

# ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM SEMENTES DE FEIJÃO CV. CARIOQUINHA

Lilia Aparecida Salgado de Moraes; Nilza Patrícia Ramos; Gabriela Granghelli Gonçalves; Wagner Bettioli; Francisco Célio Maia Chaves

Embrapa Meio Ambiente, CP 69, Jaguariúna – SP CEP: 13820-000 e-mail: lilia@cnpmma.embrapa.br

## RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de óleos essenciais de manjeriço (*Ocimum* sp.), dois tipos de capim limão (*Cymbopogon flexuosus* e *C. citratus*) e melaleuca (*Melaleuca* sp.), na germinação e sanidade de sementes de feijão. Foram utilizados dois lotes de sementes cv. Carioquinha, quatro óleos essenciais, e leite em pó desnatado, para facilitar a solubilização dos óleos essenciais. As sementes foram submetidas a tratamento de imersão por um minuto nos óleos essenciais, diluídos em água destilada (5%). Os testes de germinação e sanidade foram realizados segundo as RAS (Regras para Análise de Sementes). O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial (2 x 6), sendo dois lotes e seis tratamentos, conduzidos em quatro repetições para o teste de germinação e 20 repetições para o teste de sanidade. As médias obtidas foram submetidas à análise de variância e teste Tukey. Pode-se observar que o óleo essencial de *C. citratus* reduziu o percentual de germinação das sementes de feijão, porém mostrou-se eficaz na redução de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. O óleo essencial de *C. flexuosus* inibiu a incidência de *Cladosporium* sp. Os resultados obtidos indicam a possibilidade de os óleos essenciais serem utilizados no tratamento de sementes de feijão.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Phaseolus vulgaris*; *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Cymbopogon citratus*; Defensivos Naturais

## ABSTRACT

### Anti fungal activity of essential oils on bean (cv. Carioquinha) seeds

The aim of this work was to evaluate the effect of essential oils of *Ocimum* sp., *Cymbopogon flexuosus*, *C. citratus* and *Melaleuca* sp., on germination and sanity of bean seeds. Seeds were treated by immersion by one minute at essential oils (5%). Germination and sanity tests were realized by RAS. Were used two lots of bean seeds cv. Carioquinha, four essential oils and powder milk, to dissolve the essential oils. The experimental design was completely randomized, in factorial scheme (2 x 6) with six treatments and four replications for germination test and 20 replications for sanity test. Lower data of germination were observed on seeds treated with *C. citratus*, but the same showed positive effect on *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. control. Essential oil of *C. flexuosus* inhibit the incidence of *Cladosporium* sp. This result indicates the possibility of essential oils can be use on treatment of pathogenic fungus of beans seeds.

**KEYWORDS:** *Phaseolus vulgaris*; *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Cymbopogon citratus*; Natural Defensives

## INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L) é um dos principais produtos agrícolas de valor econômico brasileiro, constituindo, juntamente com o arroz, a base alimentar da população (Boller & Caldato, 2001). Neergaard (1979) afirma que mais de 50% das principais doenças do feijoeiro tem seus agentes causais transmitidos através das sementes. Isso demonstra que o controle desses patógenos nas semente, possibilita a redução significativa no uso posterior de defensivos, indicando menor poluição do ambiente.

O tratamento realizado diretamente sobre a superfície da semente pode ser uma opção rápida, eficiente e não onerosa para o controle de patógenos, desde que os produtos aplicados causem impacto reduzido ao ambiente e sejam efetivos para a proteção contra os microrganismos de solos e para a preservação da qualidade da semente durante o armazenamento (Ramos et al., 2008). Atualmente, a maioria dos produtos para tratamento são sintéticos, aplicados em formulações e dosagens diversas (Vanzolini et al., 2000), o que impede a utilização no setor orgânico. Como alternativa, tem sido pesquisados produtos naturais, como extratos e óleos essenciais, provenientes de plantas, que podem apresentar propriedades antimicrobianas capazes de controlar a microflora associada às sementes (Souza et al., 2004; Morais et al., 2001).

Além do mercado para orgânicos que tem buscado produtos naturais para controle de patógenos, existe ainda no caso do feijão a ampla possibilidade de uso de tecnologias simples pelos agricultores familiares. Isto porque, o cultivo de feijão é realizado principalmente por pequenos produtores, representando inclusive uma importante fonte de renda e subsistência (Mertz et al., 2007). Assim, a possibilidade de uso de produtos naturais, com facilidade de aplicação e eficiência comprovada pode representar um grande avanço em termos de melhoria da qualidade dos produtos e economia final.

Diante do exposto, fica evidente a necessidade do resgate de técnicas alternativas de controle fitossanitário em sistemas familiares e mesmo não convencionais de produção. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de quatro óleos essenciais na germinação e sanidade de sementes de feijão.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Produtos Naturais (LPN) e no Laboratório de Microbiologia Ambiental (LMA) da Embrapa Meio Ambiente. Foram utilizados dois lotes comerciais de sementes de feijão comum cv. Carioquinha e óleos vegetais de capim-limão (*Cymbopogon citratus* e *C. flexuosus*), manjeriço (*Ocimum* sp.) e melaleuca (*Melaleuca* sp.). Estes foram diluídos em água destilada em concentração de 5%, utilizando-se 1,0g de leite em pó desnatado para facilitar a solubilização. Preparadas as soluções, as sementes foram imediatamente submetidas a tratamento de imersão por um minuto e secas a sombra, em temperatura ambiente (25°C) por seis horas.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial (2 x 6), sendo dois lotes (L1 e L2) e seis tratamentos (T1 = Testemunha água destilada); T2 = Testemunha Leite desnatado; T3 = *Ocimum* sp.; T4 = *Cymbopogon flexuosus*; T5 = *C. citratus*; e T6 = *Melaleuca* sp.), conduzidos em quatro repetições.

Foram realizados testes de germinação em papel, seguindo-se metodologia descrita nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), sendo os resultados expressos em percentagem média de plântulas normais. Já a avaliação da sanidade foi determinada pelo método do papel de filtro (Neergaard, 1979), sendo os patógenos anotados e devidamente identificados com auxílio de microscópios estereoscópio e óptico.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Foram realizadas, quando necessário, transformações de dados usando  $\arcsin \sqrt{x/100}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve significância para as interações entre lotes e óleos essenciais apenas para a germinação de sementes, sem efeitos sobre a sanidade, que foi alterada individualmente pelos dois fatores em estudo (Tabela 1). Observou-se grande diferença entre os lotes estudados, com desempenho significativamente superior de L1 em relação a L2, em todos os óleos essenciais. Já na testemunha, L2 encontrava-se 56% inferior a L1 e inclusive não se prestaria a comercialização como sementes, que exige padrões oficiais superiores a 80% (Brasil, 2005).

O baixo desempenho germinativo de L2 parece estar também associado a presença significativa de patógenos de armazenamento, como *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. e *Cladosporium* sp. (Tabela 2). Cabe destacar que apenas este lote apresentou efeitos significativos para a avaliação antifúngica (Tabela 3).

Ainda com relação à germinação (Tabela 1), observou-se que, o percentual de germinação do L1 foi reduzido apenas nas sementes submetidas ao tratamento T5 (*C. citratus*), sendo esta redução de aproximadamente 35%, o que inviabilizaria o uso como sementes. Já para L2, houve oscilação nos resultados dos tratamentos, sendo que contraditoriamente ao que foi observado em L1, o T5 (*C. citratus*) foi o tratamento que não diferiu estatisticamente da testemunha, juntamente com T3 (*Ocimum* sp.). Assim, sob o aspecto germinativo, talvez o tratamento com *Ocimum* sp. poderia ser mais pesquisado, uma vez que não interferiu em nenhum dos dois lotes testados. O efeito negativo do *C. citratus* (T5), observado no presente trabalho (Tabela 1), discorda dos resultados obtidos por Mishra & Dubay, (1994), que não observaram interferência deste óleo essencial sobre a emergência de plântulas de arroz. Essa contradição entretanto não é preocupante uma vez que as sementes testadas são bastante diferentes, sendo o feijão uma dicotiledônea, com absorção rápida de água por meio do hilo, enquanto o arroz, uma monocotiledônea, possui absorção mais lenta e menos agressiva.

Na Tabela 3 são apresentados os resultados médios da incidência de patógenos no Lote 2. Houve redução significativa do *Aspergillus* spp. em todos os tratamentos antifúngicos propostos, sendo que as reduções ocorreram entre 68% para T4 e 44% para T2 (testemunha leite desnatado), sem diferenças significativas entre os óleos avaliados. Entretanto, nenhum dos óleos testado erradicou completamente esse patógeno, o que dificulta uma possível recomendação em situação de armazenamento posterior do lote. Isto porque, tanto a presença do *Aspergillus* spp. como de *Penicillium* spp. depreciam a qualidade das sementes por reduzirem o poder germinativo, alterarem a coloração e contribuírem para a deterioração das sementes, promoverem o aquecimento da massa de sementes dentro dos silos, com conseqüente aumento da taxa respiratória e de deterioração e produzirem micotoxinas que podem ser letais ao homem e animais (Machado, 2000).

A respeito do *Penicillium* spp. (Tabela 3), foi possível notar que os tratamentos com óleos de *Citratrus* sp. e *Melaleuca* sp. foram os que reduziram mais significativamente a sua incidência, sendo 50, 68 e 54% a redução, respectivamente para T3, T4 e T5.

Assim como para o *Aspergillus* spp., nenhum tratamento erradicou o *Penicillium* spp. das sementes de feijão do L2. A testemunha com leite desnatado (T2) promoveu o aumento desse patógeno, assim como do *Cladosporium* spp., indicando que o efeito inibitório dos antifúngicos oleosos poderia ter sido superior na ausência deste composto. Ainda com relação ao *Cladosporium* spp. (Tabela 3), não houve efeito de nenhum dos óleos essenciais testados, sendo que inclusive o *C. citratus* e o leite, que já foi comentado anteriormente, promoveram o aumento na incidência do patógeno, em relação a testemunha.

O óleo essencial de *C. citratus* prejudica a germinação das sementes de feijão. Entretanto, reduz a incidência de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. O método de aplicação por imersão direta pode não ser o mais indicado, uma vez que foram observados danos ao tegumento (rachaduras ou pequenas falhas), o que compromete o potencial fisiológico das sementes e pode favorecer a entrada de patógenos. Assim, serão realizados novos testes, utilizando diferentes metodologias de aplicação e concentrações de óleos essenciais.

#### LITERATURA CITADA

- BOLLER W; CALDATO DE. 2001. Desenvolvimento da cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em diferentes condições de cobertura e de preparo do solo. *Engenharia Agrícola* 21(2): 167-173.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. 1992 *Regras para análise de sementes*. Brasília: SNDA/DNDV/32 CLAV. 365p.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2005 *Produção e Comércio de Sementes*. ANEXO VII. (Instrução normativa, nº25 de 16/12/2005).
- MACHADO JC. 2000 Patologia de sementes: significado e atribuições. In: CARVALHO, NM; NAKAGAWA J. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. Jaboticabal: FUNEP,. 588p.
- MERTZ LM; HENNING FA; MAIA M S; MENEGHELLO GE; HENRIQUES A; MADAIL R. 2007. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de Feijão-miúdo beneficiadas em mesa gravitacional. *Revista Brasileira de Sementes* 29 (3): 1-7.
- MISHRAAK; DUBAY NK. 1994. Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. *Applied and Enviromental Microbiology* 60 (4): 1101 - 1105.
- MORAIS LAS; SILVA MAS; GONÇALVES MA; SILVA SMP; CARDOSO AII. 2001. Interferência de extratos de alho na germinação e no vigor de sementes de tomate. *Horticultura Brasileira* 19: 345-349
- NEERGAARD P. 1979. *Seed Pathology*: London: McMillan. 839p.
- RAMOS NP; MARCOS FILHO J; GALLI já. 2008. Tratamento fungicida em sementes de milho-doce. *Revista Brasileira de Sementes* 30 (1): 57-61

SOUZA SMC; PEREIRA MC; ANGÉLICO CL; PIMENTA CJ. 2004. Avaliação de óleos essenciais de condimentos sobre o desenvolvimento micelial de fungos associados a produtos de panificação. *Ciência Agrotécnica* 28 (3): 685-690

VANZOLINI S; TORRES RM; PANIZZI RC. 2000. Efeito do tamanho, da densidade e do tratamento fungicida sobre a qualidade de sementes de amendoim. *Revista Ceres*: 47 (274): 603-12.

**Tabela 1.** Efeito dos óleos essenciais na germinação de sementes de feijão cv. carioquinha influenciadas pela interação entre lotes de sementes e tratamentos com óleos essenciais, sendo: T1 = Testemunha água; T2 = Testemunha Leite desnatado; T3 = *Ocimum* sp.; T4 = *C. flexuosus*; T5 = *C. citratus*; e T6 = *Melaleuca* sp.. Jaguariúna-SP, 2008 (Effect of essential oils on common beans seeds germination influenced by interaction between two seed lots and essential oils treatments: T1 = control (water); T2 = control (skimmed milk); T3 = *Ocimum* sp.; T4 = *C. flexuosus*; T5 = *C. citratus*; and T6 = *Melaleuca* sp.)

Lotes	Óleos essenciais					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
L1	82 Aa <sup>1</sup>	85 Aa	87 Aa	80 Aa	53 Ab	78 Aa
L2	36 Ba	18 Bbc	20 Babc	15 Bc	31 Bab	15 Bbc
VC (%)	11,35%					

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. (Means followed by the same capital letter in the column and small letter in the row did not differ from each other, Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

**Tabela 2.** Incidência de patógenos nos lotes de sementes de feijão. Jaguariúna-SP, 2008. (Incidence of pathogens on bean seeds lots).

Lotes	<i>Aspergillus</i> spp.(%)	<i>Penicillium</i> spp.(%)	<i>Cladosporium</i> spp.(%)
L1	0 A <sup>1</sup>	0 A	0 A
L2	22 B	24 B	7 B

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. (Means followed by the same capital letter in the column did not differ from each other, Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

**Tabela 3.** Incidência de *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Cladosporium* spp. em sementes de feijão do lote 2, submetidas à tratamentos antifúngicos com óleos essenciais, sendo T1 = Testemunha (água destilada); T2 = Testemunha (Leite desnatado); T3 = *Ocimum* sp.; T4 = *C. flexuosus*; T5 = *C. citratus*; e T6 = *Melaleuca* sp.. Jaguariúna-SP, 2008. (Incidence of *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. and *Cladosporium* spp. on lot number 2 of bean seeds, submitted at antifungal treatments with essential oils: T1 = control (distilled water); T2 = control (skimmed milk); T3 = *Ocimum* sp.; T4 = *C. flexuosus*; T5 = *C. citratus*; and T6 = *Melaleuca* sp.).

Tratamentos	Lote 2		
	<i>Aspergillus</i> spp.(%)	<i>Penicillium</i> spp.(%)	<i>Cladosporium</i> spp.(%)
T1 (Testemunha)	21,6 B <sup>1</sup>	24,0 C	6,9 A
T2 (Leite desnatado)	12,2 A	34,7 D	17,5 B
T3 ( <i>Ocimum</i> sp.)	10,6 A	17,5 CD	10,1 AB
T4 ( <i>C. flexuosus</i> )	8,3 A	11,9 AB	6,9 A
T5 ( <i>C. citratus</i> )	6,9 A	7,8 A	11,1 AB
T6 ( <i>Melaleuca</i> sp.)	9,2 A	11,0 AB	8,5 A
C.V.(%)	21,79	18,57	36,61

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 1% de probabilidade. (Means followed by the same capital letter in the column did not differ from each other, Tukey's test,  $p < 0.05$ ).

