.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M. E. da S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, Curitiba, v.30, n.1-2, p.129-137, jun./dez. 2000.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Uso de Plantas Medicinais no Controle de Doenças de Plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília. v.28, n.4, p.54-56, ago. 2003.

TOYOTA, M. **Extratos vegetais e produtos comerciais no manejo da ferrugem e nos mecanismos de defesa do cafeeiro à cercosporiose**. 2008. 66 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A mancha manteigosa, causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, tem determinado perdas, culminando com a perda total de produção. Acredita-se que a sua transmissão ocorra pela semente, visto que a maioria das lavouras é formada a partir de mudas.

No presente trabalho, as sementes inoculadas apresentaram maior percentual de plantas normais germinadas, bem como maior índice de velocidade de germinação em relação à testemunha absoluta. Isso pode ter acontecido porque o patógeno, em contato com a semente, pode alterar todo o processo fisiológico da mesma e a semente, numa tentativa de garantir a perpetuação de sua espécie, responde de maneira positiva, aumentando sua germinação e vigor.

Sementes tratadas com o óleo de cravo a 0,75% e com o extrato de cravo a 1% e 10% apresentaram baixo percentual de sementes normais germinadas e sementes tratadas com o óleo de cravo a 0,75% e extrato de cravo a 1,0% apresentaram baixo IVE. Isso pode ter ocorrido porque os extratos foram preparados a partir de botões florais de diferentes procedências, o que pode ter influenciado na sua composição química. Em relação aos tratamentos realizados com o óleo de cravo, acredita-se que novos experimentos devem ser realizados para poder elucidar o ocorrido.

É importante ressaltar que não há fungicidas registrados para o controle de *C. gloeosporioides* em mudas e sementes de café, assim como também não há relatos do controle alternativo de *C. gloeosporioides* em sementes e mudas de café. No entanto, os resultados do presente trabalho são inéditos e muito interessantes, pois demonstram que o óleo essencial e o extrato de cravo-da-índia, em diferentes concentrações, apresentam potencial no controle de

Colletotrichum gloeosporioides, agente da mancha manteigosa, em sementes e mudas de café.

É importante enfatizar também que pesquisas utilizando produtos alternativos no controle de fitopatógenos ainda são muito restritas, portanto, trabalhos futuros devem ser realizados em casa de vegetação e em campo.