

Bioatividade de óleos essenciais de espécies de hortelãs na sanidade e fisiologia de sementes de *Phaseolus vulgaris* L.

Bioactivity of essential oils of mint species on the health and physiology of seeds of Phaseolus vulgaris L.

Gabriela Silva Moura^{1*}; Lisandro Tomas da Silva Bonome²; Gilmar Franzener³

¹Pós-doutoranda em Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Laranjeiras do Sul, Paraná, E-mail: bismoura@hotmail.com; ²Professor do Curso de Agronomia- Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Laranjeiras do Sul, Paraná, E-mail: lisandro.bonome@uffs.edu.br; ³Professor do Curso de Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Laranjeiras do Sul, Paraná, E-mail: gilmar.franzener@uffs.edu.br.

ARTIGO

Recebido: 30/03/2019

Aprovado: 11/06/2019

Palavras-chave:

Tratamento de sementes

Mentha arvensis

Fitotoxicidade

Key words:

Seed treatment

Mentha arvensis

Phytotoxicity

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade antifúngica dos óleos essenciais (OEs) de hortelã (*Mentha piperita* L.), hortelã-verde (*Mentha spicata* L.) e menta-arvensis (*Mentha arvensis* L.) no crescimento dos fungos de armazenamento *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., e na qualidade fisiológica e sanitária de sementes de *Phaseolus vulgaris* L. cv. Tuiuiu. Para cada óleo essencial (OE) foram utilizadas as concentrações 0,5; 1,0 e 1,5%, tendo água destilada como testemunha negativa. Constituiu-se como testemunha positiva o fungicida Derosal Plus[®] na dose recomendada pelo fabricante. As variáveis analisadas foram crescimento micelial, esporulação, porcentagem de germinação, blotter test, índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento de parte aérea e raiz primária, biomassa fresca total, biomassa seca da parte aérea e raiz. Os OEs de *Mentha* inibiram totalmente o crescimento micelial e a produção de esporos dos fungos. Os OEs de *Mentha* apresentaram efeito inibitório sobre a germinação de sementes e no IVE, bem como reduziram o comprimento da parte aérea em plantas de feijoeiro. Por outro lado, os óleos não afetaram os atributos biomassa fresca total, biomassa seca da parte aérea, bem como o comprimento da raiz primária. Quanto a sanidade todos os tratamentos promoveram menor incidência dos fungos *Aspergillus* spp.; *Alternaria* spp. *Cladosporium* spp. *Colletotrichum* spp. *Fusarium* spp e *Penicillium* spp. quando comparados a testemunha negativa.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the antifungal activity of essential oils (OEs) of mint (*Mentha piperita* L.), green peppermint (*Mentha spicata* L.) and peppermint arvensis (*Mentha arvensis* L.) in the growth of *Aspergillus* sp. and *Penicillium* sp., and in the physiological and sanitary quality of seeds of *Phaseolus vulgaris* L. cv. Tuiuiu. For each essential oil (OE), concentrations of 0.5; 1.0 and 1.5%. The fungicide Derosal Plus[®] it is constituted the positive control at the dose recommended by the manufacturer. The variables analyzed were mycelial growth, sporulation, percentage of germination, blotter test, rate of emergence (IVE), shoot length and primary root, total fresh biomass, dry shoot and root biomass. Mentha OEs totally inhibited mycelial growth and fungal spore production. Mentha OEs had an inhibitory effect on seed germination and IVE, as well as reducing shoot length in bean plants. On the other hand, the oils did not affect the attributes total fresh biomass, dry shoot biomass, as well as the length of the primary root. Regarding sanity, all treatments promoted a lower incidence of fungi *Aspergillus* spp.; *Alternaria* spp.; *Cladosporium* spp. *Colletotrichum* spp., *Fusarium* spp. and *Penicillium* spp. when compared to the negative control.

INTRODUÇÃO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das principais culturas de elevada importância econômica e social no Brasil. O país se destaca por ser um dos maiores produtores dessa leguminosa, com produção total na safra de 2016/2017 de 3.274 milhões de toneladas, de uma área de 3.028,3 hectares, resultando em um rendimento médio de 1.081 kg ha⁻¹. (CONAB, 2017). No Brasil e América Latina o feijão é considerado uma das leguminosas mais importantes como fonte alimentar, em função de conter excelente fonte de proteínas, amido, fibra dietética, minerais e vitaminas (RAMÍREZ-JIMÉNEZ et al., 2015).

Um dos fatores que contribuem para a redução da produtividade da cultura do feijão é a presença de agentes patogênicos, como os fungos. Estes quando presentes na cultura do feijão podem ocasionar perdas de qualidades intrínsecas dos grãos, como a aparência, sabor e diminuição do valor nutricional e, quando se trata das sementes, compromete sua capacidade de germinar e produzir uma planta vigorosa e sadia (SILVA et al., 2013).

Além dos danos direto aos grãos e sementes, estas quando infectadas por agentes patogênicos podem introduzir os patógenos para novas áreas de cultivo e aumentar o inóculo em lavouras já estabelecidas (TALAMINI et al., 2001; TANAKA; MENTEN, 1992). Assim, o tratamento de sementes constitui um método importante para a preservação de suas características originais e para a prevenção de contaminação de áreas livres de fitopatógenos disseminados por sementes.

A forma mais usual e eficaz para o tratamento de sementes tem sido a aplicação de fungicidas em formulações e dosagens diversas (VANZOLINI et al., 2000). No entanto, a aplicação desses produtos químicos pode levar a impactos negativos ao meio ambiente, ao homem, animais, além de patógenos resistentes a esses produtos (GHINI; KIMATI, 2000). Assim, produtos naturais têm assumido importância para o tratamento de sementes, como extratos, pós e óleos essenciais.

Os óleos essenciais representam importante alternativa a ser explorada para o tratamento de sementes, pois além de efeitos fungicida são biodegradáveis e geralmente menos prejudiciais do que os produtos químicos sintéticos, devido à sua origem natural, o que os torna mais seguro para o meio ambiente. Além disso, suas propriedades químicas reduzem o risco de desenvolvimento de patógenos resistentes, devido ao seu conteúdo apresentar diferentes compostos, que exibem diferentes modos de ação (SIVAKUMAR; BAUTISTA-BAÑOS, 2014).

Os óleos essenciais de espécies do gênero de *Mentha* spp. têm sido relatados na literatura por suas inúmeras atividades biológicas, como propriedades antibacteriana, antiviral e antifúngica (SINGH et al., 2015; TIWARI, 2016, MAAHDAVIKIA; SAHARKHIZ, 2015), entretanto são escassas as pesquisas que tratam de seu efeito no tratamento de sementes.

Em virtude do potencial bioativo do óleo essencial de espécies do gênero de *Mentha* spp., o objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade antifúngica *in vitro* de óleos essenciais de *Mentha* spp. no controle de fungos de armazenamento (*Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp.) e, na

qualidade fisiológica e sanitária de sementes *Phaseolus vulgaris* L.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Fitopatologia e de Germinação e Crescimento de Plantas da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Laranjeiras do Sul – PR. Os óleos essenciais de hortelã (*Mentha piperita* L.), menta-arvensis (*Mentha arvensis* L.) e hortelã-verde (*Mentha spicata* L.) foram adquiridos na Casa das Essências localizada em Curitiba- PR, na forma comercial. O fungicida Derosal Plus[®] foi obtido no comércio local.

Para avaliar a atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Mentha* spp., foram utilizados os fungos dos gêneros *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. obtidos a partir de amostras de sementes de feijão naturalmente infectadas. Os fragmentos de micélio dos patógenos foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA sintético) e mantidos em BOD a 25 °C no escuro durante quinze dias. Após esse período, discos de 0,5 mm foram retirados dos bordos das colônias e transferidos para tubos contendo meio de BDA. A preservação dos isolados foi realizada pelo armazenamento dos tubos em geladeira a 5 °C para análises posteriores.

Foram testados os óleos essenciais de hortelã (*Mentha piperita* L.), hortelã-verde (*Mentha spicata* L.) e menta-arvensis (*Mentha arvensis* L.), nas concentrações de 0,5; 1,0 e 1,5%, tendo água destilada como testemunha negativa. Para o fungicida Derosal Plus[®] (testemunha positiva) utilizou-se 3 mL p.c/kg de semente, conforme a recomendação do fabricante.

Cada tratamento foi adicionado ao meio de cultura BDA fundente a 45 °C, seguido de agitação manual em Erlenmeyer estéril para homogeneizar o óleo no meio. Em seguida, 20 mL do meio foi distribuído em placas de Petri estéreis (nove cm de diâmetro) e, duas horas após, um disco de sete milímetros de diâmetro, contendo micélio dos fungos *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. foram transferidos no centro de cada placa de Petri. As placas foram vedadas com filme plástico e mantidas a 25 °C no escuro. Realizou-se a medição diária dos diâmetros das colônias no sentido horizontal e vertical com auxílio de régua determinando a média dos dois valores para inferir sobre o crescimento micelial médio da colônia. A última avaliação ocorreu quando o micélio da testemunha atingiu a borda da placa de Petri. Em seguida, foi realizada a contagem do número de esporos desenvolvidos. Para tanto, foram adicionados 10 mL de água destilada na placa de Petri, e realizada a raspagem da colônia com espátula. O volume proveniente da adição de água e da raspagem da colônia, foi filtrado em duas camadas de gaze. A partir da suspensão realizou-se a contagem do número de esporos com câmara de Neubauer, com auxílio de microscópio óptico. A contagem do número de esporos foi realizada sete dias após o início do experimento.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com onze tratamentos (óleo essencial de *M. arvensis*, *M. piperita* e *M. spicata* nas concentrações 0,5; 1,0 e 1,5%), tendo como testemunha positiva o fungicida e negativa a água destilada e quatro repetições por tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade, com auxílio do programa Sisvar 5.6

(FERREIRA, 2014).

Para o efeito dos óleos essenciais de espécies de *Mentha* spp. na qualidade fisiológica e sanidade de semente de *Phaseolus vulgaris* L. foram utilizadas sementes de feijoeiro cv. Tuiuiú, previamente desinfetadas com hipoclorito de sódio (NaClO) a 0,5%, durante 3 min, lavadas com água destilada estéril e dispostas sobre papel toalha para secagem a 25 °C. Após secas, as sementes foram imersas por 1 min nas concentrações de 0; 0,5; 1,0; e 1,5% de cada óleo essencial de hortelã *M. piperita*, *M. arvensis* e *M. spicata*.

Para o tratamento com fungicida Derosal Plus® utilizou-se 3 mL/kg de sementes. A concentração zero foi denominada testemunha negativa constituída por água destilada estéril. Em todos os tratamentos acrescentou-se 0,5% (v/v) de tween 20 (v/v), como agente emulsionante. Optou-se pelo tratamento em imersão das sementes pois, o tratamento a seco com os OEs de hortelãs ocasionou fitotoxicidade nas sementes, independente da concentração utilizada (Dados não publicados).

Cada tratamento consistiu de quatro repetições de 50 sementes distribuídas sobre folhas de papel germitest previamente umedecidas com água destilada estéril equivalente a 2,5 vezes o peso seco do papel e, mantidas em germinador do tipo Mangelsdorf à temperatura de 25°C e luz constante por nove dias (BRASIL, 2009). As contagens foram realizadas no quinto e nono dia contabilizando-se as plântulas normais, anormais, mortas e duras (BRASIL, 2009).

Para a determinação do índice de velocidade de emergência (IVE) realizou-se a semeadura de 50 sementes por repetição de cada tratamento com os OEs de *M. piperita*, *M. spicata* e *M. arvensis* nas concentrações de 0; 0,5 e 1,0% e o fungicida Derosal Plus® na dose de 3 mL p.c./kg de sementes, sendo acrescentado em cada tratamento 0,5% de tween 20 (v/v), como agente emulsionante.

Após tratadas, as sementes foram semeadas em bandejas de isopor de 128 células contendo como substrato areia autoclavada. As avaliações foram realizadas desde a emergência da primeira plântula aos cinco dias após a semeadura, obtida pela contagem do número de plântulas emergidas até o décimo terceiro dia, quando ocorreu a estabilização de emergência. Foram consideradas plantas emergidas as que se apresentavam a 1 cm acima do solo. Foi calculado o índice de velocidade de emergência conforme proposto por Maguire (1962) (equação 1).

$$IVG = \frac{N1}{DQ} + \frac{N2}{D2} + \dots + \frac{Nn}{Dn} \quad (\text{Eq. 1})$$

Em que: IVG= índice de velocidade de emergência; N= número de plântulas emergidas no dia da contagem; D= número de dias após a semeadura em que foi realizada a contagem.

Após a estabilização da emergência, dez plântulas de cada repetição por tratamento foram coletadas e submetidas às análises de biomassa fresca total com a utilização de balança de precisão analítica, comprimento da parte aérea e raiz primária com auxílio de paquímetro e matéria seca da parte aérea e raiz. Para a matéria seca separou-se a parte aérea da raiz e realizou-se a secagem em estufa a 65 °C por 72 horas, sendo em seguida pesadas em balança de precisão analítica (BRASIL, 2009).

A qualidade sanitária das sementes de feijoeiro cv. Tuiuiú foi avaliada conforme regras do Manual para Análises Sanitárias de Sementes (BRASIL, 2009). Utilizou-se os mesmos tratamentos descritos no teste de germinação. Foram utilizadas 200 sementes por tratamento distribuídas em oito repetições de 25 sementes, em caixa do tipo gerbox, contendo uma folha de papel mata borrão autoclavada e umedecida com água destilada. Os gerbox foram colocados para incubação em câmara de germinação tipo BOD, à temperatura de 25 °C por 24 horas, após foram transferidos para refrigerador a temperatura de 5 °C, onde permaneceram por 24 horas, e em seguida recolocado na BOD a temperatura de 25 °C por 5 dias. Concluído os 7 dias foi realizada a avaliação da incidência de fitopatógenos com o auxílio de microscópio estereoscópico e ótico.

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade, com auxílio do programa Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os óleos essenciais (OEs) de *Mentha piperita*, *M. arvensis*, *M. spicata* nas concentrações 0,5; 1,0 e 1,5% inibiram em 100% o crescimento micelial dos fungos *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., indicando o efeito fungitóxico dos OEs sobre os fungos de armazenamento (Tabela 1). Também não houve desenvolvimento micelial dos fungos sob ação direta do fungicida Derosal Plus®. Portanto, apenas a testemunha negativa apresentou crescimento das colônias com diâmetro médio de 6,2 e 3,7 cm para os fungos *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., respectivamente, aos sete dias de incubação.

Tabela 1. Crescimento micelial e esporulação de *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. com diferentes concentrações de óleos essenciais de *Mentha* spp. e o fungicida Derosal Plus®.

Tratamentos	Crescimento micelial (cm)		Esporulação (x10 ⁵ /cm ²)	
	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.
Testemunha negativa	6,2 ± 0,2 a	3,7 ± 0,2 a	10,4 ± 0,3 a	3,8 ± 0,1 a
Fungicida	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b
<i>M. arvensis</i> 0,5%	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b
<i>M. arvensis</i> 1,0%	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b
<i>M. arvensis</i> 1,5%	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b
<i>M. piperita</i> 0,5%	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b
<i>M. piperita</i> 1,0%	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b
<i>M. piperita</i> 1,5%	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b
<i>M. spicata</i> 0,5%	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b
<i>M. spicata</i> 1,0%	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b
<i>M. spicata</i> 1,5%	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Erro padrão ±.

A inibição total do crescimento micelial pelo óleo essencial das diferentes espécies de *Mentha*, independentemente da concentração utilizada, indicam o elevado efeito antifúngico do óleo essencial dessas espécies. A atividade antifúngica dos óleos essenciais das espécies do gênero *Mentha* spp., possivelmente se deve ao elevado teor de monoterpenos presentes no óleo, pelo seu efeito tóxico na estrutura e função das membranas biológicas, inibindo a respiração e alterando o processo de transporte de íons nas células eucarióticas (MOGHATER, 2013; KEDIA et al., 2014; TROMBETTA et al., 2005).

Kumar et al. (2012) ao quantificar e qualificar os constituintes do óleo de *M. piperita* L., encontraram 17 compostos, sendo o mentol (32,33%) o componente em maior quantidade. O mesmo autor, avaliando a composição do óleo de *M. piperita* L., também encontraram como componentes majoritários o mentol (26,53%) e a mentona (25,83%), e descrevem que esses dois fitocompostos são os responsáveis pela propriedade antimicrobiana do óleo essencial.

Conforme salienta Tassou et al. (1995), a atividade biológica do óleo essencial de *Mentha* spp., é dependente da concentração utilizada, composição dos constituintes presentes no óleo, pH, temperatura de armazenamento e o microrganismo utilizado.

Corroborando com os resultados obtidos de inibição total do crescimento micelial dos fungos *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., não houve produção de conídios para os OEs de hortelãs utilizados e fungicida, sendo possível quantificar apenas a produção de conídios para a testemunha negativa (Tabela 1).

Segundo Kadoglidou et al. (2011), o óleo essencial de *Mentha spicata* nas concentrações de 5, 25, 50 e 100 ppm, inibiu em 100% a produção de conídios de *A. terreus* e *P. expansum*. Os autores evidenciaram como principal constituinte do óleo essencial de *M. spicata*, a carvona (55%). Este composto, quando utilizado isoladamente na concentração de 100 ppm, suprimiu totalmente a produção de conídios dos fungos *A. terreus*, *P. expansum* e *Verticillium dahliae*, exceto para *Fusarium oxysporum*, em que, o efeito estimulatório foi observado com o aumento da concentração.

Os mecanismos de ação dos óleos essenciais sobre os microrganismos ainda não são bem elucidados (CALO et al., 2015). Sabe-se que, a composição química dos óleos essenciais pode atuar por diferentes mecanismos. Em alguns sítios de ação nas células eucarióticas (fungos), os óleos provocam alterações na permeabilidade da membrana plasmática, o que permite perda de radicais, íons de cálcio, danos a parede celular, desorganização das proteínas da membrana e extravasamento do conteúdo celular, ou ainda danos no sistema enzimático do microrganismo (BAKKALI, et al., 2008; RAUT; KARUPPAYIL, 2014).

Singh et al. (2015) abordam que as diferenças entre as atividades antimicrobianas das espécies vegetais de hortelãs podem ser atribuídas a distintos fatores, como ao ambiente geográfico, tipo de cultivar, sazonalidade, idade fisiológica da planta e o método de isolamento do óleo.

Qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro cv. Tuiuiú tratadas com óleos essenciais de *Mentha* spp.

As respostas à aplicação dos óleos essenciais (OEs) de hortelã sobre a germinação das sementes variaram entre os óleos essenciais utilizados (Tabela 2). Aos cinco dias após semeadura das sementes, observa-se que houve diferença significativa entre os OEs utilizados, sendo constatado que todos os tratamentos com os OEs de hortelã diferiram significativamente da testemunha negativa, exceção para as sementes tratadas com o fungicida, OE de *M. piperita* e *M. spicata* na concentração de 0,5% que apresentaram percentual de germinação de 18,0; 19,50 e 18,50%, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Porcentagem de germinação de sementes de feijoeiro cv. Tuiuiú na primeira (quinto) e segunda (nono) contagem tratadas com diferentes concentrações de óleos essenciais de *Mentha* spp. e o fungicida Derosal Plus®.

Tratamentos	Porcentagem de germinação (%)	
	Dias após semeadura	
	5º dia	9º dia
Testemunha negativa	19,50 ± 0,95 d	78,5 ± 0,95 f
Fungicida	18,0 ± 0,81 cd	51,0 ± 0,57 de
<i>M. arvensis</i> 0,5%	12,50 ± 0,95 bc	58,5 ± 1,25 e
<i>M. arvensis</i> 1,0%	9,0 ± 1,29 ab	44,5 ± 1,70 cd
<i>M. arvensis</i> 1,5%	4,0 ± 1,82 a	23,5 ± 2,87 a
<i>M. piperita</i> 0,5%	19,50 ± 1,5 d	60,0 ± 2,16 e
<i>M. piperita</i> 1,0%	12,50 ± 0,95bc	59,5 ± 2,21 e
<i>M. piperita</i> 1,5%	7,50 ± 0,95 ab	37,0 ± 3,16 bc
<i>M. spicata</i> 0,5%	18,50 ± 0,95cd	48,0 ± 1,63 d
<i>M. spicata</i> 1,0%	5,0 ± 0,57 a	27,5 ± 0,95 ab
<i>M. spicata</i> 1,5%	4,0 ± 2,16 a	26,0 ± 3,16 a

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Erro padrão ±.

As sementes tratadas com OE de *M. spicata* a 0,5%, *M. piperita* a 1,0% e *M. arvensis* a 0,5% não diferiram aos cinco dias após a semeadura para a variável germinação se comparado ao tratamento com o fungicida. Para as sementes de feijoeiro tratadas com os OEs de *M. arvensis* na concentração de 1,0 e 1,5%; *M. piperita* a 1,5% e *M. spicata* a 1,0 e 1,5%, observa-se redução significativa da germinação de 10,5; 15,5; 12,0; 14,5 e 15,5 pontos percentuais, respectivamente em relação a testemunha negativa (Tabela 2).

Aos nove dias após semeadura, todos os tratamentos com os OEs interferiram negativamente na porcentagem de sementes germinadas. Menor porcentagem de germinação das sementes de feijoeiro foram evidenciadas nas maiores concentrações dos OEs de *M. arvensis* e *M. spicata*, seguidas da concentração de 1,0% de *M. spicata* (Tabela 2).

A redução no número de sementes germinadas quando tratadas com o OEs das diferentes espécies de hortelãs, mesmo nas menores concentrações, indicam que as sementes de feijoeiro se mostraram sensíveis aos tratamentos, possivelmente pelo efeito fitotóxico dos OEs de *Mentha* sobre as sementes de feijoeiro. Além, disso a concentração ou mesmo o tempo de exposição das sementes ao óleo essencial pode ter sido

fitotóxica às sementes, interferindo nos mecanismos fisiológicos, e assim, interferindo negativamente na germinação.

De acordo com Mesquita et al. (2017) os óleos essenciais tendem a possuir composição complexa e concentrada, o que contribui para justificar seu efeito mesmo em baixas concentrações e efeitos tóxicos em altas concentrações.

Quanto ao comprimento de raízes das plantas, os tratamentos não apresentaram diferença estatística quando comparados a testemunha negativa (Tabela 3). Em contrapartida à parte aérea das plantas foram afetadas negativamente com a aplicação dos óleos essenciais em questão para a maior concentração, bem como o fungicida (Tabela 3).

Tabela 3. Comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz primária (CRP), Biomassa fresca total (BFT), biomassa seca da parte aérea (BSPA) e biomassa seca de raiz (BSR) em plantas de feijoeiro cv. Tuiuiú tratadas com diferentes óleos essenciais de *Mentha* spp.

Tratamentos	CPA (cm)	CRP (cm)
Testemunha negativa	20,71 ± 0,49 b*	8,81 ± 0,17 a*
Fungicida	14,28 ± 2,31 a	9,34 ± 1,94 a
<i>M. arvensis</i> 0,5%	15,28 ± 1,80 ab	7,65 ± 0,29 a
<i>M. arvensis</i> 1,0%	11,29 ± 0,32 a	7,62 ± 0,48 a
<i>M. piperita</i> 0,5%	16,39 ± 0,98 ab	7,09 ± 0,61 a
<i>M. piperita</i> 1,0%	12,82 ± 0,70 a	7,29 ± 0,54 a
<i>M. spicata</i> 0,5%	15,85 ± 0,42 ab	6,31 ± 0,20 a
<i>M. spicata</i> 1,0%	13,72 ± 0,48 a	6,71 ± 0,42 a

Tratamentos	BFT (g)	BSPA (g)	BSR (g)
Testemunha negativa	11,47 ± 0,31 ab*	0,95 ± 0,02 abc*	0,21 ± 0,03 a*
Fungicida	11,64 ± 0,14 ab	0,96 ± 0,02 abc	0,39 ± 0,04 b
<i>M. arvensis</i> 0,5%	11,56 ± 0,68 ab	1,02 ± 0,05 c	0,32 ± 0,02 ab
<i>M. arvensis</i> 1,0%	10,32 ± 0,02 a	0,87 ± 0,03 a	0,30 ± 0,02 ab
<i>M. piperita</i> 0,5%	11,68 ± 0,34 ab	0,93 ± 0,01 abc	0,29 ± 0,008 ab
<i>M. piperita</i> 1,0%	12,52 ± 0,53 b	1,01 ± 0,02 bc	0,38 ± 0,01 b
<i>M. spicata</i> 0,5%	10,15 ± 0,23 a	0,880 ± 0,02 ab	0,26 ± 0,01 a
<i>M. spicata</i> 1,0%	10,97 ± 0,38 ab	0,885 ± 0,03 abc	0,39 ± 0,01 b

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Erro padrão ±.

Quanto a biomassa fresca total e seca da parte aérea, observa-se que não houve diferenças significativas entre os tratamentos comparado a testemunha negativa. Evidenciou-se o incremento da biomassa seca das raízes das sementes de feijoeiro tratadas com os OEs de *M. piperita* e *M. spicata* na concentração de 1,0% e o tratamento fungicida de 0,17; 0,18 e 0,18 gramas, respectivamente se comparada a testemunha negativa (Tabela 3). Para os tratamentos com os OEs de *M. arvensis* a 0,5 e 1,0%; *M. piperita* e *M. spicata* a 0,5% não foi evidenciado diferenças significativas comparada a testemunha negativa para a variável biomassa seca de raiz (Tabela 3).

Leite et al. (2018) estudaram a ação de diferentes óleos essenciais sobre as sementes de feijão armazenadas e ao zero dias de armazenamento observaram que o óleo essencial de hortelã (*M. piperita*) não reduziu o peso seco das plântulas de feijão. Por outro lado, aos sessenta dias de armazenamento, as sementes tratadas com o óleo de hortelã apresentaram redução no acúmulo de matéria seca em plântulas de feijão.

Para o Índice de Velocidade de Emergência (IVE) os tratamentos de sementes de feijão com o fungicida e OEs de hortelãs nas concentrações de 0,5 e 1,0% diferiram significativamente da testemunha negativa. Evidencia-se que o tratamento das sementes com os óleos essenciais reduziu o vigor das sementes de feijão (Tabela 4). Isso demonstra, mais uma vez, o efeito fitotóxico dos óleos essenciais de hortelãs às sementes de feijão, sobretudo à medida que aumentou a concentração.

Embora não houve diferenças significativas entre os óleos essenciais de hortelãs, observa-se as menores médias no índice de velocidade de emergência nos tratamentos com os OEs de *M. arvensis*, *M. piperita* e *M. spicata* na concentração de 1,0% de 1,27; 1,17 e 1,65, respectivamente (Tabela 3). Possivelmente as menores médias para o índice de velocidade de germinação se deve à presença do composto pulegol no óleo de hortelã, constituinte de comprovada toxicidade (MUCCIARELLI et al., 2001).

Tabela 4. Índice de velocidade de emergência (IVE) em sementes de feijoeiro tratadas com óleos essenciais de *Mentha* spp.

Tratamentos	IVE
Testemunha negativa	7,40 ± 0,58 c
Fungicida	5,04 ± 0,62 b
<i>M. arvensis</i> 0,5%	2,17 ± 0,21 a
<i>M. arvensis</i> 1,0%	1,27 ± 0,10 a
<i>M. piperita</i> 0,5%	2,35 ± 0,13 a
<i>M. piperita</i> 1,0%	1,17 ± 0,11 a
<i>M. spicata</i> 0,5%	2,12 ± 0,16 a
<i>M. spicata</i> 1,0%	1,65 ± 0,11 a

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Erro padrão ±.

Em estudo, sobre o efeito dos óleos essenciais de *Copaifera langsdorffii* Desf. (copaíba), *Caryophyllus aromaticus* L. (cravo-da-índia) e *Ocimum basilicum* L. (manjeriço) na qualidade fisiológica em sementes de feijão-

fava (*Phaseolus lunatus* L.), Gomes et al. (2016), também verificaram redução significativa no percentual de emergência de plântulas a partir de sementes de feijão-fava tratadas com o óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. (manjeriço) a 2 mL.L⁻¹, bem como redução na qualidade fisiológica das sementes de feijão-fava tratadas com óleo essencial de *Caryophyllus aromaticus* L (cravo-da-índia) na mesma concentração.

Sanidade das Sementes de Feijoeiro cv. Tuiuiú

Quanto à sanidade das sementes de feijoeiro cv. Tuiuiú constatou-se a presença dos fungos *Aspergillus* spp., *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp. *Colletotrichum* spp., *Fusarium* spp. *Penicillium* spp. e *Rhizopus* spp. (Tabela 5). Os tratamentos das sementes com os OEs de hortelãs e o fungicida promoveram menor incidência dos fungos *Aspergillus* spp., *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp. *Colletotrichum* spp. *Fusarium* spp. e *Penicillium* spp., quando comparada à testemunha negativa. Para o fungo *Rhizopus* spp., não houve diferença significativa entre os tratamentos, este fato pode ser devido à menor presença do fungo nas sementes, já que a testemunha negativa apresentou 0,50% de incidência do patógeno.

A incidência do fungo *Cladosporium* spp. foi reduzida a zero para todos os tratamentos com óleos essenciais de hortelã e fungicida, diferindo estatisticamente da testemunha negativa

que apresentou incidência de 21,50% (Tabela 5). Também foi observada diminuição na incidência de *Colletotrichum* spp. com valores próximos a zero para os tratamentos com os óleos essenciais de hortelã e fungicida, estes diferindo estatisticamente da testemunha negativa com 5% de incidência.

Maior incidência foi observada para o fungo *Fusarium* spp., com 60,5% de sementes infectadas da testemunha negativa. Os OEs de *M. arvensis*, *M. piperita* e *M. spicata* nas maiores concentrações de 1,0 e 1,5% reduziram a incidência de *Fusarium* spp. em 54,5; 58,5; 48,0; 51,5; 56,0 e 60,50 pontos percentuais, respectivamente em relação à testemunha negativa. Também houve diminuição na incidência de *Fusarium* spp. de 60,50 pontos percentuais para o fungicida. Diante disso, é possível inferir que os OEs de hortelãs se mostraram eficientes para o controle de *Fusarium* spp., com destaque para o OE de *M. spicata* a 1,5% que não apresentou sinais do patógeno, comportamento este evidenciado para o tratamento com o fungicida.

Mesmo em baixas concentrações, os óleos essenciais de hortelã foram eficientes em inibir a valores iguais a zero a incidência de *Penicillium* spp., exceção no tratamento com o OE de *M. spicata* a 0,5%, o qual não diferiu da testemunha negativa, embora não tenha diferido dos demais tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5. Porcentagem de incidência de fungos em sementes de feijoeiro cv. Tuiuiú tratadas com óleos essenciais de *Mentha* spp.

Tratamentos	Incidência de fungos (%)						
	<i>Aspergillus</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Colletotrichum</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Rhizopus</i>
Testemunha	13,0 b	11,50 b	21,50 b	5,00 b	60,50 e	4,50 b	0,50 a
Fungicida	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
<i>M. arvensis</i> 0,5%	1,00 a	0,00 a	0,00 a	0,50 a	9,00 abc	0,00 a	0,00 a
<i>M. arvensis</i> 1,0%	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	6,00 abc	0,00 a	0,00 a
<i>M. arvensis</i> 1,5%	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	2,00 ab	0,00 a	0,00 a
<i>M. piperita</i> 0,5%	1,00 a	1,50 a	0,00 a	0,00 a	21,50 cd	0,00 a	0,00 a
<i>M. piperita</i> 1,0%	0,50 a	0,00 a	0,50 a	0,00 a	12,50 bcd	0,00 a	0,50 a
<i>M. piperita</i> 1,5%	1,50 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	9,00 abc	0,00 a	0,00 a
<i>M. spicata</i> 0,5%	1,50 a	0,00 a	0,00 a	0,50 a	30,50 d	1,50 ab	0,50 a
<i>M. spicata</i> 1,0%	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	4,50 ab	0,00 a	0,00 a
<i>M. spicata</i> 1,5%	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para análise os dados foram transformados em raiz quadrada de $Y + 1.0 - \sqrt{Y + 1.0}$.

A inibição na incidência de fungos em sementes de feijoeiro possivelmente se deve ao constituinte mentol, composto monoterpênico em maior quantidade no óleo essencial de hortelã e comprovada atividade antimicrobiana (SINGH et al., 2015). O mesmo autor ainda salienta que, os óleos essenciais podem apresentar variações na quantidade e nos tipos de compostos encontrados, mesmo dentro da mesma espécie. Isso se deve às mais variadas condições, tais como a diversidade genética, o habitat, a sazonalidade, o fotoperíodo, o armazenamento, a localização geográfica, o uso de agroquímicos e o procedimento de extração.

CONCLUSÕES

Os Óleos essenciais de hortelãs apresentam atividade antifúngica em *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp., bem como promovem menor incidência de fungos nas sementes de *Phaseolus vulgaris*.

Os Óleos essenciais das espécies do gênero *Mentha* nas concentrações estudadas interferem negativamente na germinação e vigor das sementes de feijão, mas não afetam os atributos biomassa fresca total, biomassa seca da parte aérea, bem como o comprimento da raiz primária.

REFERÊNCIAS

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, v.46. p.446 – 475, 2008.

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

- CALO, J. R. Essential oils as antimicrobial in foods systems-a review. *Food Control*, v.54, n. 1, p.111-119, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.12.040>
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (Conab). Acompanhamento da safra brasileira: grãos: safra 2016/17: 6º levantamento: março/2017. Brasília, DF: Conab, 2017.
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: Área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Campinas, v.12, (Edição Especial), p. 175-204, 2000.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciência e Agrotecnologia*, v.38, n.2, 2014.
- GHINI, R.; KIMATI, H. Resistência de fungos a fungicidas. 1ª edição. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78p.
- GOMES, R. S. S.; NUNES, M.C.; NASCIMENTO, L. C.; SOUZA, J. O.; PORCINO, M. M. Eficiência de óleos essenciais na qualidade sanitária e fisiológica em sementes de feijão-fava. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.18, n.1, p.279-287, 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/15117>.
- KADOGLIDOU, K., LAGOPODI, A., KARAMANOLI, K., VOKOU, D.; BARDAS, G. A., MENEXES, G., CONSTANTINIDOU, H. Inhibitory and stimulatory effects of Essential oils and individual monoterpenoids on growth and sporulation of four soil-borne fungal isolates of *Aspergillus terreus*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium expansum*, and *Verticillium dahliae*. *European Journal of Plant Pathology*, v.130, n.3, p.297-309, 2011. <http://dx.doi.org/10.1007/s10658-011-9754-x>.
- KEDIA, A.; PRAKASH, B.; MISHRA, P. K.; CHANOTIYA, C. S.; DUBEY, N. K. Antifungal, antiaflatoxigenic, and insecticidal efficacy of spearmint (*Mentha spicata* L.) essential oil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v.89, n.1, p.29-36, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.10.027>.
- KUMAR, P.; MISHRA, S.; MALIK, A.; SATYA, S. Efficacy of *Mentha x piperita* and *Mentha citrate* essential oils against housefly *Musca domestica* L. *Industrial Crops and products*, v.39, n.1, p.106-112, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.02.021>.
- LEITE, K.; BONOEM, L. T. da S.; MOURA, G. S.; FRANZENER, G. Essential oils in the treatment of *Phaseolus vulgaris* L. seeds during storage. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*. v.13, n.2, p.186-199, 2018. <http://dx.doi.org/10.18378/rvads.v13i2.566>.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, Madison, v. 2, n. 2, p.176-77, 1962.
- MAAHDAVIKIA, F.; SAHARKHIZ, M. J. Phytotoxic activity of essential oil and water extract of peppermint (*Mentha x piperita* L. CV. Mitcham). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. v.2, p.146-153, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jarmap.2015.09.003>.
- MESQUITA, P.R.R.; NUNES, E.C.; S; BASTOS, L. P.; COSTA, M.A.P.C.; RODRIGUES, F. de.; ANDRADE, J. B. de. Discrimination of *Eugenia uniflora* L. biotypes based on volatile compounds in leaves using HS-SPME/GC-MS and chemometric analysis. *Microchemical Journal*, v.130, n.1, p.79-87, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2016.08.005>.
- MOGHTADER, M. In vitro antifungal effects of the essential oil of *Mentha piperita* L. and its comparison with synthetic menthol on *Aspergillus niger*. *African Journal of Plant Science*. v.7, n.11, p.521-527, 2013. <https://doi.org/10.5897/AJPS2013.1027>.
- MUCCIARELLI, M.; CAMUSSO, W.; BERTEA, C. M.; MAFFEI, M. Effect of (+)-pulegone and other oil components of *Mentha x piperita* on cucumber respiration. *Phytochemistry*, v.57, n.1, p.91-8, 2001. [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00393-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00393-9).
- RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, v.62, p.250-264, 2014.
- RAMÍREZ-JIMÉNEZ, A. K., REYNOSO-CAMACHO, R., TEJERO, M. E., LEÓN-GALVÁN, F., & LOARCA-PIÑA, G. Potential role of bioactive compounds of *Phaseolus vulgaris* L. on lipid-lowering mechanisms. *Food Research International*, v. 76, n.1, p.92-104, 2015.
- SILVA, J. F. da; MELO, B. A. de; PESSOA, E. B.; FIGUEIREDO NETO, A.; LEITE, D. T. Extratos vegetais para o controle do caruncho-do-feijão *Zabrotes subfaciatus* (Boheman 1833) (Coleoptera:Bruchidae). *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v.8, n.3, p.01-05, 2013.
- SIVAKUMAR, D., BAUTISTA-BAÑOS, S. A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. *Crop Protection*, v.64, n.1, p.27-37, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.05.012>.
- SINGH, R.; SHUSHNI, M. A. M.; BELKHEIR, A. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arabian Journal of Chemistry*, v.8, n.3, p.322-328, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.01.019>.
- TALAMINI, V., POZZA, E. A., MACHADO, J. C.; OLIVEIRA, F. A. Epidemiologia de doenças associadas a *Colletotrichum* spp. transmitidas por sementes. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*. v.10, p.219-248. 2001.
- TANAKA, M. A. S.; MENTEN, J. O. M. Relação entre a resistência do algodoeiro à ramulose e a transmissão

de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* pelas sementes. Summa Phytopathologica. v.18, p.227-234. 1992.

TASSOU, C. C.; DROSINOS, H. E.; NYCHAS, J. G. Effects of essential oil from mint (*Mentha piperita*) on *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* in model food system at 4 degrees and 10 degrees. Journal Appl. Microbiol. v.78, n.6, p.593-600, 1995. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.1995.tb03104.x>.

TIWARI, P. Recent advances and challenges in trichome research and essential oil biosynthesis in *Mentha arvensis* L. Industrial Crops and Products. v.82, n.1, p.141-148, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.069>.

TROMBETTA, D., CASTELLI, F.; SARPIETRO, M. G.; VENUTI, V.; CRISTANI, M.; DANIELE, C.; SAIJA, A.; MAZZANTI, G.; BISIGNANO, G. Mechanisms of Antibacterial Action of Three Monoterpenes. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v.49, n.6, p.2474-2478, 2005.

VANZOLINI, S.; TORRES, R. de M.; PANIZZI, R. de C. Efeito do tamanho, da densidade e do tratamento fungicida sobre a qualidade das sementes de amendoim. Revista Ceres, v.47, n.274, p.603-612, 2000.