

## EMULSÃO E MICROCÁPSULAS DE ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO NO CONTROLE DA SEPTORIOSE DO TOMATEIRO

FELIPE FERREIRA LEONARDO<sup>1,2\*</sup>, MARIA ELIZA RIBEIRO<sup>3</sup>, GILMAR FRANZENER<sup>2,4</sup>

### 1 Introdução

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das hortaliças de maior importância no Brasil e no mundo, sendo uma importante opção de renda para a agricultura familiar. As diversas possibilidades de consumo do fruto, tanto na forma *in natura*, como na forma industrializada, propiciam ao tomate grande destaque. No entanto, uma das limitações do cultivo é a ocorrência de doenças (Selvanarayanan, 2015), e dentre essas, a septoriose, causada pelo fungo *Septoria lycopersici*, é uma das mais comuns e tem aumentado de importância (Inoue-Nagata et al., 2016).

Na busca por métodos ou produtos mais sustentáveis para o controle de doenças em plantas, os óleos essenciais, que são compostos voláteis de plantas, representam importante alternativa (Bakkali et al., 2008). Óleos essenciais de diversas espécies vegetais têm sido estudados buscando avaliar seu potencial na proteção de plantas a doenças, mas ainda são limitadas as informações para utilização prática.

Considerando que alguns compostos orgânicos podem sofrer degradação após a extração ou perdas pela volatilidade, o uso de emulsões e o encapsulamento podem representar medidas para viabilizar a utilização desses compostos (Fernandes et al., 2014). É conhecido que o óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) tem efeito antifúngico (Pina-Vaz et al., 2004), mas pouco se sabe sobre seu efeito no controle da septoriose e formas mais eficientes de uso.

### 2 Objetivos

Avaliar o potencial da emulsão e microcápsulas de óleo essencial de tomilho no controle da septoriose do tomateiro.

<sup>1</sup>Graduando do curso de Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul-UFFS, *campus* Laranjeiras do Sul, felipeferreirald12@gmail.com

<sup>2</sup>Grupo de Pesquisa: PIF- Pesquisa Integrada em Fitossanidade

<sup>3</sup>Graduanda em Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Laranjeiras do Sul.

<sup>4</sup>Doutor em Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Laranjeiras do Sul, **Orientador**.

## 1 Metodologia

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia e em casa de vegetação da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *campus* Laranjeiras do Sul – PR. O óleo essencial foi obtido comercialmente da empresa Quinari, com extração por arraste a vapor e origem da Espanha (QT–Timol). O fungo *Septoria lycopersici* foi isolado de folhas sintomáticas de tomateiro. Para obtenção da suspensão de esporos, folhas sintomáticas foram mantidas em câmara úmida por 24 horas para estimular a esporulação, e em seguida as lesões foram recortadas em fragmentos e agitadas em água destilada por dois minutos com o auxílio do vortex. O material foi filtrado em gaze e a suspensão ajustada com auxílio de câmara de Neubauer.

O óleo essencial foi avaliado através de duas formas de preparo: emulsão e microcápsulas. A emulsão foi preparada usando o tensoativo de natureza hidrofílica. Para isso, foram utilizados 20 mL de água destilada com 0,2 mL de Tween 20 e 1 mL de óleo essencial. Em seguida foi agitado em agitador tipo vortex, por 10 min. A concentração do tratamento para aplicação foi diluída em água destilada até obter a concentração de 0,5%. As microcápsulas foram preparadas conforme metodologia de Fernandes et al. (2014). Para tanto, em 20 mL de água destilada, foi preparada emulsão de alginato de sódio 0,2 g e 1 mL de óleo essencial de tomilho. O material foi homogeneizado, e em seguida a emulsão foi reticulada em solução iônica de cloreto e cálcio (CaCl<sub>2</sub>) 1%, contendo 1% de Tween 20, sob agitação mecânica lenta. Após repouso a 4 °C para reticulação, foi realizada filtragem e lavagem em água destilada. Para emprego nos experimentos foi diluído em água destilada para obter concentração de 0,5%.

No experimento de crescimento micelial foram avaliadas as concentrações de 0, 0,1, 0,5 e 1% de óleo essencial. Os tratamentos foram aplicados de forma direta e indireta. Na forma direta 100 uL do tratamento foi aplicado sobre meio de cultura BDA em placas de Petri. Já na forma indireta o mesmo volume foi aplicado na tampa da placa de Petri, que foi mantida invertida. Cada placa recebeu um disco de micélio e o diâmetro médio foi determinado após dez dias.

Em outro experimento foi avaliada a germinação de esporos e tamanho de tubos germinativos. Esse bioensaio foi realizado em lâminas de microscopia cobertas com camada de ágar-água 1,5%, as quais receberam 30 uL de esporos do fungo e foram mantidas em placas de Petri, no escuro e sobre papel absorvente umedecido, com avaliação após 20h. Constituíram tratamentos água destilada, emulsão sem óleo essencial, emulsão com óleo

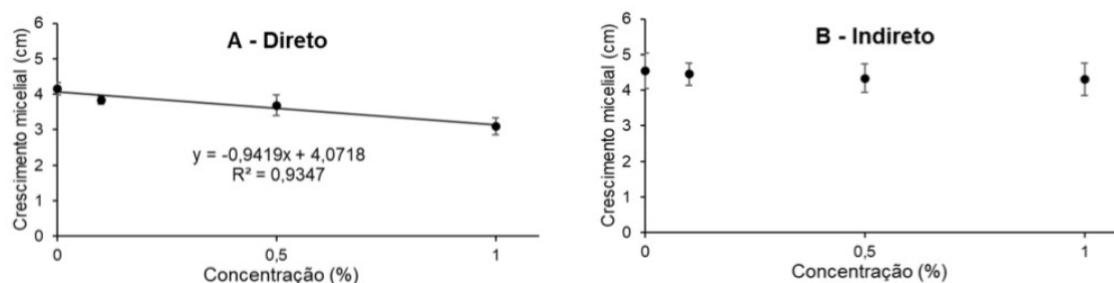
essencial 0,5%, microcápsulas sem óleo essencial e microcápsulas com óleo essencial 0,5%.

Em casa de vegetação foi realizado experimento com plantas de tomateiro, que aos 45 dias foram inoculadas, por aspersão em toda parte aérea da planta, com suspensão de esporos ( $1 \times 10^4$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ ), seguida de 20 horas de câmara úmida. Os tratamentos foram os mesmos do ensaio de germinação de esporos. Nesse experimento foi avaliado o efeito preventivo dos tratamentos, com aplicação 48 horas antes da inoculação, e o efeito curativo, com aplicação 48 horas após a inoculação. A avaliação da severidade da doença foi realizada aos seis e 12 dias após a inoculação com o patógeno, com auxílio de escala diagramática.

Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância e análise de regressão ou teste de médias de Tukey a 5% de probabilidade, com programa Sisvar (FERREIRA, 2007).

## 2 Resultados e Discussão

O óleo essencial de tomilho causou redução significativa no crescimento micelial de *S. lycopersici* quando aplicado diretamente no meio de cultura (Figura 1A). O coeficiente angular da linha de tendência foi -0,9419, indicando que na medida que a concentração aumenta, o crescimento micelial diminui. Nos tratamentos em que o óleo essencial foi aplicado na tampa das placas, sem contato direto com o fungo, não foi observado efeito significativo, sugerindo que a aplicação indireta do tratamento não afeta significativamente o crescimento micelial dentro da faixa de concentrações testada (Figura 1B).



**Figura 1.** Crescimento micelial de *Septoria lycopersici* sob diferentes concentrações de óleo essencial de *Thymus vulgaris* em contato direto (A) ou indireto (B).

A emulsão e as microcápsulas contendo óleo essencial promoveram inibição total da germinação de esporos e do tamanho dos tubos germinativos quando em contato direto com

os esporos (Tabela 1). Assim a aplicação direta foi mais eficaz do que a indireta tanto na redução da germinação como na redução de tamanho dos tubos germinativos. Emulsão e microcápsulas sem OE não promoveram inibição, indicando que o efeito deve-se a presença do óleo essencial.

**Tabela 1.** Germinação de esporos e tamanho de tubos germinativos de *Septoria lycopersici* sob emulsão e microcápsulas de óleo essencial de *Thymus vulgaris*

Tratamentos	Germinação (%)			Tubos germinativos (um)		
	Aplicação			Aplicação		
	Direto	Indireta	Média	Direta	Indireta	Média
Testemunha	43,0 bA	41,5 aA	42,3 bc	77,0 bA	85,0 aA	81,0 c
Emulsão	48,0 bA	59,0 abA	53,5 c	60,7 bA	80,0 aA	70,4 bc
Emulsão+OE	0,0 aA	49,0 abB	24,5 a	0,0 aA	72,5 aB	36,3 a
Microcapsulas	31,7 bA	55,5 abB	43,6 c	73,5 bA	102,5aA	88,0 c
Microcapsulas+OE	0,0 aA	60,5 bB	30,2 ab	0,0 aA	91,0 aB	45,5 ab
Média	24,6 A	53,1 B		42,3 A	86,2 B	
CV(%)	22,1			28,5		

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os tratamentos com emulsão+OE (óleo essencial 0,5%) e microcápsulas+OE promoveram redução significativa na severidade da septoriose aos 12 dias após a inoculação, na aplicação curativa (Tabela 2).

**Tabela 2.** Severidade da septoriose em plantas de tomateiro tratadas com emulsão e microcápsulas de óleo essencial (OE) de *Thymus vulgaris*

Tratamentos	6 dias após inoculação			12 dias após inoculação		
	Aplicação			Aplicação		
	Preventiva	Curativa	Média	Preventiva	Curativa	Média
Testemunha	17,8	23,2	20,5	13,6 aA	14,6 bA	14,1 b
Emulsão	20,6	23,0	22,2	13,2 aA	13,8 bA	13,5 b
Emulsão+OE	20,6	22,2	21,4	12,2 aB	5,8 aA	9,0 a
Microcapsulas	25,4	22,0	23,7	12,6 aA	14,8 bA	13,7 b
Microcapsulas+OE	24,4	22,2	23,3	12,2 aB	8,0 aA	10,3 a
Média	21,9	22,5		12,8 B	11,4 A	
CV(%)	18,4			15,8		

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os tratamentos com emulsão e microcápsulas sem OE não apresentaram redução significativa na severidade da septoriose, indicando que o diferencial foi o óleo essencial

presente na composição, e não os outros componentes dos preparados. Também não foi observada redução na avaliação realizada aos seis dias após a inoculação com o patógeno. O efeito curativo pode ter contribuído para os resultados mais expressivos na segunda avaliação, não reduzindo significativamente infecções iniciais, mas controlando a evolução da doença.

Diferentes atividades biológicas tem sido relatadas em óleos essenciais (Bakkali et al., 2008). Os resultados dessa pesquisa demonstram o efeito antifúngico do óleo essencial de tomilho sobre *S. lycopersici*, e possivelmente esteja associado a compostos já relatados em tomilho, como terpinen-4-ol e timol (Pina-Vaz et al., 2004).

### 3 Conclusão

A emulsão do óleo essencial de tomilho promoveu redução no crescimento micelial de *S. lycopersici*, com efeito dose-dependente. Tanto a emulsão quanto as microcápsulas com alginato de sódio promoveram inibição total da germinação de esporos e desenvolvimento de tubos germinativos de *S. lycopersici*. Tanto a emulsão quanto as microcápsulas com alginato de sódio promoveram redução na severidade da septoriose em plantas de tomateiro quando aplicadas de forma curativa.

### Referência Bibliográficas

- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–475, 2008.
- FERNANDES, I.J. et al. Produção e avaliação de microcápsulas de alginato contendo óleo essencial de casca de laranja. **Eclética Química**, v.39, p.164-174, 2014.
- FERREIRA, DF Sisvar: **um sistema computacional de análise estatística**. Versão 5.3. Lavras:UFLA, 2007.
- INOUE-NAGATA, A.K. et al. Doenças do tomateiro. In: AMORIM, L. et al. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 4. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, v. 2, p. 697– 731, 2016.
- KANG, J. H., et al. Surfactant type affects the washing effect of cinnamon leaf essential oil emulsion on kale leaves. **Food Chemistry**, v. 271, p. 122–128, 2019.
- PINA-VAZ, C. et al. Antifungal activity of *Thymus* oils and their major compounds. **European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 18, n. 1, p. 73-78, 2004.
- SELVANARAYANAN, S. Comprehensive overview of foliar fungal diseases of tomato crop and their management practices. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v. 8, n. 3, p. 314-321, 2015.
- Palavras-chave:** *Thymus vulgaris*, *Septoria lycopersici*, bioproduto.
- Nº de Registro no sistema Prisma:** PES-2023-0549
- Financiamento:** Fundação Araucária