



EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO SOBRE O FUNGO *ASPERGILLUS FLAVUS*

Natana Souza Zampieri (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Miguel Machinski Junior (Coorientador) Simone Aparecida Galerani Mossini (Orientador), e-mail: simonegmossini@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências da Saúde

Ciências da Saúde/Farmácia/Toxicologia

Palavras-chave: antifúngico, *Thymus vulgaris*, óleo essencial.

Resumo

Este trabalho teve por objetivo verificar o efeito do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) (OET) sobre morfologia, esporulação e viabilidade dos esporos em culturas de *Aspergillus flavus*. OET apresentou efeito antifúngico sobre *A. flavus*, sendo o efeito dose-dependente. O crescimento do fungo foi reduzido a partir da concentração de 10 µg/mL do OET, alcançando 90,39% e 100% nas concentrações de 250 e 500 µg/mL, respectivamente. A viabilidade dos esporos foi reduzida já na concentração de 50 µg/mL, e a esporulação em concentrações superiores a 100 µg/mL. O óleo essencial de tomilho, popularmente utilizado em todo o mundo, pode ser uma ferramenta útil no controle do crescimento de fungos produtores de aflatoxinas.

Introdução

Nas últimas décadas, o controle de doenças em plantas tem sido alcançado através da utilização de fungicidas sintéticos. Contudo, com a diminuição da eficácia, aumento da preocupação com o ambiente e efeitos tóxicos dessas substâncias, a necessidade de desenvolvimento de alternativas de proteção das culturas, com ou sem redução do uso de fungicidas convencionais tem crescido nos últimos anos (1). *Thymus vulgaris* (tomilho) tem propriedades antioxidantes e antimicrobianas demonstradas por diversos estudos (2,3). Aflatoxinas, micotoxinas potentes produzidas por algumas cepas de *Aspergillus flavus*, podem induzir mutações levando a efeitos mutagênicos e carcinogênicos (4). O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito





inibitório do OET sobre morfologia, esporulação e viabilidade dos esporos em culturas de espécies toxigênicas de *Aspergillus flavus*.

Materiais e métodos

O OET foi obtido por hidrodestilação e analisado por cromatografia a gás acoplada com espectrometria de massas. *Aspergillus flavus*, obtido do banco de isolados do Laboratório de Toxicologia/UEM, foi cultivado em meio Batata Dextrose Ágar (BDA) por 7 dias/25°C para a produção de conídios. Discos de 8 mm de diâmetro foram inoculados em meio YES, composto por extrato de levedura, sacarose e água. OET foi adicionado ao meio obtendo concentrações finais de 50, 100, 150, 250 e 500 µg/mL, incubado a 25°C/7 dias, no escuro. Crescimento micelial e esporulação foram determinados conforme técnica descrita por Souza e cols. (2007) (5). A viabilidade dos esporos foi avaliada por meio da metodologia empregada por Marques e cols. (2004) (6), com modificações. A morfologia macroscópica foi observada de acordo com o proposto por Pitt & Hocking (1997) (7). A morfologia microscópica foi analisada em amostras do micélio das colônias (8). Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão, e as diferenças consideradas significativas em valores de $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

OET apresentou borneol como principal composto (40,6%). Resultados semelhantes são descritos por Jakiemiu e cols. (2010) (9). A atividade antifúngica sobre *A. flavus* foi demonstrada, sendo o efeito dose-dependente. O crescimento do fungo foi reduzido a partir da concentração de 10 µg/mL do OET, alcançando 90,39% e 100% nas concentrações de 250 e 500 µg/mL, respectivamente. A viabilidade dos esporos foi reduzida já na concentração de 50 µg/mL, sendo a mesma medida como a porcentagem de germinação de esporos produzidos pelas colônias na presença de OET. Além disso, o OET reduziu significativamente a esporulação do fungo em concentrações superiores a 100 µg/mL (tabela 1).





Tabela 1. Efeito Inibitório do óleo essencial de tomilho sobre o crescimento micelial, esporulação e viabilidade de esporos de *Aspergillus flavus*.

	Crescimento Micelial		Esporulação		Viabilidade dos Esporos	
	Inibição (%)	Diâmetro (cm)	Média esporulação	Esporos/mL	Germinados / Não germ.	Germinação (%)
Controle ^c	-	8,5	355	355x10 ³	61/48	56%
OET						
μg/mL						
50	10,58±2,04 ^{a,b}	7,6	337	337x10 ³	0/87	-
100	12,15±0,68 ^{a,b}	7,5	297	337x10 ³	0/92	-
150	36,47±7,39 ^{a,b}	5,4	37	3,7x10 ³	0/93	-
250	90,39±2,07 ^{a,b}	0,82	20	2x10 ³	0/97	-
500	100,0±0,00 ^{a,b}	-	3	300	0/91	-

^adiferença significativa (p<0,05) quando comparada com o controle positivo.

^bvalores expressos como média ± desvio padrão.

^ccontrole positivo (inóculo livre da adição do extrato).

O potencial de ação inibitório do OET a morfologia microscópica do fungo *Aspergillus flavus* encontram-se demonstrados na figuras 1.

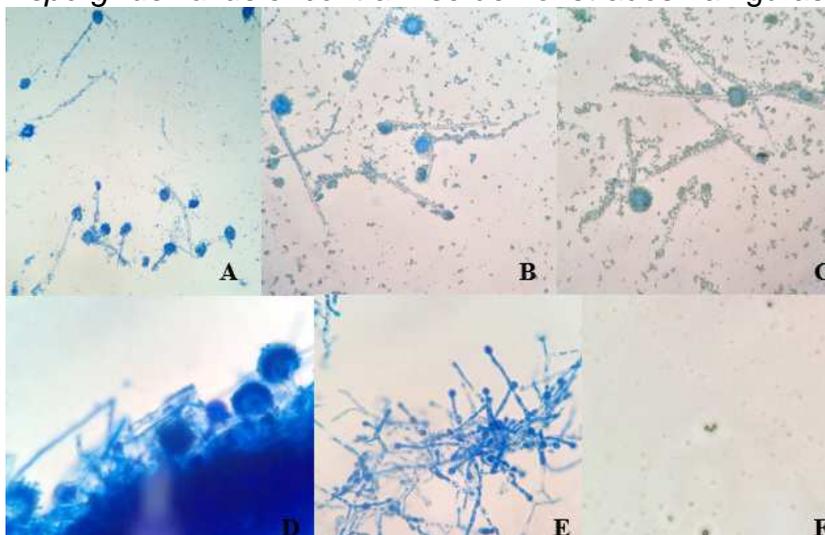


Figura 1 - Efeito do OET em *A. flavus*. (A) Controle, hifas na ausência do óleo; (B, C, D, E e F) hifas, tratadas com OET nas concentrações de 50, 100, 150, 250 e 500μg/ml, respectivamente.

Conclusões

O óleo essencial de tomilho apresentou atividade antifúngica sobre o fungo *Aspergillus flavus*, produtor de aflatoxinas. Em diferentes concentrações, o





óleo reduziu diâmetro das colônias, germinação e esporulação. Assim, o óleo essencial de tomilho, popularmente utilizado em todo o mundo, pode ser uma ferramenta útil no controle do crescimento de fungos produtores de aflatoxinas.

Agradecimentos

Ao apoio financeiro fornecido pelo CNPq - Fundação Araucária.

Referências

1. BURT, S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Intern. J. Food Microbiol.*, 94, 223–253, 2004.
2. ESCOP (European Scientific Cooperative on Phytotherapy) monographs. *Thymi herba* (2nd ed.). Stuttgart, Germany: Georg Thieme Verlag, pp. 505–509, 2003.
3. BAGAMBOULA, C.F. et al. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiol.*, Ghent, Belgium, v. 21, n. 1, p. 33-42, 2004.
4. RUSTOM, I. Y. S. Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation, and inactivation by physical methods. *Food Chemistry*, 59, 57–67, 1997.
5. SOUZA, A.E.F. et al. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho. *Fitopatologia Brasileira*, 32 (6), 2007.
6. MARQUES, R.P. et al. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações de óleo de Nim (*Azadirachta indica*). *Ciência Rural*, 34(6): 1675-1680, 2004.
7. PITT, J. I.; HOCKING, A. D. *Fungi and Food Spoilage*. 2nd ed. Blackie Academic & Professional. London UK, p. 592, 1997.
8. HELAL, G.A. et al. Effects of *Cymbopogon citratus* L. essential oil on the growth, morphogenesis and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* ML2-strain. *J Basic Microbiol*, 47(1):5-15, 2007.
9. JAKIEMIU, E.A.R. et al. Study of composition and yield of *Thymus vulgaris* L. oil essential. *Semina: Ciências Agrárias*, 31, 683–688, 2010.

