

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

TESTE DE VIGOR PARA AVALIAÇÃO DE SEMENTES DE TOMATE REVESTIDAS COM EMULSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Thymus vulgaris* L.

Luan Rezende Peccini¹, Walter Cesar Celeri Bigui¹, Julia Lima Baute², Kamila Ferreira Chaves¹, Raquel Maria de Oliveira Pires², Adilson Vidal Costa¹, Vagner Tebaldi de Queiroz¹.

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde/Departamento Química e Física, Alto Universitário, S/N, Guararema – 29500-000 – Alegre – ES, Brasil. luan.peccini@gmail.com, walter.bigui@edu.ufes.br, kamila.chaves@ufes.br, avcosta@hotmail.com, vagner.queiroz@ufes.br.

²Universidade Federal de Lavras, Escola de Ciências Agrárias de Lavras/Departamento de Agricultura, Alto Universitário, 37200-900 – Lavras -MG, Brasil. juliabaute@hotmail.com, raquelmopires@ufla.br.

Resumo

A cultura do tomate é afetada pela Murcha de Fusarium. Tratar sementes com produtos naturais é uma opção para reduzir danos causados por ataques de fungos. O óleo essencial de tomilho desempenha diversas atividades, incluindo a ação de fungicida. No entanto, a sua baixa solubilidade e alta volatilização limitam sua aplicação no campo. As emulsões se destacam como forma de contornar essas limitações formando gotículas dispersas em água. O estudo visou avaliar o efeito da emulsão do OE de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) por meio dos testes de condutividade elétrica e pH no tratamento de sementes de tomate. As sementes foram imersas em emulsão do OE de tomilho em diferentes concentrações e foi realizada a medição da condutividade elétrica (CE) e potencial hidrogeniônico (pH) ao longo do tempo (0, 4, 8, 12 e 24h). Os resultados evidenciaram um aumento na CE, enquanto o valor de pH diminuiu em todos os tratamentos. Entretanto, os tratamentos com OE de tomilho não apresentaram diferença significativa em relação ao controle positivo. Concluiu-se que o teste de CE e pH podem ser usados para a análise de vigor das sementes de tomate.

Palavras-chave: Condutividade. pH. Controle alternativo. Tomilho

Área do Conhecimento: Ciências Exatas e da Terra (Química).

Introdução

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é a segunda cultura agrícola mais importante do mundo, sendo comercializada *in natura* ou na forma de produtos industrializados. Cerca de 180 milhões de toneladas dessa hortaliça são produzidas globalmente, gerando um papel econômico e social importante, sendo fonte de renda de pequenos e médios agricultores (FAOSTAT, 2022; MENG *et al.*, 2022). Entretanto, essa produção enfrenta desafios, como a Murcha de Fusarium causada pelo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, classificado como o quinto fungo fitopatogênico mais significativo, responsável por cerca de 14% das perdas econômicas na produção de tomate. Em algumas situações, a murcha de Fusarium pode devastar lavouras inteiras. (HERNÁNDEZ-APARICIO *et al.*, 2021).

Os meios de controle eficazes são baseados principalmente no uso de cultivares resistentes, mas a coevolução de genes resistentes e diferentes formas do patógeno torna essa interação complexa. No contexto do manejo integrado de pragas e doenças na cultura do tomate, é necessária a adoção de alternativas além do controle genético para superar tais limitações. Práticas agrícolas incluem o tratamento de sementes para protegê-las de infecções fúngicas após a semeadura ou reduzir a transmissão de fungos de sementes infectadas (HERNÁNDEZ-APARICIO *et al.*, 2021; INAMI *et al.*, 2014).

Os óleos essenciais (OEs) de plantas têm sido avaliados como alternativa aos fungicidas comerciais no tratamento de sementes, devido ao seu amplo espectro de ação biológica, além de não danos ao meio ambiente (GONÇALVES *et al.*, 2021). O tomilho (*Thymus vulgaris* L.) é uma planta nativa da região Mediterrânea muito utilizada como erva culinária e medicinal. Além de apresentar atividade

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

antisséptica, expectorante, carminativo, antiespasmódico, antibacteriana e antifúngica (GONÇALVES; BOTTARO; NILSON, 2011). Os OEs da espécie *Thymus* apresentam diversos compostos bioativos, tais como, α -pineno, *p*-cimeno, linalol, timol, carvacrol (CUTILLAS *et al.*, 2018). Contudo, a utilização dos OEs na forma livre é limitada devido à baixa solubilidade aquosa, alto poder de degradação e por serem líquidos voláteis (ALDEREES *et al.*, 2022). Para solucionar essa problemática, tecnologias como o desenvolvimento de emulsões vêm sendo estudadas, formando gotículas de óleo que se dispersam em um sistema aquoso, mantendo sua atividade biológica (MORADI; BARATI, 2019; WAN *et al.*, 2019).

Em virtude da relevância econômica desta cultura a utilização de sementes com alta qualidade se faz ainda mais necessária, com isso, as empresas estão adotando padrões de qualidade mais rigorosos do que os pré estabelecidos pelo sistema de certificação de sementes. Avaliações rápidas acerca do potencial fisiológico das sementes desempenham papel fundamental em todas as etapas do processo de produção, armazenamento e comercialização. A avaliação da germinação e do vigor das sementes é um destaque no controle de qualidade (FESSEL *et al.*, 2010).

O teste de condutividade elétrica é fundamentado na integridade das membranas celulares, importantes para identificar o processo inicial de deterioração das membranas celulares das sementes (DELOUCHE; BASKIN, 1973). Esse teste permite a adoção de medidas adequadas para reduzir ou mitigar os efeitos da deterioração na qualidade de um lote de sementes (DIAS; MARCOS FILHO, 1996). A CE mede a intensidade da corrente elétrica entre dois pontos na solução de imersão, determinada pela quantidade de lixiviados na solução e indicando assim o nível de organização do sistema de membranas celulares (DIAS *et al.*, 2019). Alguns constituintes presentes no óleo essencial possuem características ácidas, como os fenóis (GÜNDEL *et al.*, 2018). Alterações no pH podem estar relacionadas à desprotonação destes constituintes, liberando íons H^+ promovendo a diminuição do pH, inferindo a respeito da estabilidade das emulsões (GUZEY; MCCLEMENTS, 2006; ZHANG *et al.*, 2023).

Para uma análise mais completa da qualidade de sementes, faz-se necessário complementar as informações fornecidas através do teste de germinação e outros testes adicionais de análise de vigor. Isso possibilita a seleção dos melhores lotes para comercialização e semeadura (ARAÚJO *et al.*, 2011). Neste estudo, o objetivo foi avaliar o efeito da emulsão do OE de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) por meio dos testes de condutividade elétrica e pH no tratamento de sementes de tomate.

Metodologia

Materiais

O óleo essencial (OE) de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) (lote BJ62640) foi adquirido da empresa Quinari®. O Tween 80® (lote 29126) foi adquirido da Dinâmica Química Contemporânea Ltda®. As sementes de tomate, variedade Santa Cruz KADA, livre de defensivos, marca ISLA (lote 119562-006) e o fungicida comercial Tecto® (lote 0001-22-00732) foram adquiridos no comércio local.

Tratamento das sementes

Inicialmente as sementes de tomate foram desinfetadas, imersas em etanol 70% (v/v) por 2 min, exposto a hipoclorito de sódio 2% (v/v) por 2 min, foi feita a tríplice lavagem em água destilada estéril e colocadas para secar em papel filtro estéril à temperatura de 25 ± 1 °C (AMINI *et al.*, 2018). As sementes foram imersas em emulsão do OE de tomilho a 0 (Tween 80 + água); 2500; 5000; 7500 e 10000 ppm. Os controles utilizados foram: controle negativo (CN) sementes tratadas com água deionizada autoclavada e controle positivo (CP) sementes tratadas com fungicida comercial Tecto® na concentração de 4625 ppm.

Condutividade elétrica e pH

Para cada tratamento foram utilizadas 200 sementes divididas em 4 repetições, as sementes foram pesadas em balança analítica e transferidas para béqueres contendo água destilada à 25 °C. As leituras de pH (Medidor de pH mPA210, MS TECNOPON Instrumentação) e condutividade elétrica (Condutímetro DM-32, Digitmed) foram realizadas em diferentes intervalos de tempo (0, 4, 8, 12 e 24h) (KRISHNAMOORTHY; RAJIV, 2018).

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Análise estatística

Os dados foram testados quanto à distribuição normal dos erros pelo teste de Liliefors e à homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett, assim os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software estatístico "GENES" (http://arquivo.ufv.br/dbg/genes/genes_br.htm) (CRUZ, 2013).

Resultados

A Tabela 1 apresenta os valores de CE das sementes tratadas com emulsão de OE de tomilho, durante os períodos de 0, 4, 8, 12 e 24h. O aumento da CE é observado ao longo do tempo para todos os tratamentos estudados. A concentração de 0 ppm (água e Tween 80) apresentou um valor de CE superior no tempo de 0h, em relação aos tratamentos que continham OE (2500; 5000; 7500 e 10000 ppm). Entretanto, nos demais períodos de análises (4, 8, 12 e 24h), a CE do tratamento 0 foi equivalente ou inferior aos tratamentos contendo OE. Os tratamentos (2500 a 10000) apresentaram valores de CE, durante as 24h, superiores ao CP, mas foram iguais estatisticamente aos controles.

Tabela 1- Condutividade elétrica média ($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$) de sementes tratadas com emulsão de óleo essencial de tomilho, durante os períodos de 0, 4, 8, 12 e 24h.

Trat. (ppm)	0h	4h	8h	12h	24h
0	264,7±36,3 ab	272,5±45,5 ab	309,9±28,2 ab	353,4±27,1 ab	392,0±32,8 ab
2500	204,3±44,7 ab	324,0±20,0 ab	364,8±19,1 a	399,1±7,7 a	467,8±15,9 ab
5000	202,9±10,3 ab	294,4±21,4 ab	340,1±35,1 a	353,3±31,5 a	393,7±49,2 ab
7500	208,9±26,1 ab	323,0±26,4 ab	341,9±51,2 a	365,6±48,0 a	409,4±53,6 ab
10000	191,5±10,8 ab	248,0±53,0 ab	355,2±36,1 a	359,4±30,7 a	421,8±41,0 ab
CN	216,1±13,3 a	272,5±45,5 a	309,9±28,2 a	353,4±27,1 a	392,0±100,5 ab
CP	209,2±18,4 b	253,9±39,4 b	279,0±12,8 b	298,2±9,4 b	340,9±51,7 ab
F _{5%}	26,5 ^{ns}	27,0 ^{ns}	3,9*	0,4**	30,1 ^{ns}

Pares de médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não difere entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Dunnett. CN = controle negativo (sementes tratadas com água deionizada autoclavada; solo estéril); CP = controle positivo (sementes tratadas com Tecto® a 4625 ppm); ns (teste não significativo ao nível 5% de probabilidade); * (teste significativo a 5% de probabilidade); ** (teste significativo a 1% de probabilidade).

Fonte: o autor.

A Tabela 2 mostra os valores de pH de sementes tratadas com emulsão do OE de tomilho, durante os períodos de 0, 4, 8, 12 e 24h. Observa-se uma diminuição nos valores ao longo de 24h em todos os tratamentos. O tratamento 0 ppm (água e Tween 80) apresentou um valor de pH inferior ao longo das 24h aos tratamentos com OE (2500; 5000; 7500 e 10000 ppm). O CP apresentou uma redução mais significativa nos valores de pH em comparação com os tratamentos contendo OE.

Tabela 2- Valores médios de pH de sementes tratadas com emulsão de óleo essencial de tomilho durante os períodos de 0, 4, 8, 12 e 24h.

Trat. (ppm)	0h	4h	8h	12h	24h
0	6,8±1,5 ab	6,5±0,0 b	6,2±0,1 a	6,1±0,1 b	6,1±0,1 b

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

2500	6,9±0,1 ab	7,1±0,0 a	6,9±0,1a	6,8±0,1 a	6,7±0,1 a
5000	7,0±0,1 ab	7,0±0,0 a	6,8±0,0 a	6,9±0,0 a	6,7±0,1 a
7500	6,8±0,1 ab	6,8±0,0 a	6,7±0,1 a	6,7±0,1 a	6,5±0,1 a
10000	6,9±0,1 ab	6,5±0,1 b	6,4±0,1 ab	6,3±0,0 b	6,2±0,0 b
CN	6,7±0,1 a	7,0±0,3 a	6,6±0,3 a	6,8±0,2 a	6,5±0,2 a
CP	6,8±0,0 b	6,5±0,1 b	6,3±0,1 b	6,2±0,0 b	6,1±0,1 b
F _{5%}	0,7 ^{ns}	13,8 ^{**}	17,7 ^{**}	40,2 ^{**}	18,7 ^{**}

Pares de médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Dunnett. CN = controle negativo (sementes tratadas com água deionizada autoclavada); CP = controle positivo (sementes tratadas com Tecto® a 4625 ppm); ns (teste não significativo ao nível 5% de probabilidade); * (teste significativo a 5% de probabilidade); ** (teste significativo a 1% de probabilidade).

Fonte: o autor.

Discussão

O teste de condutividade elétrica se baseia no fato de que, ao serem submetidas à embebição em água, as sementes exsudam íons, açúcares e metabólitos, especialmente no início desse processo, devido à alteração da integridade das membranas celulares, ocorrendo a lixiviação de eletrólitos, como K⁺, Mg²⁺ e Ca²⁺ (BEWLEY; BLACK, 2013). Conforme encontrado neste trabalho, com o aumento do período de embebição, um aumento no valor de CE foi observado. Segundo Dias *et al.* (2019) afirma que um tempo maior de embebição resulta em maior liberação de íons, consequentemente em um aumento da CE. Oliveira *et al.* (2022) constataram um aumento da CE quando analisaram diferentes lotes de sementes de *Cicer arietinum* L. após pré-condicionamento em diferentes volumes de água destilada e deionizada, ao longo do tempo (4, 8, 12 e 16h). Os pesquisadores justificaram tal aumento na CE em relação a liberação de solutos no meio durante períodos de imersão prolongada. Corroborando com os resultados encontrados neste estudo.

Seguindo o mesmo comportamento observado na CE, houve a diminuição do pH das sementes em todos os tratamentos realizados ao longo das 24h. Foram constatadas nestas análises faixas de variação entre pH 7,0 e 6,0, aproximadamente. A ocorrência das diminuições de pH observadas na análise, pode estar associada a liberação de íons H⁺ em solução. Os tratamentos de 2500, 5000, 7500 e 10000 ppm foram preparados com diferentes concentrações de OE de tomilho, sendo a de 2500 referente a menor concentração e a de 10000 ppm de maior concentração. O tratamento de 10000 ppm apresentou menor pH dentre todos os tratamentos estudados, isto pode estar relacionado a uma maior liberação de compostos que estão presentes no OE, como é o caso da presença de fenóis (timol e carvacrol) sendo estes compostos capazes de sofrerem desprotonação, ou seja, a perda do próton (H⁺) de uma molécula. Como consequência gera um aumento na concentração de H⁺ na solução e um menor valor de pH (ZHANG *et al.*, 2023).

Em pesquisas realizadas por Chen e Yada (2011), foi determinado que o intervalo de pH entre 5,5 e 6,2 é ideal para o desenvolvimento vegetal das plantas, corroborando com os resultados encontrados neste trabalho, evidenciando que a aplicação de revestimentos ativos nas sementes pode ser considerada apropriada, sem provocar impactos adversos as mesmas.

Conclusão

Os resultados obtidos fornecem evidências substanciais para a utilização dos testes de condutividade elétrica e pH como ferramentas eficazes na avaliação do vigor das sementes e na análise da estabilidade das emulsões contendo OE de tomilho em diferentes concentrações. Os valores encontrados para os diferentes tratamentos, durante as 24h, não se diferem estatisticamente, mostrando que o OE de tomilho pode ser uma alternativa para o tratamento das sementes, visando o controle da murcha de Fusarium.

Pretende-se, em trabalhos futuros, avaliar a relação entre o efeito deste revestimento em sementes à percentagem de germinação e o crescimento radicular. E por fim, desenvolver um produto alternativo e sustentável que possa ser validado em programas de manejo integrado de doenças do tomateiro.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Referências

- ALDEREES, F. *et al.* Formulation, characterization, and stability of food grade oil-in-water nanoemulsions of essential oils of *Tasmannia lanceolata*, *Backhousia citriodora* and *Syzygium anisatum*. **J. Food Saf.**, v. 42, n. 1, p. 1-10, 2022.
- AMINI, L. *et al.* Effect of essential oil from *Zataria multiflora* on local strains of *Xanthomonas campestris*: an efficient antimicrobial agent for decontamination of seeds of *Brassica oleracea* var. *capitata*. **Sci. Hortic.**, v. 236, n. 1, p. 256-264, 2018.
- ARAUJO, R. F. *et al.* Teste de condutividade elétrica para sementes de pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.). **Idesia (Arica)**, v. 29, n. 2, p. 79-86, 2011.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. Springer Science & Business Media, 2. ed. New York, p. 367, 2013.
- CHEN, H.; YADA, R. Nanotechnologies in agriculture: new tools for sustainable development. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 22, n. 1, p. 585–594, 2011.
- CRUZ, C.D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Sci. Agron.**, v.35, n.3, p.271-276, 2013.
- CUTILLAS, A. *et al.* Thyme essential oils from Spain: Aromatic profile ascertained by GCeMS, and their antioxidant, antilipoxygenase and antimicrobial activities. **J. Food Drug Anal.**, v. 26, n. 1, p. 529-544, 2018.
- DOLOUCH, J. C.; BASKIN, C. C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Sci. Technol.**, v. 1, p. 427-452, 1973.
- DIAS, D. C. F. dos S.; MARCOS FILHO, J. Testes de condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Sci. Agríc.**, v. 53, n. 1, p. 31-42, 1996.
- DIAS, L. B. X. *et al.* Teste de condutividade elétrica e embebição de sementes de grão-de-bico. **Rev. Bras. Cienc. Agrár.**, v. 14, n. 2, p. 1-8, 2019.
- FAOSTAT (2022). Crops and livestock products. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Acesso em 16 de julho de 2022).
- FESSEL, S. A. *et al.* Teste de condutividade elétrica em sementes de soja armazenadas sob diferentes temperaturas. **Bragantia**, v. 69, n.1, p. 207-214, 2010.
- GONÇALVES, D. C. *et al.* Reduction of Fusarium wilt symptoms in tomato seedlings following seed treatment with *Origanum vulgare* L. essential oil and carvacrol. **Crop Prot.**, v. 141, n. 1, p. 1-7, 2021.
- GONÇALVES, G. M. S.; BOTTARO, M.; NILSON, A. C. Effect of the *Thymus vulgaris* essential oil on the growth of *Streptococcus mutans*. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 32, n. 3, p. 375-380, 2011.
- GÜNDEL, S. da S. *et al.* Basil oil-nanoemulsions: Development, cytotoxicity and evaluation of antioxidant and antimicrobial potential. **J. Drug Deliv. Sci. Technol.**, v. 46, n. 1, p. 378-383, 2018.
- GUZEY, D.; MCCLEMENTS, D. J. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. **Adv. Colloid Interface Sci.**, v. 128, n.1, p. 227-248, 2006.
- HERNÁNDEZ-APARICIO, F. *et al.* Signaling in the tomato immunity against *Fusarium oxysporum*.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Molecules, v. 26, n. 1, p. 1-17, 2021.

INAMI, K. *et al.* The Tomato wilt fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* shares common ancestors with nonpathogenic *F. oxysporum* isolated from wild tomatoes in the peruvian andes.

Microbes Environ., v. 29, n. 1, p. 200-210, 2014.

KRISHNAMOORTHY, V.; RAJIV, S. Tailoring electrospun polymer blend carriers for nutrient delivery in seed coating for sustainable agriculture. **J. Clean. Prod.**, v. 177, n. 2, p. 69–78, 2018.

MENG, F. *et al.* Carotenoid biofortification in tomato products along whole agro-food chain from field to fork. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 124, n. 1, p. 296–308, 2022.

MORADI, S.; BARATI, A. Essential oils nanoemulsions: Preparation, characterization and study of antibacterial activity against *Escherichia coli*. **Int. J. Nanosci. Nanotechnol.**, v. 15, n. 1, p. 199-210, 2019.

OLIVEIRA, L. S. *et al.* Electrical conductivity for chickpea seed quality evaluation. **Braz. J. Dev.**, v. 8, n. 8, p. 55193-55206, 2022.

WAN, J. *et al.* Physical properties, antifungal and mycotoxin inhibitory activities of five essential oil nanoemulsions: Impact of oil compositions and processing parameters. **Food Chem.**, v. 291, n.1, p. 199-206, 2019.

ZHANG, J. *et al.* Encapsulation of phenolic compounds within food-grade carriers and delivery systems by pH-driven method: A systematic review. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 63, n. 1, p. 4153-4174, 2023.

Agradecimentos

Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro da Fundação de Apoio à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), da Fundação de Amparo à pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financiador 001. Os autores agradecem ao Programa de Pós-Graduação em Agroquímica (PPGAQ), da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), a Universidade Federal de Lavras e aos pesquisadores do Grupo de Pesquisa de Produtos Naturais e Síntese Orgânica (GEAPS-CNPq) pelo apoio em estrutura e aprendizagem.