

Ação do Óleo Essencial de *Piper aduncum* L. Utilizado como Fungicida Natural no Tratamento de Sementes de *Vigna unguiculata* (L.) Walp.

Allan Klynger da Silva Lobato¹, Davi Gustavo Costa dos Santos¹, Francisco Carlos de Oliveira⁴, Dramerson Dorivan Silva Gouvea², Glaucio Ilan Oliveira da Silva Torres¹, Joaquim Alves de Lima Júnior¹, Cândido Ferreira de Oliveira Neto² e Milton Hélio Lima da Silva³

Introdução

Pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.) é uma planta aromática da família Piperaceae, nativa da região Amazônica, com alto teor de óleo essencial (2,5 a 4%), rico em dilapiol. O dilapiol é um éter fenílico que vem sendo testado com êxito como fungicida, moluscicida, acaricida, bactericida e larvicida com a vantagem de ser um produto biodegradável [1]. Há de se destacar estudos fitopatológicos em que o óleo essencial possui atividade fungicida, controlando efetivamente os fungos *Crinipellis perniciosus* (Stahel) Singer, agente causal da vassoura-de-bruxa em cacauero (*Theobroma cacao* L.) e cupuaçuzeiro [*Theobroma grandiflorum* (Wild. Ex Spreng.)], assim como em *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) Arx, causador da antracnose em frutos de bananeira (*Musa* spp.) [2; 3].

O feijão-de-corda ou caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) como é conhecido na região Nordeste e Norte, respectivamente, possui grande importância agrônômica e econômica por ser um dos grãos mais consumidos no Brasil, servindo de base para a preparação de diversos pratos da culinária brasileira. Apresenta como características técnicas: ciclo curto, alta resistência hídrica, baixa exigência nutricional e elevada adaptabilidade a solos arenosos, além da extrema rusticidade, posicionando o Brasil como um dos maiores produtores do mundo, com áreas cultivadas essencialmente no Nordeste e em algumas regiões da Amazônia.

Vários pesquisadores comprovaram a eficiência do tratamento de sementes com o uso de fungicidas químicos e biológicos na cultura do caupi e em outras culturas como o milho, soja e trigo. O óleo essencial de *P. aduncum* é um fungicida natural e biodegradável, entretanto se faz necessário avaliar se o óleo é efetivo contra fitopatógenos, que causam prejuízos às sementes, e se estes procedimentos são viáveis como alternativa no tratamento destas sementes.

O tratamento de sementes é uma das etapas mais importantes para se manter a qualidade fisiológica e o vigor das sementes e neste sentido há uma busca por formas eficientes e econômicas de se controlar patógenos prejudiciais as sementes. Existem três modalidades para o tratamento de sementes: físico; químico e biológico. O

tratamento químico apresenta como vantagem alta eficiência, pois entra em contato com toda a superfície da semente, tais procedimentos devem ser rápidos para evitar o excesso de embebição e conseqüente germinação precoce além da economia, haja vista necessitar de baixas concentrações do princípio ativo [4].

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de verificar quais os efeitos do óleo essencial de *P. aduncum* sobre a germinação das sementes e analisar se o óleo será eficiente na redução de fungos fitopatogênicos, assim como estudar qual a melhor concentração a ser utilizada em larga escala, procurando diminuir custos, e maximizar a eficiência no tratamento químico de sementes de caupi.

Material e métodos

O experimento “*in vivo*” foi conduzido em casa de vegetação e o “*in vitro*” no laboratório de fitopatologia, ambos localizados no Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) em Belém-PA, utilizando-se sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) cultivar BR3-Tracueteua, produzidas na safra de 2005.

Para realizar o tratamento das sementes foi necessário tornar o óleo essencial de *Piper aduncum* L. solúvel em água até alcançar as concentrações desejadas.

As sementes foram tratadas através de imersão total nas soluções (0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0% de óleo essencial) por 5 minutos e o controle com imersão em água destilada estéril por este intervalo e postas á secar sobre papel manteiga, para serem colocadas nas bandejas após 24 horas.

Para avaliar as respostas fisiológicas aos diversos tratamentos, foram utilizadas bandejas de isopor com 128 células em que foi posto o substrato de areia lavada estéril, colocando-se uma semente por célula na profundidade de 2 cm, realizando-se irrigações diárias, com 100 sementes por repetição e 5 repetições por tratamento. As bandejas foram colocadas em casa de vegetação sob temperatura ambiente (aproximadamente 27 ± 5 e 72% de umidade relativa do ar). Verificando-se do 3º ao 8º dia após a implantação do experimento [5], a percentagem de germinação e o tempo médio de emergência através da metodologia preconizada por

1. Bolsista PIBIC/UFPA/CNPq, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, UFRA, Belém, PA.

E-mail: allanlobato@yahoo.com.br.

2. Mestrando em Biologia Vegetal Tropical, Universidade Federal Rural da Amazônia, UFRA, Belém, PA.

3. Pesquisador, Departamento de Botânica, Museu Paraense Emílio Goeldi, MPEG, Belém, PA.

4. Pesquisador da UFRA, Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal Rural da Amazônia, UFRA, Belém, PA.

Silva & Nakagawa [6]. Para avaliar com maior precisão o tempo médio de emergência a metodologia descrita por Brasil [5] foi adaptada para que as leituras iniciais fossem realizadas a partir do terceiro dia após a implantação do experimento.

No experimento “*in vitro*” realizaram-se os procedimentos de desinfecção com imersão das sementes em solução de hipoclorito de sódio a 2% por 5 minutos, e após imersão em água destilada estéril por 1 minuto [7]. As sementes foram tratadas através de imersão total nas soluções (0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0% de óleo essencial) por 5 minutos e o controle com imersão em água destilada estéril por este intervalo em seguida dispostas em placas de Petri.

Na quantificação dos fungos fitopatogênicos e identificação de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, utilizou-se placas de Petri com 10 cm de diâmetro e 2 cm de altura, autoclavadas a 120°C por 30 minutos e esterilizadas em estufa a 150°C por 4 horas. Em placas de Petri contendo meio B.D.A. (Batata, Dextrose e Ágar), foram dispostas 10 sementes por placa, com 50 repetições por tratamento e submetidas à temperatura de 23± 2 °C sob luminosidade constante, determinando-se, após 5 dias, a percentagem de sementes infectadas por fungos.

O delineamento experimental “*in vivo*” foi executado em blocos ao acaso, enquanto “*in vitro*” foi inteiramente casualizado. Para a análise estatística dos dados utilizou-se análise de variância, testando-se as normalidades dos resíduos através do teste de Anderson-Darling e a igualdade de variância pelo teste de Barlett, comparando as médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade [8].

Resultados e discussão

No experimento “*in vivo*” verificou-se que a percentagem de germinação e o tempo médio de emergência apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, os resultados demonstram (Tabela 1) que os tratamentos nas concentrações de 0,5 e 1,0% do óleo essencial têm percentagem de germinação de 78% e 77% respectivamente, considerados estatisticamente iguais entre si, diferindo dos demais tratamentos que possuem valores de 70, 64 e 52% de germinação para os tratamentos em que concentração utilizada foi de 2,0; 4,0 e 8,0% de óleo essencial, respectivamente. Observou-se que a medida em que se aumentam as concentrações de óleo essencial, há diminuição na percentagem de germinação, entretanto, estatisticamente quando comparadas com o controle estes tratamentos são iguais, o que não permite afirmar a fitotoxicidade do óleo sobre o crescimento inicial do embrião ou de intoxicação de tecidos da semente que sofrerão oxidação e viabilizarão o crescimento da radícula [9].

No experimento envolvendo o tempo de emergência de plântulas, verificou-se que o tratamento sob a concentração de 0,5% de óleo essencial levou o maior tempo médio para as sementes emergirem (Tabela 1), em torno de 4 dias. As concentrações de 2,0 e 4,0% de óleo proporcionaram os menores valores de tempo médio de emergência, em torno de 3 dias. Os tratamentos sob as concentrações de 1,0; 8,0% de óleo e a testemunha são

iguais estatisticamente. Os resultados demonstram a elevada precocidade da cultivar associada a condições ambientais favoráveis como temperaturas supra-ótimas e elevadas taxas para a umidade relativa do ar [10; 11], fatores abióticos típicos da área de execução do experimento e que proporcionaram a aceleração do processo germinativo e conseqüente emergência das plântulas.

A análise estatística dos dados relativos ao experimento “*in vitro*” revelou efeitos significativos entre os tratamentos. O controle apresentou elevada incidência de fungos fitopatogênicos: *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid; *Aspergillus flavus* Link; *Penicillium* spp.; *Fusarium* spp. e *Rhizoctonia solani* Kuhn. A maioria das colônias encontradas foi de *M. phaseolina*, cerca de 60%, que é um dos fungos mais prejudiciais ao caupi. Os resultados mostram (Tabela 2) que houve diminuição de 84% para 16 % em relação ao tratamento controle e o tratamento sob a concentração de 0,5%, havendo diferença significativa entre os tratamentos, com uma redução de 80% na ocorrência de fitopatógenos. Observou-se que não há diferença significativa entre os tratamentos em que utilizaram as concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0%, o que permite indicar a concentração de 0,5% de solução de óleo essencial para o tratamento químico das sementes desta espécie, pois ao se observar à relação custo/benefício tal concentração é eficiente e apresenta baixo custo [12]. Além de coincidir com resultados sobre a atividade inibidora do óleo essencial de *P. aduncum* sobre os fungos *C. pernicioso*. e *C. musae* obtidos por Bastos [2] e Bastos & Albuquerque [3].

Os testes demonstraram que a germinação das sementes não apresentou resposta fitotóxica em relação a altas concentrações do óleo e o tempo médio de emergência revelou que a elevada rusticidade das sementes, bem como sua boa adaptabilidade às condições ambientais, teve maior influência no seu desenvolvimento inicial do que a aplicação do óleo essencial de *P. aduncum* em diferentes concentrações.

O óleo essencial de *P. aduncum* L. em diferentes concentrações, mostrou-se eficaz no combate de fungos prejudiciais a sementes de caupi, com resultados conclusivos de eficiência do óleo na concentração de 0,5%, o que permite recomendar o uso deste óleo essencial de forma econômica e racional. Este ensaio demonstrou o elevado potencial do óleo como agente inibidor de colônias fúngicas e conseqüentemente uma forma biodegradável de se combater fungos fitopatogênicos, inclusive *M. phaseolina*, que contribuem para a deterioração das sementes, morte de plântulas e possíveis perdas na produção, revelando uma nova possibilidade e perspectivas para o tratamento de sementes desta espécie.

Referências

- [1] SILVA, M.H.L. 2004. *Tecnologias Para o Desenvolvimento Agro-industrial de Piper aduncum* L. 78f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Curso de Pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- [2] BASTOS, C.N. 1997. Efeito do óleo de *P. aduncum* sobre *Crinipellis pernicioso* e outros fungos fitopatogênicos. *Fitopatologia Brasileira*, v.22, n.3, p.441-443.

- [3] BASTOS, C.N.; ALBUQUERQUE, P.S.B. 2004. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. *Fitopatologia Brasileira*, v.29, n.5, p.555-557.
- [4] MACHADO, J.C. 2000. *Tratamento de sementes no controle de doenças*. Lavras : LAPS/ UFLA/ FAEPE. 138p.
- [5] BRASIL. 1992. *Regras para Análise de Sementes*. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Brasília : SNDA/DNPV/CLAV. 365p.
- [6] SILVA, J.B.C.; NAKAGAWA, J. 1995. Estudo de fórmulas para cálculo da velocidade de germinação. *Informativo ABRATES*, v.5, n.1, p.62-73.
- [7] FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. 2004. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre : Artmed. 323p.
- [8] SAS Institute. 1989. *Statistical user's guide*, version 6. 4.ed. Cary, New York : SAS Institute. v.2, 846p.
- [9] BEWLEY, J.D.; BLACK, M. 1994. *Seeds: physiology of development and germination*. 2.ed. New York : Plenum. 445p.
- [10] POPININGIS, F. *Fisiologia de sementes*. Brasília : AGIPLAN, 1985. 289p.
- [11] MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. 1989. *The germination of seed*. Oxford : Pergamon Press, . 270p.
- [12] CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. 2000. *Sementes – ciência, tecnologia e produção*. 4.ed. Campinas : FUNEP. 588p.

Tabela 1. Germinação e tempo médio de germinação de sementes de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. tratadas com óleo essencial de *Piper aduncum* L. sob diferentes concentrações.

Tratamentos (% de óleo)	Germinação (%)	Tempo médio (dias)
Controle	62 b	4,04 ab
0,5%	78 a	4,31 b
1,0%	77 a	4,18 ab
2,0%	70 ab	3,97 a
4,0%	64 b	3,88 a
8,0%	52 b	4,06 ab
CV(%)	12,31	4,14

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Incidência de fungos e ocorrência de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid em sementes de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. tratadas com óleo essencial de *P. aduncum* L. sob diferentes concentrações. UFRA, Belém-PA, 2005.

Tratamentos (% de óleo)	Incidência de fungos (%)	Ocorrência de <i>M. phaseolina</i> (%)
Controle	86 b	72 b
0,5%	16 a	8 a
1,0%	16 a	6 a
2,0%	20 a	6 a
4,0%	14 a	6 a
8,0%	16 a	4 a
CV(%)	22,62	25,58

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.