

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA**

**MEMBRANAS POLIMÉRICAS CONTENDO HECTORITA SINTÉTICA E  
FUNGICIDAS PARA O REVESTIMENTO DE BULBILHOS DE ALHO:  
NANOCOMPÓSITOS PARA O CONTROLE DA PODRIDÃO BRANCA**

Lorena Alves de Melo Bessa  
*Magister Scientiae*

**RIO PARANAÍBA - MINAS GERAIS  
2022**

**LORENA ALVES DE MELO BESSA**

**MEMBRANAS POLIMÉRICAS CONTENDO HECTORITA SINTÉTICA E  
FUNGICIDAS PARA O REVESTIMENTO DE BULBILHOS DE ALHO:  
NANOCOMPÓSITOS PARA O CONTROLE DA PODRIDÃO BRANCA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Jairo Tronto

Coorientador: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti

**RIO PARANAÍBA - MINAS GERAIS  
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da  
Universidade Federal de Viçosa - Campus Rio Paranaíba**

T

B557m  
2022

Bessa, Lorena Alves de Melo, 1992-  
Membranas poliméricas contendo hectorita sintética e fungicidas para o revestimento de bulbilhos de alho: nanocompósitos para o controle da podridão branca / Lorena Alves de Melo Bessa. - Rio Paranaíba, MG, 2022.  
89: il. (algumas color.).

Inclui apêndice.  
Orientador: Jairo Tronto.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Instituto de Ciências Exatas e Tecnológicas, 2022.  
Inclui bibliografia.  
DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvcrp.2022.009>  
Modo de acesso: <https://www.locus.ufv.br/>.

1. Materiais orgânico-inorgânicos. 2. Fungicidas. 3. Podridão Branca. I. Tronto, Jairo. II. Universidade Federal de Viçosa. Instituto de Ciências Exatas e Tecnológicas. Mestrado Multicêntrico em Química de Minas Gerais. III. Título.

635.26

Bibliotecário(a) responsável: Crislene Silva de Sousa 2539


**LORENA ALVES DE MELO BESSA**

**MEMBRANAS POLIMÉRICAS CONTENDO HECTORITA SINTÉTICA E FUNGICIDAS PARA O REVESTIMENTO DE BULBILHOS DE ALHO: NANOCOMPÓSITOS PARA O CONTROLE DA PODRIDÃO BRANCA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa – Campus de Rio Paranaíba, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 04 de março de 2022.

Assentimento:

  
Lorena Alves de Melo Bessa  
Autora

  
Jairo Tronto  
Orientador

*À minha família, meu alicerce em tudo que me proponho a fazer.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, o dom da vida, por me permitir ter saúde para realizar este trabalho. Ao meu Orientador, Professor Jairo Tronto, pela paciência e atenção com que acompanhou o andamento deste trabalho, apresentando sempre apoio por meio de seu exemplo e convívio, agregando experiências excepcionais à minha formação profissional e pessoal.

Ao meu Coorientador, Professor Eduardo Mizubuti, pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho, apresentando soluções e informações essenciais que contribuíram na realização do mesmo.

À minha família, de modo especial, ao meu marido, Felipe Ferreira Bessa, que sempre me motivou e apoiou para a realização deste trabalho. Aos meus pais, Nei Mendes de Melo e Rosilene Alves do Amaral Melo, por toda a dedicação e amor com que sempre pude contar, pelo apoio incondicional. Ao meu irmão Gustavo Alves de Melo, que sempre esteve ao meu lado colaborando com meu crescimento pessoal e profissional. À minha avó materna, Cleunice Goulart do Amaral Alves, pelo carinho que sempre recebi. À minha filha, Manuela Alves Bessa, que embora pequena, foi a maior motivação para dar seguimento a este sonho, agora, realizado. Agradeço a toda a minha família, pessoas tão especiais que são fundamentais para minha felicidade e realização pessoal.

Aos colegas do LCL-UFV-CRP, em especial, ao colega de pós-graduação Válber de Castro e a estudante de graduação Mariane Nazário, pelo companheirismo e colaboração durante a realização deste trabalho. Sou muito grata por participar desta equipe tão harmoniosa e profissional. Foram momentos de muita aprendizagem que levarei da convivência com todos vocês.

Ao Professor Everaldo Antônio Lopes pelos inúmeros ensinamentos e pela atenção dispensada em esclarecer minhas dúvidas e acompanhar meus experimentos.

Aos Professores Pablo, Geraldo, Frederico, Maria Gabriela, pela colaboração em tantos momentos.

Aos técnicos de Laboratório da UFV-CRP, Jader e Vinicius, que sempre foram extremamente solícitos em me auxiliar na manutenção de meus experimentos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Agradeço também à FAPEMIG pelo apoio financeiro (Projeto APQ-00777-19).

À Embrapa, pela oportunidade de conduzir este trabalho, em especial, ao Dr. Valdir Lourenço Júnior pelas contribuições realizadas e conhecimento compartilhado.

À UFV e a todos os seus servidores, pelo carinho com que realizam seu trabalho e atenderam às minhas necessidades durante a realização deste trabalho.

Aos membros da Banca pela disponibilidade e pelo conhecimento agregado.

Muito Obrigada!

*“A beleza do aprendizado é que ninguém pode roubá-lo de você.”*

(B. B. King)

## RESUMO

BESSA, Lorena Alves de Melo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa – Campus de Rio Paranaíba, março de 2022. **Membranas poliméricas contendo hectorita sintética e fungicidas para o revestimento de bulbilhos de alho: nanocompósitos para o controle da Podridão Branca.** Orientador: Jairo Tronto. Coorientador: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti.

Os materiais híbridos orgânico-inorgânicos possuem uma gama de aplicações em diversos setores da indústria, apresentando propriedades orgânicas e inorgânicas em um mesmo composto. A aplicação desses materiais na agricultura traz alternativas para a liberação controlada de nutrientes no solo, revestimento de sementes, transporte de herbicidas e o tratamento de doenças de plantas. Dessa forma, o presente estudo procurou investigar o uso de fungicidas incorporados às membranas poliméricas no pré-tratamento de bulbilhos de alho expostos ao patógeno *Stromatinia cepivora*, causador da Podridão Branca. Os revestimentos poliméricos foram selecionados por teste de germinação, a partir do índice de brotação de bulbilhos. As membranas poliméricas que apresentaram melhores resultados foram selecionadas para o teste de inibição de crescimento micelial, realizado em incubadora a 17 °C e fotoperíodo de 12 h. Os revestimentos foram avaliados quanto à porcentagem de inibição do crescimento micelial (ICM), sendo selecionados os que apresentaram maiores índices de inibição. Por fim, as membranas poliméricas escolhidas, foram utilizadas em bioensaios conduzidos em incubadora a 17 °C. Os bulbilhos revestidos foram plantados em amostras de solo contendo três diferentes densidades de *Stromatinia cepivora*: 0,1 g; 1,0 g e 10 g de escleródio/L de solo. As membranas contendo CMC a 2% e Laponita® a 2% incorporadas ao fungicida tebuconazol (3,6 mg/L) e à combinação dos ativos tebuconazol (36 mg/L) e triadimenol (62 mg/L) apresentaram índice total de brotação e índices nulos de incidência de sintomas e mortalidade em suas repetições. As membranas poliméricas foram caracterizadas por meio de diversas técnicas, dentre elas: DRXP, FTIR-ATR, TGA-DSC-MS, Espectroscopia Raman e Microscopia de luz. A partir da caracterização foi possível confirmar a presença dos fungicidas incorporados às membranas poliméricas. Algumas concentrações de fungicidas utilizadas foram baixas o suficiente para não serem detectadas em todas as análises realizadas. Isso permite afirmar, que mesmo a baixas concentrações, os fungicidas incorporados às membranas poliméricas

garantiram caráter protetivo aos bulbilhos em relação ao fungo *S. cepivora* presente no solo, sendo uma possibilidade de pré-tratamento antifúngico com redução potencial da concentração utilizada.

Palavras-chave: Materiais orgânico-inorgânicos. Fungicidas. Podridão Branca.

## ABSTRACT

BESSA, Lorena Alves de Melo, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa – Campus de Rio Paranaíba, March, 2022. **Polymeric membranes containing synthetic hectorite and fungicides for coating garlic cloves: nanocomposites for the control of white rot.** Advisor: Jairo Tronto. Co-advisor: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti.

Organic-inorganic hybrid materials have a range of applications in several areas of industry, considering the presence of organic and inorganic properties in the same compound. Their application in agriculture brings alternatives for the controlled release of nutrients in the soil, seed coating, and the transport of herbicides and treatment of plant diseases. Thus, the aim of the present study was to investigate the use of fungicides incorporated into polymeric membranes in the pre-treatment of garlic bulbils exposed to the pathogen *Stromatinia cepivora*, which causes White Rot. The polymeric coatings were selected by germination test, based on the bulbil sprouting index. The polymeric membranes that presented the best results were selected for the mycelial growth inhibition test, carried out in an incubator at 17 °C and photoperiod of 12 h. The coatings were evaluated in terms of the percentage of inhibition of mycelial growth (ICM), and those with the highest inhibition rates were selected. Finally, the chosen polymeric membranes were used in bioassays conducted in an incubator at 17 °C. The coated bulbils were planted in soil samples containing three different densities of *Stromatinia cepivora*: 0.1 g; 1.0 g and 10 g of sclerotium/L of soil. Membranes containing 2% CMC and 2% Laponita® incorporated into the fungicide tebuconazole (3.6 mg/L) and the combination of the actives tebuconazole (36 mg/L) and triadimenol (62 mg/L) showed a total rate of sprouting. and null indices of incidence of symptoms and mortality in its repetitions. The polymeric membranes were characterized by means of several techniques, among them: DRXP, FTIR-ATR, TGA-DSC-MS, Raman Spectroscopy and Light Microscopy. From the characterization it was possible to confirm the presence of the fungicides incorporated into the polymeric membranes. Some concentrations of fungicides used were low enough not to be detected in all analyzes performed. This allows us to state that, even at low concentrations, the fungicides incorporated into the polymeric membranes guaranteed a protective character to the bulbils in relation to the fungus *S. cepivora* present in the soil, being a possibility of antifungal pre-treatment with a potential reduction of the concentration used.

Keywords: Organic-inorganic materials. Fungicides. White Rot.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação esquemática de estratégias de síntese de nanocompósitos. ....	8
Figura 2 – Representação estrutural do Alginato. ....	9
Figura 3 – Representação estrutural da Carboximetilcelulose Sódica. ....	10
Figura 4 – Germinação (4a) e comprimento de parte aérea (4b) de alho cultivar Ito revestido com: A1 = alginato de sódio a 2%, A4 = carboximetilcelulose a 2%, A9 = alginato de sódio a 2% e Laponita® a 2%, A18 = carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2% e BR = Controle. (P < 0,05). ....	30
Figura 5 – Gráfico tipo “boxplot” sobre os tratamentos utilizados no teste de inibição de crescimento micelial e a área de colônia observada ao final do experimento. ....	33
Figura 6 – Bulbos e raízes acometidos pelo <i>S. cepivora</i> durante teste de infestação. ....	35
Figura 7 – Difractogramas para: (a) Triadimenol P.A.; (b) Laponita® P.A.; (c) Alginato de sódio P.A.; (d) Membrana composta por Alginato de sódio a 2%, Laponita® a 2% e Triadimenol a 62 mg/L; (e) Membrana composta por Alginato de sódio a 2% e Triadimenol a 62 mg/L. ....	37
Figura 8 – Espectros FTIR-ATR para: (a) Triadimenol P.A.; (b) Laponita® P.A.; (c) Carboximetilcelulose Sódica P.A.; (d) Membrana composta por Carboximetilcelulose Sódica a 2%, Laponita® a 2% e Triadimenol a 62 mg/L; (e) Membrana composta por Carboximetilcelulose Sódica a 2% e Triadimenol a 62 mg/L. ....	37
Figura 9 – Espectros FTIR-ATR para: (a) Tebuconazol P.A.; (b) Laponita® P.A.; (c) Alginato de sódio P.A.; (d) Membrana composta por Alginato de sódio a 2%, Laponita® a 2% e Tebuconazol a 36 mg/L; (e) Membrana composta por Alginato de sódio a 2% e Tebuconazol a 36 mg/L. ....	38
Figura 10 – Espectros FTIR-ATR para: (a) Tebuconazol P.A.; (b) Laponita® P.A.; (c) Carboximetilcelulose Sódica P.A.; (d) Membrana composta por Carboximetilcelulose Sódica a 2%, Laponita® a 2% e Tebuconazol a 36 mg/L; (e) Membrana composta por Carboximetilcelulose Sódica a 2% e Tebuconazol a 36 mg/L. ....	38
Figura 11 – Espectros FTIR-ATR para: (a) Triadimenol P.A.; (b) Laponita® P.A.; (c) Alginato de sódio P.A.; (d) Membrana composta por Alginato de sódio a 2%, Laponita® a 2% e Triadimenol a 62 mg/L; (e) Membrana composta por Alginato de sódio a 2% e Triadimenol a 62 mg/L. ....	41

Figura 12 – Espectros FTIR-ATR para: (a) Triadimenol P.A.; (b) Laponita® P.A.; (c) Carboximetilcelulose Sódica P.A.; (d) Membrana composta por Carboximetilcelulose Sódica a 2%, Laponita® a 2% e Triadimenol a 62 mg/L; (e) Membrana composta por Carboximetilcelulose Sódica a 2% e Triadimenol a 62 mg/L. ....41

Figura 13 – Espectros FTIR-ATR para: (a) Tebuconazol P.A.; (b) Laponita® P.A.; (c) Alginato de sódio P.A.; (d) Membrana composta por Alginato de sódio a 2%, Laponita® a 2% e Tebuconazol a 36 mg/L; (e) Membrana composta por Alginato de sódio a 2% e Tebuconazol a 36 mg/L. ....42

Figura 14 – Espectros FTIR-ATR para: (a) Tebuconazol P.A.; (b) Laponita® P.A.; (c) Carboximetilcelulose Sódica P.A.; (d) Membrana composta por Carboximetilcelulose Sódica a 2%, Laponita® a 2% e Tebuconazol a 36 mg/L; (e) Membrana composta por Carboximetilcelulose Sódica a 2% e Tebuconazol a 36 mg/L. ....42

Figura 15 – (a) TGA-MS1 - Amostra de filme de Alginato de sódio a 2% e Triadimenol a 62 mg/L; (b) TGA-MS2 - Amostra de filme de Alginato de sódio a 2% e Triadimenol a 62 mg/L; (c) TGA-DSC- Amostra de filme de Alginato de sódio a 2% e Triadimenol a 62 mg/L. ....44

Figura 16 – (a) TGA-MS1 - Amostra de filme de Carboximetilcelulose Sódica a 2% e Triadimenol a 62 mg/L; (b) TGA-MS2 - Amostra de filme de Carboximetilcelulose Sódica a 2% e Triadimenol a 62 mg/L; (c) TGA-DSC- Amostra de filme de Carboximetilcelulose Sódica a 2% e Triadimenol a 62 mg/L. ....45

Figura 17 – (a) TGA-MS1 - Amostra de filme de Alginato de sódio a 2% e Tebuconazol a 36 mg/L; (b) TGA-MS2 - Amostra de filme de Alginato de sódio a 2% e Tebuconazol a 36 mg/L; (c) TGA-DSC- Amostra de filme de Alginato de sódio a 2% e Tebuconazol a 36 mg/L. ....46

Figura 18 – (a) TGA-MS1 - Amostra de filme de Carboximetilcelulose Sódica a 2% e Tebuconazol a 36 mg/L; (b) TGA-MS2 - Amostra de filme de Carboximetilcelulose Sódica a 2% e Tebuconazol a 36 mg/L; (c) TGA-DSC- Amostra de filme de Carboximetilcelulose Sódica a 2% e Tebuconazol a 36 mg/L. ....47

Figura 19 – Espectros Raman para: (a) Triadimenol P.A.; (b) Laponita® P.A.; (c) Alginato de sódio P.A.; (d) Membrana composta por Alginato de sódio a 2%, Laponita® a 2% e Triadimenol a 62 mg/L; (e) Membrana composta por Alginato de sódio a 2% e Triadimenol a 62 mg/L. ....49

Figura 20 – Espectros Raman para: (a) Triadimenol P.A.; (b) Laponita® P.A.; (c) Carboximetilcelulose Sódica P.A.; (d) Membrana composta por Carboximetilcelulose Sódica a 2%, Laponita® a 2% e Triadimenol a 62 mg/L; (e) Membrana composta por Carboximetilcelulose Sódica a 2% e Triadimenol a 62 mg/L. ....49

Figura 21 – Espectros Raman para: (a) Tebuconazol P.A.; (b) Laponita® P.A.; (c)

Alginato de sódio P.A.; (d) Membrana composta por Alginato de sódio a 2%, Laponita® a 2% e Tebuconazol a 36 mg/L; (e) Membrana composta por Alginato de sódio a 2% e Tebuconazol a 36 mg/L. ....51

Figura 22 – Espectros Raman para: (a) Tebuconazol P.A.; (b) Laponita® P.A.; (c) Carboximetilcelulose Sódica P.A.; (d) Membrana composta por Carboximetilcelulose Sódica a 2%, Laponita® a 2% e Tebuconazol a 36 mg/L; (e) Membrana composta por Carboximetilcelulose Sódica a 2% e Tebuconazol a 36 mg/L. ....51

Figura 23 – Imagens dos revestimentos em estereomicroscópio com auxílio de lupa (ampliação de 40 vezes o tamanho real): (a) Bulbilho revestido com membrana à base de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2%; (b) Bulbilho revestido com membrana à base de Carboximetilcelulose a 2%, Laponita® a 2% e solução de Triadimenol a 62 mg/L; (c) Bulbilho revestido com membrana à base de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2% e solução de Tebuconazol a 36 mg/L; (d) Bulbilho revestido com membrana à base de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2% e solução combinada de Triadimenol a 62 mg/L e Tebuconazol a 36 mg/L. ....52

Figura 24 – Gráfico de interação entre a densidade de escleródio no solo (g de escleródio/ L de solo) e os índices de brotação observados no bioensaio. ....59

Figura 25 – Gráfico de interação entre a densidade de escleródio no solo (g de escleródio/ L de solo) e os índices de incidência observados no bioensaio. ....60

Figura 26 – Gráfico de interação entre a densidade de escleródio no solo (g de escleródio/ L de solo) e os índices de mortalidade observados no bioensaio. ....60

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição das membranas sintetizadas. ....	13
Tabela 2 – Composição das membranas sintetizadas para o teste de germinação. ....	15
Tabela 3 – Tratamentos realizados para Teste Piloto de Inibição de Crescimento Micelial. ....	17
Tabela 4 – Composição das membranas sintetizadas para o teste final de inibição de crescimento micelial. ....	19
Tabela 5 – Experimentos realizados no Teste de Patogenicidade. ....	22
Tabela 6 – Revestimentos usados para proteção à planta de alho contra <i>Stromatinia cepivora</i> . ....	23
Tabela 7 – Composição dos tratamentos e índices de brotação dos bulbilhos de alho revestidos. ....	28
Tabela 8 – Áreas de crescimento micelial e porcentagens de ICM verificadas no Teste de Inibição de Crescimento Micelial. ....	31
Tabela 9 – Atribuição de bandas para os precursores Carboximetilcelulose, Laponita® e Alginato de sódio presente nas membranas. ....	39
Tabela 10 – Condições utilizadas para o Bioensaio final em câmara BOD. ....	54

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABV	-	Álcool por Volume
ANA	-	Ácido 1-naftalenoacético
BDA	-	Batata Dextrose Ágar
BOD	-	Demanda bioquímica de oxigênio
CIP	-	Prédio Centro Integrado de Pesquisas
CMC	-	Carboximetilcelulose Sódica
DADS	-	Dissulfeto de dialila
DIC	-	Delineamento inteiramente casualizado
DPDS	-	Di-n-propil dissulfureto
DRXP	-	Difratometria de raios X em Pó
FTIR-ATR	-	Espectrofotometria de Absorção Molecular na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier e Acessório de Reflectância Total Atenuada
ICM	-	Inibição do Crescimento Micelial
IVD	-	Índice Visual de Dormência
LAE	-	Laboratório de Compostos Lamelares no Prédio Laboratório de Ensino
MAPA	-	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MMT	-	Argilomineral montomorilonita
PIC	-	Porcentagem de Inibição de Crescimento
TGA-DSC-MS	-	Análise Termogravimétrica acoplada a Calorimetria Exploratória Diferencial e Espectrometria de Massas
UFV	-	Universidade Federal de Viçosa

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	18
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	20
2.1. A produção de alho no Brasil .....	20
2.2. A Podridão Branca .....	20
2.3. Materiais híbridos orgânicos-inorgânicos .....	22
2.3.3. Componentes inorgânicos utilizados na preparação de materiais híbridos.....	27
3. OBJETIVOS .....	28
3.1. Objetivo Geral .....	28
3.2. Objetivos Específicos .....	28
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	29
4.1. Reagentes .....	29
4.2. Experimental .....	29
4.2.1. Síntese das membranas sintetizadas de materiais híbridos orgânico- inorgânicos .....	29
4.2.2. Revestimento dos bulbilhos de alho para avaliação do índice de brotação e da formação da parte aérea e do sistema radicular das plantas .....	30
4.2.3. Análise estatística sobre índices de brotação e massas secas e frescas .....	32
4.2.4. Teste piloto de revestimento dos bulbilhos de alho com fungicidas associados a materiais orgânico-inorgânicos sobre o crescimento micelial de <i>Stromatinia cepivora</i> .....	32
4.2.5. Teste final de revestimento dos bulbilhos de alho com fungicidas associados a materiais orgânico-inorgânicos sobre a inibição do crescimento micelial de <i>Stromatinia cepivora</i> .....	35
4.2.6. Teste de Patogenicidade para avaliação da infestação de bulbilhos de alho por meio de discos de micélio de <i>Stromatinia cepivora</i> presentes em solo.....	37
4.2.7. Efeito do revestimento de bulbilhos de alho com fungicidas incorporados a membranas poliméricas na incidência de podridão branca.....	39
4.3. Caracterização estrutural dos materiais híbridos orgânico-inorgânicos .....	42
4.3.1. Difração de Raios X no pó (DRXP) .....	42

4.3.2. Espectrofotometria de absorção molecular na região do infravermelho com transformada de Fourier e acessório de reflectância total atenuada (FTIR-ATR) .....	43
4.3.3. Análise termogravimétrica com calorimetria exploratória diferencial e espectrometria de massas (TGA-DSC-MS) .....	43
4.3.4. Espectroscopia vibracional Raman .....	43
4.3.5. Microscopia de luz.....	44
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
5.1. Efeito do revestimento dos bulbilhos de alho no índice de brotação e na formação da parte aérea e do sistema radicular das plantas .....	45
5.2. Efeito do revestimento dos bulbilhos de alho com fungicidas associados a materiais orgânico-inorgânicos sobre a inibição do crescimento micelial de <i>Stromatinia cepivora</i> .....	47
5.3. Avaliação da infestação de bulbilhos de alho por meio de discos de micélio de <i>Stromatinia cepivora</i> presentes em solo .....	50
5.4. Caracterização dos Materiais Híbridos Orgânico-Inorgânicos.....	51
5.4.1. Análises por difração de raios X no pó (DRXP).....	51
5.4.2. Análises por espectrofotometria de absorção molecular na região do infravermelho com transformada de Fourier e acessório de reflectância total atenuada (FTIR-ATR).....	55
5.4.3. Análise termogravimétrica com calorimetria exploratória diferencial e espectrometria de massas (TGA-DSC-MS) .....	59
5.4.4. Análises por espectroscopia vibracional Raman .....	64
5.4.5. Análises por microscopia de luz .....	68
5.5. Avaliação do efeito inibitório dos revestimentos contendo ativos fungicidas incorporados em bulbilhos de alho cultivados em solo infestado pelo <i>Stromatinia cepivora</i> .....	69
6. CONCLUSÕES .....	78
7. REFERÊNCIAS.....	81
APÊNDICE A .....	89

## 1. INTRODUÇÃO

Os materiais híbridos, por definição, consistem em uma gama de materiais formados pela mistura de compostos distintos em escala molecular, sendo comumente, um composto inorgânico e um de natureza orgânica (KICKELBICK, 2007). Seguindo esta premissa, estes materiais podem ser preparados por uma infinidade de combinações de compostos (JOSÉ; PRADO, 2005).

Embora sejam de caráter inovador, a origem dos materiais híbridos é bem remota. Há evidências de tintas híbridas em pinturas pré-históricas desde 13.000 a.C., em que diferentes argilas e óxido de ferro eram misturados a compostos orgânicos para produção das cores nos afrescos (FAUSTINI et al., 2018).

Atualmente, estudos buscam desenvolver novos materiais, aliando à estrutura sintetizada pela combinação de compostos com propriedades que agreguem ao material obtido aplicações inovadoras (SAVELENA et al., 2019; SANCHEZ et al., 2011). Nesse contexto, muitos setores têm buscado estes materiais como alternativa para otimizar seus processos produtivos, bem como para solucionar problemas advindos destes processos (ALI et al., 2016).

A agricultura, um dos setores mais importantes para a economia do Brasil, sofre anualmente inúmeras perdas devido à ação de insetos, patógenos e plantas daninhas associadas a diversas culturas (CARDOSO et al., 2006). Além do desenvolvimento de tecnologias que reduzam os prejuízos advindos de agentes bióticos comumente presentes nas plantações, outros problemas como, por exemplo, a utilização de volumes excessivos de agroquímicos utilizados na mitigação e prevenção de pragas demandam solução.

Segundo Saikia et al. (2017), o uso de agentes químicos intercalados a nanocompósitos para liberação controlada de substâncias em cultivos diminui a volatilização, fotodegradação e possíveis danos ambientais causados pelo uso excessivo de agroquímicos na agricultura, além de aumentar a produtividade das culturas. Além disso, segundo Lima (2018), como os programas de melhoramento de plantas resistentes a pragas e doenças apresentam grande complexidade, o tratamento de sementes é uma possibilidade mais simples, rápida e com resultados mais promissores.

Frente a isso, o Brasil, embora tradicional produtor mundial de alho (*Allium sativum* L.), vem sofrendo dificuldades para suprir a demanda interna e alcançar a

autossuficiência na produção dessa hortaliça (ANDRÉ, 2011). Entre os empecilhos, os preços competitivos e a qualidade oferecida pela importação têm prejudicado o mercado interno de alho. A melhoria na qualidade dos bulbos produzidos, a redução nos custos de produção e, principalmente, a mitigação de pragas e doenças recorrentes nas hortaliças têm sido desafios complexos para o êxito no mercado de alho (VILELA; HENZ, 2000; REIS; OLIVEIRA, 2013).

Dentre as doenças que acometem a cultura do alho, a podridão branca, causada pelo fungo *Stromatinia cepivora* (syn. *Sclerotium cepivorum* Berk.) é uma das doenças que apresenta maior potencial destrutivo (MARCUIZZO E LUIZ., 2017). Segundo Utkhede (1982), lavouras acometidas pelo fungo tem perdas que variam entre 5 a 50% do rendimento total da produção e em condições propícias à doença as perdas podem ser totais. No Brasil são relatadas perdas que variam de 2 a 100 % dependendo da época de plantio, sendo os meses de março, abril e maio, o 'período' do ano com maior incidência da doença, devido a temperatura mais amena (PINTO et al., 1998).

Segundo Reis e Oliveira (2013), atualmente não há cultivares resistentes geneticamente à podridão branca. O controle por via química é oneroso e muitas vezes não apresenta resultados positivos. Além disso, para os cultivares de alho, existem poucos registros de moléculas de fungicidas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Assim, o manejo desta doença deve ser realizado com a adoção de medidas de prevenção.

A síntese de materiais híbridos orgânico-inorgânicos para revestimento de sementes tem sido largamente pesquisada para utilização com caráter profilático no manejo de pragas e doenças como também para complementação nutricional do solo e dos tecidos vegetais (LIMA, 2018).

Um exemplo de estudo envolvendo a utilização de membranas poliméricas é a síntese para o revestimento de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), a partir de materiais híbridos orgânico-inorgânicos, incorporando ácido 1-naftalenoacético (ANA), como promotor de crescimento, o que apresentou bons resultados nas características fisiológicas da planta, melhorando seu desenvolvimento (CASTRO, 2020).

Outro exemplo tem sido a aplicação do uso de materiais híbridos orgânico-inorgânicos no revestimento de microtoletes de cana-de-açúcar, com o objetivo de reduzir o percentual de colmos utilizados no processo de plantio da cultura (GOMES,

2021).

O presente trabalho buscou investigar a preparação de membranas híbridas orgânico-inorgânicas sintetizadas com a incorporação de fungicidas diversos em diferentes concentrações, para serem aplicados como membranas de revestimento para sementes de alho (*A. sativum*), como proposta de tratamento em pré-germinação para o controle da podridão branca nesses cultivares.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. A produção de alho no Brasil

O alho (*Allium sativum* L.) é uma das espécies de hortaliças mais cultivadas da família Alliaceae (FAO, 2005). Em 2018, a produção mundial de alho foi de 28,4 milhões de toneladas, sendo a China responsável por 78,4% deste total, com produção de 22,3 milhões de toneladas. O Brasil figurou como o 16º maior produtor mundial de alho no mesmo ano (2018), com produção de 118,8 mil toneladas (FAO, 2020).

No entanto, embora no Brasil a cultura do alho possua grande importância socioeconômica, ainda é necessária a importação para suprir a demanda do mercado interno (LOURENÇO JUNIOR, 2017). Segundo o boletim agropecuário da Epagri (2020), entre os anos de 2018 e 2020, o Brasil importou cerca de 55% do alho consumido no país. Em 2017, o Brasil produziu 125 mil toneladas de alho, o que correspondeu a 45% do consumo da hortaliça no mesmo ano. Sendo assim, 160 mil toneladas – 55% do alho consumido no país foi importado (RESENDE, 2018).

Goiás, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Minas Gerais produzem cerca de 98% do alho no Brasil, sendo que nos dois últimos estados a produção pode ser bastante comprometida pela ocorrência da doença conhecida como podridão branca (CONAB, 2020).

### 2.2. A Podridão Branca

A podridão branca, causada pelo fungo *Stromatinia cepivora* (Berk.) Whetzel (syn. *Sclerotium cepivorum* Berk.), é uma doença muito destrutiva nas espécies da família Alliaceae, afetando principalmente as culturas de alho e cebola, mas que também pode ocorrer em alho poró (*Allium porrum*), cebolinha comum (*Allium*

*schoenoprasum*) e cebolinha francesa (*Allium schoenoprasum*) (PEREIRA, OLIVEIRA; PINHEIRO; 2014). Esta doença é cosmopolita e causa grandes perdas nos locais infestados quando o patógeno encontra condições favoráveis para sua instalação (REIS; OLIVEIRA, 2013; PEREIRA; OLIVEIRA, 2013). No Brasil, sua incidência centraliza-se nas regiões serranas do estado de São Paulo, nos estados de Minas Gerais, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (NUNES; KIMATI, 1997; DE QUEIROZ et al., 2016).

Os sintomas da podridão branca são inicialmente visíveis na parte aérea das plantas, comprometendo o crescimento da mesma e causando o amarelecimento e a senescência das folhas maiores. No estágio seguinte, é observada a morte da planta e o apodrecimento dos bulbos produzidos (NUNES; KIMATI, 1997). Como o próprio nome da doença sugere, com a presença de umidade, a parte do caule mais próxima do solo é afetada, produzindo-se uma camada de micélio branco, de aspecto cottonoso, conhecida como podridão branca, que representa a parte vegetativa do fungo (PEREIRA; OLIVEIRA, 2013).

Com o tempo, o crescimento micelial esbranquiçado desenvolve estruturas de resistência do fungo, conhecidas como escleródios, que são esferas de coloração preta que juntamente com o micélio permitem o diagnóstico assertivo da doença (NUNES; KIMATI, 1997; PEREIRA; OLIVEIRA, 2013). Os escleródios servem de reserva alimentar para condições extremas, o que possibilita a sobrevivência do fungo no solo por um intervalo de tempo de aproximadamente 20 anos, mesmo sem presença de hospedeiro (COLEY-SMITH et al., 1990; COOKE, 2006).

Essas estruturas de resistência do fungo podem ficar em estado de dormência no solo por grandes períodos. O processo de germinação se inicia em forma de tufo de micélios assim que ocorre a liberação de compostos voláteis de plantas do gênero *Allium*, como os sulfóxidos alquilo e alilcisteína. Geralmente, a liberação destes compostos ocorre no período de bulbificação e em presença de solo úmido com temperatura variando entre 13°C e 18°C. Estas substâncias são metabolizadas pela microbiota do solo e produzem os compostos voláteis di-n-propil dissulfureto (DPDS) e dissulfeto de dialila (DADS), responsáveis pelo princípio da germinação dos escleródios (COLEY-SMITH; KING, 1969; COLEY-SMITH, 1987). O processo de germinação pode ocorrer a partir de qualquer ponto do escleródio (CROWE, 1980; NUNES; KIMATI, 1997).

O micélio do *S. cepivora* se espalha pelas raízes e bulbos da planta, podendo crescer cerca de 1 a 2 cm a fim de alcançar raízes próximas. Assim, o fungo consegue se disseminar rapidamente em uma linha de plantio, sendo transmitido de planta para planta (WORDELL FILHO et al., 2006). Outras formas conhecidas de disseminação da doença são o trânsito de máquinas agrícolas, ferramentas contaminadas, trabalhadores e animais entre lavouras; água diretamente contaminada pelo fungo ou por meio do escoamento de chuvas e irrigação de áreas contaminadas; restos vegetais de plantas infestadas como bulbilhos e mudas de alho (PEREIRA; OLIVEIRA, 2013).

Devido as diversas formas de disseminação e à capacidade do fungo de resistir a longos períodos no solo, o manejo da doença nas culturas da família *Alliaceae* possui caráter essencialmente preventivo (WORDELL FILHO et al., 2006). As culturas aliáceas também não possuem resistência ao fungo para que seja empregado o controle genético (PEREIRA; OLIVEIRA, 2013).

Uma alternativa para manejo da podridão branca tem como objetivo reduzir as condições favoráveis ao patógeno, dificultando desta forma sua instalação na cultura. Uma estratégia é o cultivo em épocas com condições climáticas desfavoráveis ao patógeno, quando as temperaturas superam 18 °C, no período da bulbificação (RABINOWITCH, 2018; PINTO et al., 2000). O uso de alguns fungicidas dicarboximidas como procymidone, vinclozolin e iprodione têm apresentado resultados positivos no controle químico quando administrados em mudas e bulbilhos para posterior plantio. Ademais, estudos têm sido realizados sugerindo o uso de fungicidas eficazes no controle de outros patógenos que produzem escleródios, para sua utilização no manejo do fungo *S. cepivora*, como por exemplo, fluazinan, Tebuconazol e diniconazole (NUNES; KIMATI, 1997).

### **2.3. Materiais híbridos orgânicos-inorgânicos**

Desde a década de 1980, a pesquisa sobre materiais híbridos orgânico-inorgânicos vem crescendo, motivada pelo interesse em incorporar polímeros à compostos inorgânicos, para obtenção de propriedades físico-químicas complementares. Por definição, os materiais híbridos orgânico-inorgânicos são

constituídos por componentes orgânicos e inorgânicos, que podem formar um sistema homogêneo com escala de comprimento de nanométrico até micrométrico (CHUJO, 1996; SANCHEZ et al., 2005; JOSÉ; PRADO, 2005).

Há uma infinidade de materiais híbridos produzidos pela natureza por meio de processos de biomineralização durante a evolução. Naturalmente, biopolímeros como o colágeno, açúcares, quitina e proteínas, têm se combinado a substâncias inorgânicas como sílica, óxidos, carbonatos, fosfatos e oxalatos, por milhões de anos, produzindo biominerais que compõe diversas estruturas em seres vivos como ossos, conchas, marfim, cocólitos, ferritina, dentes, entre outros (FAUSTINI et al., 2018).

Estes materiais não possuem apenas propriedades que provém individualmente de seus constituintes, mas também da sinergia da interface híbrida orgânica-inorgânica criada, de forma que uma diversidade de propriedades pode ser agregada ao material (ópticas, mecânicas, elétricas, magnéticas, maior resistência mecânica, maior estabilidade térmica e química, entre outras) (ESTEVES et al. 2004; FAUSTINI et al., 2018). Por esta razão, eles apresentam grande versatilidade, possibilitando agregar propriedades físicas e químicas na elaboração de produtos mais sustentáveis e com alto valor agregado (SANCHEZ et al., 2005).

Embora muitas vezes, os materiais híbridos orgânico-inorgânicos sejam designados como nanocompósitos, o uso destes termos como sinônimos é feito equivocadamente. Segundo Mark e Kroschwitz (1985), os compósitos são materiais provenientes de misturas de componentes macroscopicamente, em que um destes componentes se encontra em maior quantidade e que os demais são adicionados em menor proporção, a fim de agregar ao material produzido, propriedades físico-químicas adicionais. Em contrapartida, os materiais híbridos, como dito anteriormente, possuem ligações em nível molecular que permitem que os materiais resultantes apresentem propriedades distintas daquelas existentes em seus constituintes (JOSÉ; PRADO, 2005; KICKELBICK, 2007).

Para a classificação dos compósitos em escala nanométrica é observada a quantidade de dimensões dispostas nessa grandeza. Assim sendo, os nanocompósitos podem ser classificados em unidimensionais, como, exemplo, as moléculas de sílica, em nanocompósitos contendo duas dimensões nanométricas como os nanotubos de carbono e por último, os nanocristais em camadas de polímeros, que possuem apenas uma camada nanométrica e formam compostos em

lâminas conhecidos como lamelares (ALEXANDRE; DUBOIS, 2000; JOSÉ; PRADO, 2005; LIMA, 2018).

Para a classificação dos materiais híbridos são considerados os tipos de ligações realizadas entre as partes orgânica e inorgânica dos constituintes. Assim, os materiais híbridos de Classe I são obtidos por meio de fracas interações entre as fases, como de ligações de Hidrogênio, forças intermoleculares de Van der Waals ou ligações iônicas. Os materiais híbridos de Classe II, por sua vez, são compostos através de ligações fortes entre seus componentes, como ligações covalentes ou iônico-covalentes. (ESTEVEES et al. 2004; JOSÉ; PRADO, 2005; BENVENUTTI, 2009; ROCHA, 2015).

Na síntese de materiais híbridos orgânico-inorgânicos, nanocompostos como as argilas e os silicatos têm sido largamente utilizados, tendo em vista suas propriedades como alta superfície de contato e capacidade de troca iônica, entumescimento, biocompatibilidade, maior resistência, menor expansão térmica e permeabilidade a gases, entre outras características (ALEXANDRE; DUBOIS, 2000; KICKELBICK, 2007).

### **2.3.1. Síntese de materiais híbridos orgânicos-inorgânicos**

A preparação de materiais híbridos orgânico-inorgânicos pode ser realizada principalmente a partir de duas metodologias distintas: pela mistura dos componentes ou pela formação *in situ* dos componentes, o que pode ocorrer pela síntese das nanopartículas *in situ* ou pela polimerização da matriz *in situ* (ESTEVEES et al. 2004; KICKELBICK, 2007). A Figura 1 apresenta uma representação esquemática das estratégias de síntese de nanocompósitos.

Na síntese a partir da mistura dos componentes, também conhecida como “building block approach”, ou seja, “abordagem de blocos de construção”, a formação do material híbrido não afeta integralmente as unidades estruturais, o que permite que propriedades comuns dos componentes sejam preservadas e transferidas para produto (KICKELBICK, 2007). Este tipo de síntese é comumente utilizada na preparação de compósitos em escala industrial, sendo preferencialmente realizada com cargas que possuam estrutura lamelar ou em camadas, como o argilomineral montomorilonita (MMT) (ESTEVEES et al. 2004).

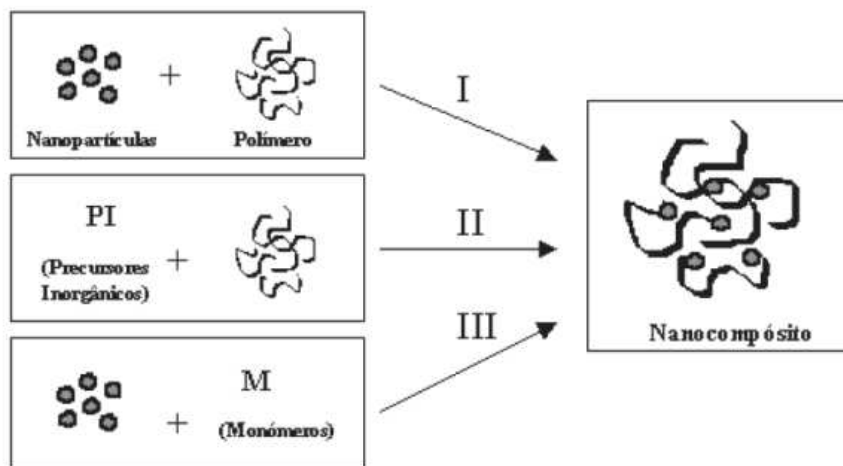


Figura 1 – Representação esquemática de estratégias de síntese de nanocompósitos. Fonte: Esteves; Barros-Timmons; Trindade. (2004).

Por outro lado, a síntese por formação *in situ* dos componentes, depende da transformação química para a produção do material híbrido, com o processo de obtenção e sua otimização devendo ser feitos cuidadosamente a fim de se obter a estrutura desejada inicialmente (KICKELBICK, 2007).

Entre os métodos de obtenção de materiais híbridos existentes, um dos mais conhecidos e empregados, é o método sol-gel (JOSÉ; PRADO, 2005). Nele, basicamente, moléculas a partir de uma policondensação orgânica formam estruturas poliméricas (KICKELBICK, 2007). Sendo assim, por definição, o termo sol representa as partículas coloidais suspensas em um líquido, na escala nanométrica, e o termo gel, representa a fase gelificada que imobiliza a fase líquida em seus espaços (JOSÉ; PRADO, 2005). Este método confere alta pureza e homogeneidade aos materiais híbridos obtidos, utilizando temperaturas baixas, o que impede a degradação polimérica (ESTEVES et al. 2004).

Outro método muito utilizado, principalmente, quando o componente inorgânico é uma argila, é o método de esfoliação ou adsorção. O presente estudo faz uso deste método para a obtenção dos materiais híbridos sintetizados. No processo, a esfoliação ocorre com a adição de outros componentes entre as camadas do componente inorgânico, como, por exemplo, do argilomineral hectorita. Este método é especialmente vantajoso para a preparação de materiais híbridos quando o polímero é solúvel no mesmo solvente em que o composto orgânico é esfoliado (ESTEVES et al. 2004; JOSÉ; PRADO, 2005).

### 2.3.2. Componentes orgânicos utilizados na preparação dos materiais híbridos

Os polímeros ao serem incorporados na síntese de materiais híbridos orgânico-inorgânicos conferem a estes materiais propriedades como isolamento térmico ou elétrico, baixa densidade, resistência à corrosão etc (KICKELBICK, 2007).

Entre os diversos polímeros utilizados no preparo de materiais híbridos destacam-se os hidrogéis, em que o agente de intumescimento é a água (ALEMÁN et al., 2007). Nesse contexto, o uso de alginatos, como o alginato de sódio, é largamente empregado tendo em vista ser um componente extremamente biocompatível e gelificante (ALMEIDA, 2010).

O alginato de sódio foi descoberto pelo químico Edward C. C. Stanford em 1881, sendo comumente encontrado nas paredes celulares de algas marrons (*Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis) e em polissacarídeos na constituição de bactérias do solo (GACESA, 1988). É definido como um polissacarídeo formado pela repetição de dois monômeros de glicano: o ácido gulurônico (G) e o ácido manurônico (M), sendo que a relação M / G influencia nas propriedades do composto: o alto teor de ácido manurônico, faz dos hidrogéis mais macios e com maior elasticidade enquanto, o alto teor de ácido gulurônico, torna os hidrogéis fortes, porém quebradiços (FARRÉS; NORTON, 2014). A Figura 2 apresenta uma representação esquemática da estrutura do alginato.

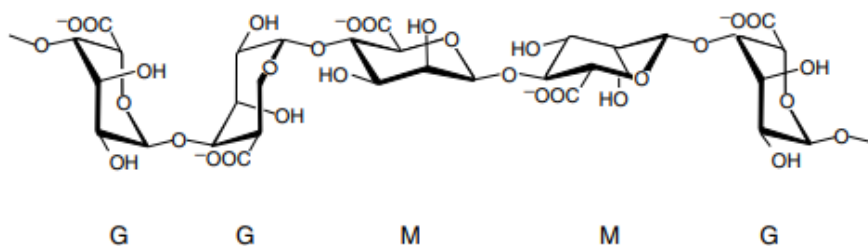


Figura 2 – Representação estrutural do Alginato.

Fonte: Stephen; Phillips (2016).

Embora muito presente na indústria de alimentos, como estabilizante e agente gelificante de sorvetes, pudins e bebidas, o uso do alginato de sódio tem se destacado na biotecnologia, no desenvolvimento de nanomateriais para sistemas biológicos, devido sua estrutura química biocompatível e biodegradável, como por exemplo, no revestimento de células vivas (ALMEIDA, 2010; FERNANDO et al., 2020).

Além do alginato de sódio, outro polímero utilizado neste estudo, é a carboximetilcelulose sódica (CMC), um éter resultante da reação da celulose com o

hidróxido de sódio e, posteriormente, do produto com ácido monocloroacético (agente esterificante). A carboximetilcelulose é obtida pela substituição parcial de grupos hidroxilas da glicose pelo grupo  $-\text{CH}_2\text{-COOH}$ , o que confere à molécula solubilidade e viscosidade o que contribui para a hidratação da molécula (CERRUTTI; FROLLINI, 2009). A Figura 3 apresenta uma representação esquemática da estrutura da carboximetilcelulose sódica.

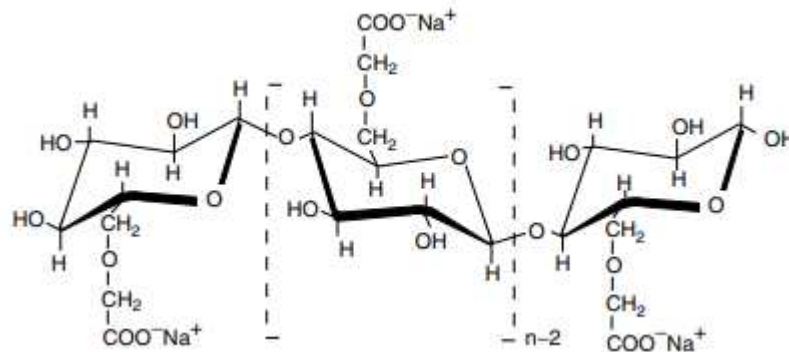


Figura 3 – Representação estrutural da Carboximetilcelulose Sódica.

Fonte: STEPHEN; PHILLIPS (2016).

A carboximetilcelulose sódica é largamente utilizada em processos industriais devido sua alta viscosidade, favorecendo seu uso como agente estabilizador e espessante em diversos setores como alimentício, farmacêutico, petrolífero, entre outros (YANG; ZHU, 20017). Por ser um composto biodegradável, sua utilização como matriz polimérica no preparo de nanocompósitos tem sido largamente estudada (VANGINKEL; GAYTON, 1996; DE MOURA et al., 2013).

### 2.3.3. Componentes inorgânicos utilizados na preparação de materiais híbridos

Para a formação de materiais híbridos se faz necessária a combinação de um composto orgânico e um inorgânico. Nesse contexto, muitos trabalhos têm reportado o uso de Laponita<sup>®</sup> como material inorgânico para formação desses materiais. A Laponita<sup>®</sup> é um composto inorgânico sintético com características químicas e estruturais semelhantes ao argilomineral hectorita, formado por silicatos de sódio combinados à sais de sódio, magnésio ou lítio. Sua estrutura tem formato de discos em escala nanométrica sendo duas camadas tetraédricas de sílica e uma intercâmara octaédrica de óxido de magnésio, além de hidroxilas e átomos de oxigênio presentes na composição (CUMMINS, 2007; TOMÁS et al., 2018). Os átomos de magnésio, presentes em sua constituição, podem ser substituídos pelos de átomos de lítio o que

leva a formação de cargas negativas, na estrutura. Assim, as cargas negativas se concentram nas superfícies das plaquetas, enquanto as cargas positivas estão localizadas nas bordas, produzidas pela presença de cátions sódio interlamelares. Estes cátions são responsáveis pelo balanceamento de cargas da estrutura (RUZICKA; ZACCARELLI, 2011).

Entre as principais características da Laponita<sup>®</sup>, se destacam a alta capacidade de entumescimento (absorção de grandes quantidades de água) e troca catiônica, bom controle de sua reologia quando utilizada em revestimentos, alta superfície de contato e biocompatibilidade, sendo por essa razão muito utilizada como modificadora de reologia ou formadora de membranas (TOMÁS et al., 2018).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Investigar o comportamento de membranas híbridas orgânico-inorgânicas sintetizadas com o uso de fungicidas no revestimento de bulbilhos de alho (*Allium sativum* L.) visando o manejo de *S. cepivora*, causador da podridão branca.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

O presente trabalho teve como objetivos:

- 1) Definir as melhores condições de revestimento para as sementes, a partir de testes nos bulbilhos de alho com diferentes concentrações tanto de polímero, de argila quanto dos fungicidas utilizados.
- 2) Confirmar a presença e a interação dos ativos fungicidas, polímeros e argila utilizados na síntese das membranas poliméricas a partir da caracterização por meio das seguintes técnicas: Difratometria de raios X em Pó (DRXP), Espectrofotometria na Região do Infravermelho com transformada de Fourier e acessório de reflectância total atenuada (FTIR-ATR), Espectroscopia Raman, Microscopias de Luz, Análises Termogravimétricas (TGA-DSC-MS).
- 3) Avaliar a atividade do escleródio *Stromatinia cepivora* na presença de bulbilhos revestidos com as membranas pré-selecionadas e com fungicidas incorporados em teste de inibição de crescimento micelial.

- 4) Avaliar o comportamento inibitório das membranas poliméricas no revestimento de bulbilhos de alho cultivados em solos infestados a diferentes concentrações por *S. cepivora*.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Reagentes

Todos os reagentes utilizados no presente trabalho apresentam grau de pureza analítica e foram utilizados sem a realização prévia de purificação.

A água utilizada na realização dos experimentos para o preparo das soluções foi obtida a partir do sistema Millipore MiliQ®. Para a síntese dos materiais híbridos orgânico-inorgânicos foram utilizados os seguintes reagentes: Laponita® (Buntech, 100%), Alginato de Sódio (Êxodo, 90,8-106%), Carboximetilcelulose (Sigma-Aldrich, 100 %), Tebuconazol (Sigma-Aldrich, 100%), Triadimenol (Sigma-Aldrich, 100%), Boscalida (Sigma-Aldrich, 100%), Nitrato de Cálcio (ACS, 99,0-103,0 %).

### 4.2. Experimental

#### 4.2.1. Síntese das membranas sintetizadas de materiais híbridos orgânico-inorgânicos

Foram realizados testes preliminares de revestimento dos bulbilhos de alho a fim de verificar a uniformidade na formação das membranas sintetizadas a partir de materiais híbridos orgânico-inorgânicos. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Compostos Lamelares na Universidade Federal de Viçosa, Campus de Rio Paranaíba.

Foram preparadas três soluções contendo Laponita® nas proporções (1:100), (2:100) e (4:100) no volume de 100 mL de H<sub>2</sub>O deionizada. As misturas foram mantidas em agitador magnético e aquecidas em manta aquecedora a 80°C até completa solubilização das soluções (GHADIRI et al., 2013).

Também foram preparadas três soluções utilizando a combinação do polímero alginato de sódio e Laponita®, nas proporções de Laponita®/Alginato (1:2), (2:1) e (2:2); e duas soluções contendo os polímeros Carboximetilcelulose e Alginato de sódio nas proporções de Alginato/Carboximetilcelulose (1:2) e (2:2). Ademais foi preparada uma solução contendo apenas Carboximetilcelulose na proporção de (2:100) no

volume de 100 mL de água deionizada.

Para a síntese, as soluções foram mantidas em agitador magnético para homogeneização da fase (GHADIRI et al., 2013). As soluções sintetizadas e suas respectivas composições estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição das membranas sintetizadas.

Filmes	Laponita <sup>®</sup> (mg)	Alginato (mg)	Carboximetilcelulose (mg)	V (L)
A1	1000	-	-	0,1
A2	2000	-	-	0,1
A3	4000	-	-	0,1
A4	1000	2000	-	0,2
A5	4000	2000	-	0,2
A6	2000	2000	-	0,2
A7	-	2000	1000	0,2
A8	-	2000	2000	0,2

#### 4.2.2. Revestimento dos bulbilhos de alho para avaliação do índice de brotação e da formação da parte aérea e do sistema radicular das plantas

O teste de germinação foi conduzido no Laboratório de Compostos Lamelares da Universidade Federal de Viçosa, Campus de Rio Paranaíba.

O plantio dos bulbilhos de alho de cultivar Ito foi realizado em bandejas plásticas contendo solo do tipo Latossolo arenoso previamente lavado, peneirado esterilizado em estufa de secagem a 120°C por 20 min. O solo foi resfriado à temperatura ambiente e disposto nas bandejas para o plantio dos bulbilhos revestidos.

Foram sintetizadas as soluções apresentadas na Tabela 2, para a utilização no revestimento dos bulbilhos no teste de germinação.

Os bulbilhos coletados estavam em estado de dormência, ou seja, condição indesejável para o plantio, que se inicia com a formação das folhas e desenvolvimento da gema de brotação e pode se estender até 70 dias após a colheita dos bulbilhos. Para determinar o período ideal de plantio, o estado de dormência foi acompanhado pelo Índice Visual de Dormência (IVD), por meio de cortes longitudinais em bulbilhos escolhidos aleatoriamente, até que se observassem gemas de brotação com 50% do comprimento das folhas de brotação (EMBRAPA HORTALIÇAS, 2017).

Em seguida, os bulbilhos foram vernalizados a 4°C e à umidade relativa (UR) entre 65 e 70% por 45 dias. O processo de vernalização consiste em um tratamento pré-plantio que possibilita à planta sua diferenciação e estimula a formação de bulbos mesmo em locais que não ofereçam condições de fotoperíodo e temperatura adequadas à cultura (EMBRAPA HORTALIÇAS, 2016). Após este período, os

bulbilhos foram retirados da refrigeração e mantidos em temperatura ambiente por 24 h antes do plantio. Para o experimento, foram selecionados apenas bulbilhos que não apresentavam defeitos.

Os bulbilhos de alho foram imersos nos géis descritos na Tabela 2. Em seguida, os bulbilhos revestidos com as soluções que continham alginato de sódio em sua composição foram imersos em solução de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  a 5,0% por 10 s para a formação de hidrogel nas membranas sintetizadas (DA SILVA et al., 2017). Os bulbilhos revestidos permaneceram em temperatura ambiente para secagem por 2 h antes do plantio.

O plantio foi realizado em caixas de areia e a disposição dos bulbilhos foi feita em linha, considerando que em cada bandeja contivesse um bulbilho de cada tratamento. Os bulbilhos foram plantados em profundidade de 2 a 3 cm e posicionados na direção vertical observando a gema de brotação voltada para cima, e dispostos em três fileiras com cinco bulbilhos cada. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete repetições.

Tabela 2 - Composição das membranas sintetizadas para o teste de germinação.

Filmes	Laponita <sup>®</sup> (mg)	Alginato (mg)	Carboximetilcelulose (mg)	V (L)
A1	-	2000	-	0,1
A2	-	5000	-	0,1
A3	-	-	1000	0,1
A4	-	-	2000	0,1
A5	1000	-	-	0,1
A6	2000	-	-	0,1
A7	5000	-	-	0,1
A8	1000	2000	-	0,2
A9	2000	2000	-	0,2
A10	5000	2000	-	0,2
A11	1000	5000	-	0,2
A12	2000	5000	-	0,2
A13	5000	5000	-	0,2
A14	1000	-	1000	0,2
A15	2000	-	1000	0,2
A16	5000	-	1000	0,2
A17	1000	-	2000	0,2
A18	2000	-	2000	0,2
A19	5000	-	2000	0,2
BR	-	-	-	-

Após o plantio, foi adicionado um volume de 500 mL de água para umedecer o solo e diariamente pelo período de 15 dias as bandejas foram regadas, de acordo com a necessidade, para a manutenção da umidade do solo.

Para a quantificação do índice de brotação foi realizado o acompanhamento diário das brotações, verificando a ocorrência da germinação por tipo de revestimento utilizado nos bulbilhos. Após 15 dias de cultivo, as raízes e a parte aérea das plantas foram lavadas e secas. Em seguida, foi realizada a medição das partes aéreas das mudas e da raiz principal correspondente a cada repetição. As raízes foram digitalizadas por meio de scanner para determinar o volume, área superficial e comprimento das raízes a partir do software Safira.

Em seguida, quantificou-se a massa fresca da parte aérea e raízes e levadas à estufa, em sacos de papel kraft, a 65°C por 72 h. Após a secagem, quantificou-se a massa seca e de água das raízes e parte aérea das plantas.

#### **4.2.3. Análise estatística sobre índices de brotação e massas secas e frescas**

A análise de componentes principais e de cluster dos dados de altura, massa fresca das raízes e partes aéreas e massa seca das raízes e partes aéreas foi realizada utilizando o programa R versão 4.0.4 (R Core Team, 2021).

#### **4.2.4. Teste piloto de revestimento dos bulbilhos de alho com fungicidas associados a materiais orgânico-inorgânicos sobre o crescimento micelial de *Stromatinia cepivora***

Os testes de inibição de crescimento micelial foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia e Plantas Daninhas, no Centro Integrado de Pesquisas (CIP), na Universidade Federal de Viçosa, Campus de Rio Paranaíba.

Inicialmente, realizou-se um teste piloto para analisar a infecção de bulbilhos de alho revestidos com membranas poliméricas com fungicidas incorporados. Escleródios de *Stromatinia cepivora* utilizados para iniciar a produção de micélio foram obtidos de solo naturalmente infestado coletado no município de Rio Paranaíba. Realizou-se a desinfestação dos escleródios utilizando álcool etílico 50% ABV (Álcool por Volume) nos escleródios por um período de 30 s, seguido de imersão em hipoclorito de sódio a 0,5% por 180 s e enxágue em H<sub>2</sub>O deionizada. Em seguida, para a formação da colônia do fungo, cinco escleródios foram transferidos de forma equidistante em 10 placas de Petri contendo batata dextrose ágar (BDA). As placas foram mantidas a 18°C com fotoperíodo de 12 h de luz até a formação da colônia (5 a 10 dias).

Discos de micélio contendo escleródios de *Stromatinia cepivora* foram

colocados em placas contendo meio BDA, posicionado na extremidade oposta a que continha um (01) bulbilho de alho tratado. Para o teste piloto utilizou-se apenas o revestimento com o fungicida Triadimenol como ativo, na concentração de 0,001875 mg/L. Este ativo segundo Domingos et al. (2018), apresentou bons resultados na inibição de crescimento micelial dos escleródios em relação a outros fungicidas independente da concentração de calda utilizada em seu estudo.

Neste teste piloto de inibição de crescimento micelial foram avaliadas as áreas de crescimento das colônias do fungo a partir do software ImageJ® 2006 versão 1.43.3.67, utilizando os registros fotográficos feitos a cada intervalo de 72 h até o final do experimento. Calculou-se também a porcentagem de ICM - Inibição do Crescimento Micelial para cada tratamento, a partir da fórmula:  $ICM = [(C - N) / C] \times 100$ , onde C é a área da colônia do controle e N é a área da colônia no tratamento com o fungicida.

O controle positivo foi realizado utilizando o fungicida iprodiona (Magic®, 500 g/L), tradicionalmente utilizado na cultura de alho, a fim de verificar o efeito inibitório do mesmo no crescimento micelial. Os controles negativos foram realizados para análise de interferentes e possíveis contaminações, sendo respectivamente: meio de cultura BDA sem fungicida e sem disco de micélio de *S. cepivora* (CNM); meio de cultura BDA com disco de micélio (CNMB) para avaliar o crescimento do fungo no meio e meio de cultura BDA contendo bulbilho sem revestimento sendo feitas duas repetições (CN1 e CN2) para observar possíveis contaminações nos bulbilhos utilizados. As condições de tratamento utilizadas nos bulbilhos e o controle positivo estão dispostos na Tabela 3.

Previamente a montagem do experimento, os bulbilhos de alho utilizados foram lavados em H<sub>2</sub>O corrente e secos a temperatura ambiente. Em seguida, foram imergidos durante 120 s em uma solução de hipoclorito de sódio a 2% para desinfecção dos mesmos e lavados novamente em H<sub>2</sub>O corrente.

Os cinco bulbilhos a serem utilizados no controle positivo foram pesados e a partir da massa obtida foi calculada a massa da dose do ativo Iprodiona, seguindo a recomendação para uso comercial de 1,00 kg de Iprodiona para 100 kg de bulbilhos de alho. A massa de Iprodiona encontrada foi convertida em volume, em mililitros, a partir da densidade do ativo Iprodiona. O volume obtido, 0,175 mL, foi pipetado em pipeta automática e acondicionado em frasco de vidro esterilizado. Em seguida, o volume foi diluído em H<sub>2</sub>O deionizada em quantidade suficiente para cobrir os

bulbilhos. Os mesmos foram deixados no interior do frasco 30 minutos sob agitação.

Tabela 3 - Tratamentos realizados para Teste Piloto de Inibição de Crescimento Micelial

Fungicida utilizado	Concentração utilizado de fungicida (mg/L)	Tratamentos	Composição dos Revestimentos
Triadimenol	1875	AR1 a AR5	Solução de Alginato a 2% e Laponita® a 2%
Triadimenol	1875	CMCR1 a CMCR5	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2%
Magic® (Ativo: Iprodiona)	5,0 x 10 <sup>6</sup>	+R1 a +R2	Solução de Iprodiona (Controle Positivo)

A solução de BDA - batata dextrose ágar foi preparada a partir 39 gramas de Batata Ágar Dextrose dissolvidas em 1,00 litro de água deionizada. A solução foi acondicionada em dois erlenmeyers de 500 mililitros de volume e levados à fervura para dissolver completamente. Em seguida, o volume foi esterilizado em autoclave a 121 ° C por 15 minutos.

O experimento foi realizado em capela de fluxo laminar (Veco, Campinas, SP, Brasil) após limpeza com álcool 70% ABV e luz ultravioleta ligada pelo período de 30 min para a esterilização do ambiente e uma manipulação com menor risco de contaminação.

Após o resfriamento, foram dispostos 10 mL de meio BDA em placas de Petri de 9 cm de diâmetro e as mesmas foram mantidas em capela de fluxo laminar até o que o meio BDA se solidificasse nas placas para início da montagem do experimento.

Os discos de micélio das bordas da colônia do fungo com crescimento ativo foram obtidos com um furador de rolha (5 mm de diâmetro). Em seguida, um disco de micélio foi introduzido no meio BDA de cada placa de Petri e no lado oposto foi acomodado um bulbilho de alho com seu respectivo tratamento.

Após a montagem do experimento e dos controles negativo e positivo, as placas de Petri foram embaladas, cada par individualmente, em plástico tipo filme e levadas à estufa BOD – demanda bioquímica de oxigênio e mantidas entre 13°C e 18°C, intervalo ideal para o crescimento micelial do fungo *Stromatinia cepivora*. As placas foram observadas até que a placa contendo o controle negativo com o disco de micélio foi completamente tomada pelo crescimento do micélio.

Em seguida, o experimento foi desmontado, sendo então as placas de Petri

aconditionadas em sacos plásticos e levadas em autoclave a 121°C por 15 minutos. Após a autoclavagem, os resíduos de meio BDA e crescimento do fungo e do bulbilho de alho foram descartados e as placas foram lavadas e secas em estufa a 100 °C por 5 minutos.

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições. Uma repetição foi considerada como uma placa de Petri contendo um disco de micélio de *S. cepivora* e um bulbilho de alho revestido. As variáveis área de colônia e porcentagem de inibição de crescimento micelial - PIC foram analisadas por meio de estatística descritiva dos dados, com ênfase em boxplots.

#### **4.2.5. Teste final de revestimento dos bulbilhos de alho com fungicidas associados a materiais orgânico-inorgânicos sobre a inibição do crescimento micelial de *Stromatinia cepivora***

Para o estudo de inibição de crescimento micelial foram utilizados três ativos fungicidas Tebuconazol, Triadimenol e Boscalida devido a eficiência apresentada na mitigação do *S. cepivora* em estudos anteriores e no manejo da doença em alguns países (LOPES, 1994; VILLALTA et al., 2012; DOMINGOS, 2015; DOMINGOS, L. B. et al., 2018).

Nesta etapa do estudo foram avaliadas 4 condições distintas:

- O efeito inibitório dos revestimentos sem a utilização de ativos fungicidas incorporados;
- O efeito inibitório dos revestimentos contendo ativos fungicidas incorporados;
- O efeito inibitório do ativo fungicida Iprodiona, utilizado como controle positivo do estudo;
- O comportamento de discos de micélio em placas de controle negativo, a fim de avaliar: possíveis contaminações no meio BDA, nos bulbilhos utilizados e o crescimento do fungo a partir do disco de micélio.

Foram preparadas soluções a partir das concentrações de solubilidade em água apresentadas pelos fungicidas para serem utilizadas como base para a síntese das membranas sintetizadas. Sendo elas: solução de Triadimenol a 62 mg/L, solução de Boscalida a 4,6 mg/L e solução de Tebuconazol a 36 mg/L.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições. Uma repetição constitui de uma placa contendo um disco de micélio de *S. cepivora* e um bulbilho de alho. Os tratamentos encontram-se descritos na Tabela 4.

O preparo da solução do fungicida Iprodiona foi feito da mesma forma descrita no tópico 4.2.4. assim como, a síntese da solução de BDA – batata ágar dextrose, o procedimento de desinfecção prévia dos bulbilhos de alho e a esterilização do ambiente para a montagem do experimento.

As placas foram mantidas em incubadora tipo BOD a 17 °C com fotoperíodo de 12 horas, após a preparação das placas, conforme tratamentos descritos na Tabela 4. O crescimento micelial do fungo foi acompanhado diariamente. O experimento foi finalizado quando o patógeno cresceu em toda a placa no tratamento contendo apenas discos de micélio e meio BDA (Tratamento 23, Tabela 4).

Tabela 4 - Composição das membranas sintetizadas para o teste final de inibição de crescimento micelial.

Fungicida	Concentração de fungicida (mg/L)	Tratamento	Composição do Tratamento
Sem fungicida	-	1.1 a 1.4	Bulbilho de alho não tratado
Sem fungicida	-	2.1 a 2.4	Solução de Alginato de sódio a 2%
Sem fungicida	-	3.1 a 3.4	Solução de Carboximetilcelulose a 2%
Sem fungicida	-	4.1 a 4.4	Solução de Alginato de sódio a 2% e Laponita® a 2%
Sem fungicida	-	5.1 a 5.4	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2%
Triadimenol	62,0	6.1 a 6.4	Bulbilho de alho não tratado
Triadimenol	62,0	7.1 a 7.4	Solução de Alginato de sódio a 2%
Triadimenol	62,0	8.1 a 8.4	Solução de Carboximetilcelulose a 2%
Triadimenol	62,0	9.1 a 9.4	Solução de Alginato de sódio a 2% e Laponita® a 2%
Triadimenol	62,0	10.1 a 10.4	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2%
Boscalida	4,6	11.1 a 11.4	Bulbilho de alho não tratado
Boscalida	4,6	12.1 a 12.4	Solução de Alginato de sódio a 2%
Boscalida	4,6	13.1 a 13.4	Solução de Carboximetilcelulose a 2%
Boscalida	4,6	14.1 a 14.4	Solução de Alginato de sódio a 2%

			e Laponita® a 2%
Boscalida	4,6	15.1 a 15.4	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2%
Tebuconazol	36,0	16.1 a 16.4	Bulbilho de alho não tratado
Tebuconazol	36,0	17.1 a 17.4	Solução de Alginato de sódio a 2%
Tebuconazol	36,0	18.1 a 18.4	Solução de Carboximetilcelulose a 2%
Tebuconazol	36,0	19.1 a 19.4	Solução de Alginato de sódio a 2% e Laponita® a 2%
Tebuconazol	36,0	20.1 a 20.4	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2%
Iprodiona	5,0 x 10 <sup>6</sup>	21.1 a 21.4	Bulbilho de alho não tratado (Controle)
-	-	22	Placa de Petri contendo meio BDA (Controle)
-	-	23	Placa de Petri contendo meio BDA e disco de micélio (Controle)
-	-	24	Placa de Petri contendo meio BDA e bulbilho de alho não tratado (Controle)

As áreas das colônias foram mensuradas em todos os tratamentos pelo software ImageJ®, utilizando os registros fotográficos feitos a cada intervalo de 72 h até o final do experimento. Calculou-se também a porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial (ICM) para cada tratamento, a partir da fórmula:  $ICM = [(C - N) / C] \times 100$ , onde C é a área da colônia do controle e N é a área da colônia no tratamento com o fungicida.

As variáveis área de colônia e porcentagem de inibição de crescimento micelial - PIC foram analisadas por meio de estatística descritiva dos dados, com ênfase em boxplots.

#### **4.2.6. Teste de Patogenicidade para avaliação da infestação de bulbilhos de alho por meio de discos de micélio de *Stromatinia cepivora* presentes em solo**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia e Plantas

Daninhas, da Universidade Federal de Viçosa, no Campus de Rio Paranaíba.

Foram coletados e peneirados seis litros de latossolo vermelho nas proximidades do *campus*, nas coordenadas 19°13'04.9"S 46°13'28.1"W. O latossolo foi acondicionado em sacos plásticos e autoclavado a 120°C por 60 minutos. O mesmo foi mantido em descanso por 24 h e novamente autoclavado nas mesmas condições.

Para o teste de patogenicidade, além dos bulbilhos de alho (*Allium sativum* L.), foram utilizadas também sementes de cebola (*Allium cepa* L.), tendo em vista que o fungo *Stromatinia cepivora* acomete ambas as culturas, seria possível observar a infestação em outra cultura, também muito afetada pelo escleródio.

Para a montagem do experimento, foram utilizados copos descartáveis com volume de 500 mL para o plantio de sementes de cebola e bulbilhos de alho. Previamente, foram feitos três orifícios na base de cada copo para drenagem da água. O solo anteriormente autoclavado, foi acondicionado nos copos descartáveis mantendo cerca de ¼ do volume do recipiente vazio.

Cada tratamento teve seis repetições e foram dispostos de forma inteiramente casualizada. Em cada copo, foram colocadas sete sementes de cebola ou três bulbilhos de alho. Cinco discos de micélio de *S. cepivora* com 15 dias de idade foram adicionados em metade dos copos utilizados.

Os copos foram dispostos em bandejas plásticas armazenadas em incubadora BOD a 17 °C com fotoperíodo de 12 h. As bandejas foram embebidas pelo volume de 1000 mL de água destilada cada, de forma que a água infiltrasse no solo por capilaridade. A umidade foi verificada diariamente, sendo adicionado volume de 1000 mL de água destilada em cada bandeja assim que o solo absorvia toda a água disposta na bandeja.

Após a germinação das sementes e bulbilhos, as mudas em excesso em cada copo foram removidas para que apenas uma plântula desenvolvesse em cada copo. A Tabela 5 apresenta os códigos e as condições de plantio realizadas.

Tabela 5 - Experimentos realizados no Teste de Patogenicidade.

Códigos	Composição do Experimento
CM1 a CM6	Solo com sementes de cebola e presença de discos de micélio.
CS1 a CS6	Solo com sementes de cebola e ausência de discos de micélio.
AM1 a AM6	Solo com bulbilhos de alho e presença de discos de micélio.
AS1 a AS6	Solo com bulbilhos de alho e ausência de discos de micélio.

O experimento foi mantido até o aparecimento dos sintomas característicos

da podridão branca.

#### **4.2.7. Efeito do revestimento de bulbilhos de alho com fungicidas incorporados a membranas poliméricas na incidência de podridão branca**

O bioensaio foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia e Plantas Daninhas, da Universidade Federal de Viçosa, Campus de Rio Paranaíba.

Foram coletados e peneirados vinte e sete litros de latossolo vermelho nas proximidades do *campus* nas coordenadas 19°13'04.9"S 46°13'28.1"W. O latossolo foi acondicionado em sacos plásticos e autoclavado a 120 °C por 60 minutos. O mesmo foi mantido em descanso por 24 h e novamente autoclavado nas mesmas condições.

Os escleródios de *Stromatinia cepivora* utilizados no experimento foram obtidos de solo naturalmente infestado, coletado no município de Rio Paranaíba. Para desinfestação dos mesmos, os escleródios foram imersos em álcool etílico 50% (Álcool por Volume) por 30 segundos, seguido de imersão em hipoclorito de sódio a 0,5% v/v por 60 segundos seguido de enxágue em água deionizada e secagem em papel de germinação autoclavado. Os escleródios foram mantidos acondicionados por três meses, enterrados para quebra de dormência constitutiva.

Antes do experimento, os bulbilhos de alho foram lavados em água corrente e secos a temperatura ambiente. Em seguida, foram imersos durante 120 segundos em uma solução de hipoclorito de sódio a 2% para desinfestação superficial dos mesmos, lavados em água destilada autoclavada e dispostos em papel germinativo previamente esterilizado a 100 °C por 60 minutos.

Para a montagem do experimento, copos plásticos de 500 mL de capacidade foram preenchidos com 300 gramas de latossolo autoclavado. O preenchimento ocorreu em duas etapas: na primeira, o solo foi adicionado até a metade do copo; na segunda, 3,30 ou 300 escleródios foram misturados ao restante do solo e colocados no copo o restante do solo para que se completasse o volume de 300 mL de solo por copo.

Os copos foram dispostos em bandejas plásticas e levados à incubadora do tipo BOD para posterior plantio dos bulbilhos de alho revestidos. A descrição dos tratamentos encontra-se na Tabela 6. Os bulbilhos foram revestidos nas membranas e embebidos nas soluções preparadas por 60 segundos cada e mantidos para secagem por 120 minutos a temperatura ambiente.

Ao final do período de secagem, foram plantados dois bulbilhos por copo, e as bandejas levadas à incubadora BOD a  $17\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  com fotoperíodo de 12 h de luz. As bandejas foram preenchidas com 2 litros de água destilada cada e verificadas a cada 72 h para reposição de água e verificação do crescimento.

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado com três repetições cada unidade experimental. Uma repetição foi considerada como um copo contendo duas plantas.

Tabela 6 - Revestimentos usados para proteção à planta de alho contra *Stromatinia cepivora*.

Concentração de escleródio no solo (escl. /g de solo)	Concentração de princípio ativo fungicida (mg/L)	Tratamento	Composição do Tratamento
0,01	-	1.1 a 1.3	Bulbilho de alho não tratado
	-	2.1 a 2.3	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita <sup>®</sup> a 2%
	62,0	3.1 a 3.3	Bulbilho de alho embebido em solução de Triadimenol
	62,0	4.1 a 4.3	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita <sup>®</sup> a 2% a partir de solução de Triadimenol (62 mg/L)
	36,0	5.1 a 5.3	Bulbilho de alho embebido em solução de Tebuconazol
	36,0	6.1 a 6.3	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita <sup>®</sup> a 2% a partir de solução de Tebuconazol (36 mg/L)
	62,0 36,0	7.1 a 7.3	Bulbilho de alho embebido em solução combinada de Triadimenol (62 mg/L) e Tebuconazol (36 mg/L)
	62,0 36,0	8.1 a 8.3	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita <sup>®</sup> a 2% a partir de solução combinada de Triadimenol (62 mg/L) e Tebuconazol (36 mg/L)
	1 kg de ativo/100 kg de alho	9.1 a 9.3	Bulbilho de alho embebido em solução de Iprodiona (Controle Positivo)
	-	10.1 a 10.3	Solo sem bulbilho de alho (Controle Negativo)

	-	11.1 a 11.3	Bulbilho de alho não tratado
	-	12.1 a 12.3	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2%
	62,0	13.1 a 13.3	Bulbilho de alho embebido em solução de Triadimenol
	62,0	14.1 a 14.3	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2% a partir de solução de Triadimenol (62 mg/L)
	36,0	15.1 a 15.3	Bulbilho de alho embebido em solução de Tebuconazol
	36,0	16.1 a 16.3	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2% a partir de solução de Tebuconazol (36 mg/L)
0,1	62,0 36,0	17.1 a 17.3	Bulbilho de alho embebido em solução combinada de Triadimenol (62 mg/L) e Tebuconazol (36 mg/L)
	62,0 36,0	18.1 a 18.3	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2% a partir de solução combinada de Triadimenol (62 mg/L) e Tebuconazol (36 mg/L)
	1 kg de ativo/100 kg de alho	19.1 a 19.4	Bulbilho de alho embebido em solução de Iprodiona (Controle Positivo)
	-	20.1 a 20.3	Solo sem bulbilho de alho (Controle Negativo)
		21.1 a 21.3	Bulbilho de alho não tratado
1,0	-	22.1 a 22.3	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2%
	62,0	23.1 a 23.3	Bulbilho de alho embebido em solução de Triadimenol
	62,0	24.1 a 24.3	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2% a partir de solução de Triadimenol (62 mg/L)
	36,0	25.1 a 25.3	Bulbilho de alho embebido em solução de Tebuconazol
	36,0	26.1 a 26.3	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2% a partir de solução de Tebuconazol (36

			mg/L)
62,0 36,0	27.1 a 27.3		Bulbilho de alho embebido em solução combinada de Triadimenol (62 mg/L) e Tebuconazol (36 mg/L)
62,0 36,0	28.1 a 28.3		Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2% a partir de solução combinada de Triadimenol (62 mg/L) e Tebuconazol (36 mg/L)
1 kg de ativo/100 kg de alho	29.1 a 29.3		Bulbilho de alho embebido em solução de Iprodiona (Controle Positivo)
-	30.1 a 30.3		Solo sem bulbilho de alho (Controle Negativo)

Os dados das variáveis índice de brotação, índice de incidência de sintomas e índice de mortalidade dos bulbilhos foram submetidos à análise dos dados, utilizando o software R versão 4.1.2 e sujeitos à análise de variância (ANOVA).

### 4.3. Caracterização estrutural dos materiais híbridos orgânico-inorgânicos

#### 4.3.1. Difração de Raios X no pó (DRXP)

Para a análise via difratometria de raios X no pó (DRXP) foi utilizado um difratômetro de raios X Shimadzu modelo XRD-6000. O equipamento possui um monocromador de cristal de grafite que seleciona a radiação utilizada de Cu-K $\alpha_1$  com  $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ . A corrente elétrica da fonte e o potencial utilizados foram respectivamente, de 30 mA e de 30 kV. Os difratogramas resultantes da análise, foram obtidos entre a faixa de varredura ( $2\theta$ ) de 4° a 70°, com passo de 1,0° por minuto.

Para o preparo das amostras, as soluções foram aplicadas em placas de Petri individualmente e mantidas em dessecador com sílica gel, sem o uso de vácuo e com proteção da luz, até que a água contida nas placas evaporasse e houvesse a formação das membranas sintetizadas. Em alguns casos, as membranas tiveram de ser refeitas em superfícies de vidro esterilizado previamente com álcool 70° ABV, deixados para secagem à temperatura ambiente, para que o filme formado se desprendesse melhor das superfícies em que foi aplicado, para posterior análise.

#### **4.3.2. Espectrofotometria de absorção molecular na região do infravermelho com transformada de Fourier e acessório de reflectância total atenuada (FTIR-ATR)**

Para a análise via espectrofotometria na região do infravermelho com transformada de Fourier e acessório de reflectância total atenuada (FTIR-ATR) foi utilizado o espectrofotômetro Jasco modelo FTIR 4100 com acessório de ATR acoplado. Os espectros obtidos pela análise foram resultantes de 256 varreduras com resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$  e intervalo de comprimento de onda de  $4000$  a  $400\text{ cm}^{-1}$ .

A espectrofotometria na região do infravermelho com transformada de Fourier e acessório de reflectância total atenuada (FTIR-ATR) foi utilizada para a análise dos modos vibracionais característicos dos constituintes dos materiais híbridos, como por exemplo, da matriz lamelar.

#### **4.3.3. Análise termogravimétrica com calorimetria exploratória diferencial e espectrometria de massas (TGA-DSC-MS)**

As análises termogravimétricas foram realizadas utilizando termobalança Netzsch STA 409 PC – Luxx para análise simultânea de TG-DSC acoplado a um espectrômetro de massas Netzsch modelo QMS 403 C – Aeölos para a detecção dos gases liberados da amostra. Para a análise foram utilizados aproximadamente 5 mg de amostra, dispostas em porta amostra de alumina.

As amostras foram submetidas a uma taxa de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  em fluxo de ar sintético (80%  $\text{N}_2$  e 20%  $\text{O}_2$ ) de  $100\text{ cm}^3\text{ min}^{-1}$ , e intervalo de temperatura de  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $1000\text{ }^{\circ}\text{C}$ , com fluxo de gás passando pela amostra de  $50\text{ mL min}^{-1}$ , de ar sintético.

#### **4.3.4. Espectroscopia vibracional Raman**

As análises de espectroscopia vibracional Raman foram conduzidas no Laboratório de Nanoestruturas Plasmônicas (LabNano), da Universidade Federal de Juiz de Fora.

As membranas, previamente sintetizadas, foram dispostas em finas camadas em uma superfície esterilizada e deixadas para secagem à temperatura ambiente. Em seguida, as membranas foram maceradas para posterior análise.

As análises foram realizadas em Espectrômetro FT-Raman, modelo RFS-100/S da Bruker Optics, utilizando laser Nd:YAG com excitação em  $1064\text{ nm}$ . A

potência utilizada foi de 100 mW, com resolução de 4 cm<sup>-1</sup> e 1024 scans.

#### 4.3.5. Microscopia de luz

As análises de microscopia de luz foram realizadas utilizando um microscópio estereoscópico (marca Physis) com aumento de 40 vezes e as imagens obtidas foram registradas com câmera de celular. Foi utilizado o software Imagej® para o cálculo da espessura dos revestimentos.

Os bulbilhos utilizados foram revestidos com os materiais híbridos selecionados e então mantidos em temperatura ambiente por 24 h para completa secagem do revestimento. Em seguida, foram feitas secções longitudinais nos bulbilhos, à mão livre, com lâmina de aço, para a observação dos revestimentos formados a partir dos materiais híbridos sintetizados, com o auxílio de microscópio estereoscópico. Os cortes obtidos foram dispostos em papel quadriculado para melhor visualização.

### 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados são apresentados em cinco subseções, como disposto a seguir:

I – Efeito do revestimento dos bulbilhos de alho no índice de brotação e na formação da parte aérea e do sistema radicular das plantas.

II – Efeito do revestimento dos bulbilhos de alho com fungicidas associados a materiais orgânico-inorgânicos sobre a inibição do crescimento micelial de *Stromatinia cepivora*.

III – Avaliação da infestação de bulbilhos de alho por meio de discos de micélio de *Stromatinia cepivora* presentes em solo

IV – Caracterização dos materiais híbridos orgânico-inorgânicos pela análise dos resultados obtidos a partir das técnicas de DRXP (Difratometria de raios X em pó), FTIR-ATR (Espectrofotometria na região do infravermelho com transformada de Fourier e acessório de reflectância total atenuada), TGA-DSC-MS (Análises termogravimétricas), Espectroscopia Raman e Microscopia de luz.

V – Avaliação do efeito inibitório dos revestimentos contendo ativos fungicidas incorporados em bulbilhos de alho cultivados em solo infestado pelo *Stromatinia cepivora*.

### 5.1. Efeito do revestimento dos bulbilhos de alho no índice de brotação e na formação da parte aérea e do sistema radicular das plantas

Após 15 dias do plantio, a partir do acompanhamento diário dos cultivares foi possível determinar os índices de brotação para cada um dos tratamentos. A Tabela 7 apresenta os índices de brotação verificados a partir de cada tratamento.

Dentre os tratamentos utilizados para revestimento nos bulbilhos de alho apresentados no tópico 4.2.1, cinco tratamentos foram descartados previamente ao revestimento, uma vez que continham soluções supersaturadas de Laponita® a 5%. Como não se completou a solubilização, o uso das mesmas no revestimento dos bulbilhos foi descartado, restando, portanto, 15 tratamentos que obtiveram resultados satisfatórios em relação à cobertura dos bulbilhos e uniformidade dos revestimentos, sendo logo, utilizados nos testes de germinação. Os cinco tratamentos descartados aparecem na Tabela 7 sem valores de índice de brotação.

Tabela 7 - Composição dos tratamentos e índices de brotação dos bulbilhos de alho revestidos.

Tratamentos	Filmes	Composição dos tratamentos	Índice de Brotação (%)
1	A1	Alginato de sódio 2%	86
2	A2	Alginato de sódio 5%	43
3	A3	Carboximetilcelulose 1%	100
4	A4	Carboximetilcelulose 2%	100
5	A5	Laponita® 1%	100
6	A6	Laponita® 2%	100
7	A7	Laponita® 5%	-
8	A8	Alginato de sódio 2% + Laponita® 1%	83
9	A9	Alginato de sódio 2% + Laponita® 2%	71
10	A10	Alginato de sódio 2% + Laponita® 5%	-
11	A11	Alginato de sódio 5% + Laponita® 1%	29
12	A12	Alginato de sódio 5% + Laponita® 2%	86
13	A13	Alginato de sódio 5% + Laponita® 5%	-
14	A14	Carboximetilcelulose 1% + Laponita® 1%	100
15	A15	Carboximetilcelulose 1% + Laponita® 2%	100
16	A16	Carboximetilcelulose 1% + Laponita® 5%	-
17	A17	Carboximetilcelulose 2% + Laponita® 1%	86
18	A18	Carboximetilcelulose 2% + Laponita® 2%	100
19	A19	Carboximetilcelulose 2% + Laponita® 5%	-
20	BR	Sem revestimento	71

Analisando os dados da Tabela 7, as membranas que continham Laponita® e/ou Carboximetilcelulose, em sua composição foram as que apresentaram os maiores índices de brotação (variando de 86% a 100%). No entanto, também foi

avaliada a uniformidade, viscosidade e escoamento na superfície dos bulbilhos, previamente ao plantio, a fim de determinar as melhores membranas para incorporar, posteriormente, os fungicidas para a realização das próximas etapas do trabalho.

Para isto, todos os revestimentos foram constituídos de argila Laponita<sup>®</sup>, dos polímeros Alginato de sódio ou Carboximetilcelulose e de suas combinações, sendo que as concentrações dos tratamentos foram definidas a partir de testes preliminares de revestimentos na superfície dos bulbilhos, bem como pela revisão de trabalhos como o de DÁVILA; D'ÁVILA (2017), em que foram testadas concentrações semelhantes.

Com base nos maiores índices de brotação e na uniformidade das membranas sintetizadas, foram selecionados para experimentos posteriores os tratamentos contendo alginato de sódio a 2% (A1), carboximetilcelulose a 2% (A4), alginato de sódio a 2% e Laponita<sup>®</sup> a 2% (A9) e carboximetilcelulose a 2% e Laponita<sup>®</sup> a 2% (A18).

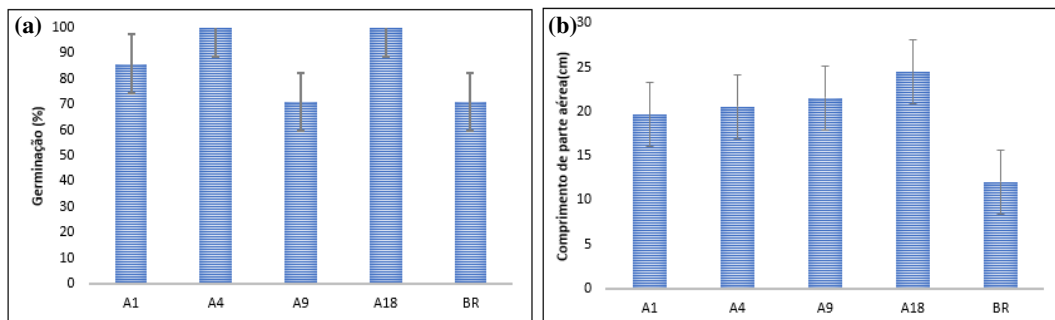


Figura 4 – Germinação (4a) e comprimento de parte aérea (4b) de alho cultivar Ito revestido com: A1 = alginato de sódio a 2%, A4 = carboximetilcelulose a 2%, A9 = alginato de sódio a 2% e Laponita<sup>®</sup> a 2%, A18 = carboximetilcelulose a 2% e Laponita<sup>®</sup> a 2% e BR = Controle. ( $P < 0,05$ ), (n=5).

Plântulas oriundas de bulbilhos revestidos com materiais orgânico-inorgânicos apresentaram maiores comprimentos da parte aérea em comparação com o controle. O revestimento de bulbilhos de alho com carboximetilcelulose a 2% e Laponita<sup>®</sup> a 2% (A18) aumentou em 49,6% o crescimento da parte aérea em relação ao controle (Figura 4b).

Em relação ao percentual de germinação, todos os bulbilhos revestidos com os tratamentos carboximetilcelulose a 2% (A4) e carboximetilcelulose a 2% e Laponita<sup>®</sup> (A18) germinaram e se desenvolveram. A menor porcentagem de germinação entre as membranas selecionadas foi verificada no tratamento de alginato de sódio a 2% e Laponita<sup>®</sup> a 2% (A9) e no controle, em que 29% dos bulbilhos não germinaram.

Este resultado sugere que a proteção oferecida ao bulbilho por meio do revestimento tenha corroborado no processo de germinação, bem como no crescimento da parte aérea em relação aos bulbilhos de controle que não receberam nenhum tipo de tratamento. Como descrito na literatura, o revestimento de sementes pode auxiliar significativamente no aumento do vigor da semente, refletindo no crescimento dos cultivares e fornecendo proteção à semente e à manutenção da cultura (ZENG; SHI, 2009).

## 5.2. Efeito do revestimento dos bulbilhos de alho com fungicidas associados a materiais orgânico-inorgânicos sobre a inibição do crescimento micelial de *Stromatinia cepivora*

A Tabela 8 apresenta as áreas de crescimento micelial e as porcentagens de inibição de crescimento (PIC) para cada tratamento realizado.

Tabela 8 - Áreas de colônia e porcentagens de inibição de crescimento (PIC).

Fungicida utilizado	Tratamentos	Composição dos Tratamentos	Área (cm <sup>2</sup> )	PIC (%)
-	1.1 a 1.4	Bulbilho de alho não tratado	192,05	0,0
-	2.1 a 2.4	Solução de Alginato de sódio a 2%	192,05	0,0
-	3.1 a 3.4	Solução de Carboximetilcelulose a 2%	192,05	0,0
-	4.1 a 4.4	Solução de Alginato de sódio a 2% e Laponita <sup>®</sup> a 2%	192,05	0,0
-	5.1 a 5.4	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita <sup>®</sup> a 2%	192,05	0,0
Triadimenol	6.1 a 6.4	Bulbilho de alho não tratado	131,5	31,5
Triadimenol	7.1 a 7.4	Solução de Alginato de sódio a 2%	133,7	30,4
Triadimenol	8.1 a 8.4	Solução de Carboximetilcelulose a 2%	116,9	39,1
Triadimenol	9.1 a 9.4	Solução de Alginato de sódio a 2% e Laponita <sup>®</sup> a 2%	161,5	15,9
Triadimenol	10.1 a 10.4	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita <sup>®</sup> a 2%	145,7	24,1
Boscalida	11.1 a 11.4	Bulbilho de alho não tratado	192,05	0,0
Boscalida	12.1 a 12.4	Solução de Alginato de sódio a 2%	192,05	0,0
Boscalida	13.1 a 13.4	Solução de Carboximetilcelulose a 2%	192,05	0,0

Boscalida	14.1 a 14.4	Solução de Alginato de sódio a 2% e Laponita® a 2%	192,05	0,0
Boscalida	15.1 a 15.4	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2%	192,05	0,0
Tebuconazol	16.1 a 16.4	Bulbilho de alho não tratado	110,7	42,4
Tebuconazol	17.1 a 17.4	Solução de Alginato de sódio a 2%	114,7	40,4
Tebuconazol	18.1 a 18.4	Solução de Carboximetilcelulose a 2%	88,0	54,2
Tebuconazol	19.1 a 19.4	Solução de Alginato de sódio a 2% e Laponita® a 2%	141,2	26,5
Tebuconazol	20.1 a 20.4	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2%	68,3	64,5
Iprodiona	21.1 a 21.4	Bulbilho de alho não tratado (Controle Positivo)	23,7	87,7
-	22	Placa de Petri contendo meio BDA (Controle Negativo)	0,5	99,8
-	23	Placa de Petri contendo meio BDA e disco de micélio (Controle Negativo)	192,0	0,00
-	24	Placa de Petri contendo meio BDA e bulbilho de alho não tratado (Controle Negativo)	0,00	100,0

Segundo os dados dispostos na Tabela 8, os bulbilhos de alho revestidos apenas com os materiais híbridos orgânico-inorgânicos, sem a presença de fungicidas não inibiram o crescimento micelial de *S. cepivora* (Tabela 8). Da mesma forma, nenhuma inibição foi observada a partir dos revestimentos contendo o fungicida Boscalida (Tabela 8), o que pode estar relacionado à baixa concentração utilizada (4,6 mg/L) e sua baixa fixação nos revestimentos em que foi incorporado.

Os bulbilhos de alho analisados no controle positivo com o ativo fungicida Iprodiona apresentaram efeito inibitório de 87,7% utilizando para o tratamento dos bulbilhos a dose comercial de 1 kg de produto para 100 kg de bulbilhos, proporcionalmente. Dentre os tratamentos utilizados, o revestimento contendo carboximetilcelulose a 2%, Laponita® a 2% e tebuconazol a 36 mg/L foi o que apresentou a maior porcentagem de inibição de crescimento - PIC (64,5%), bem como menor área de colônia de *S. cepivora* (68,3 cm<sup>2</sup>), tendo um comportamento inibitório significativo tendo em vista a baixa concentração de ativo fungicida adicionado ao

revestimento (36 mg/L).

Além disso, os tratamentos à base do ativo tebuconazol foram os que obtiveram maiores porcentagens médias de inibição do crescimento micelial e permitiram menor crescimento médio dos discos de micélio nas placas em relação aos demais ativos fungicidas testados. Isso se deve, ao caráter antifúngico do tebuconazol, fungicida triazólico muito utilizado para o controle do *S. cepivora* na família *Allium* (MARÍN et al, 2013). Segundo Domingos et al. (2018), comparando resultados do uso de tebuconazol com outros fungicidas em testes de inibição de crescimento micelial, constatou-se que o tebuconazol apresentou maior eficiência inibitória o que pode estar relacionado com a estrutura molecular do ativo.

A Figura 5 apresenta a análise descritiva por gráficos tipo “boxplot” dos tratamentos utilizados no teste de inibição de crescimento micelial em relação à área de colônia observada ao final do experimento.

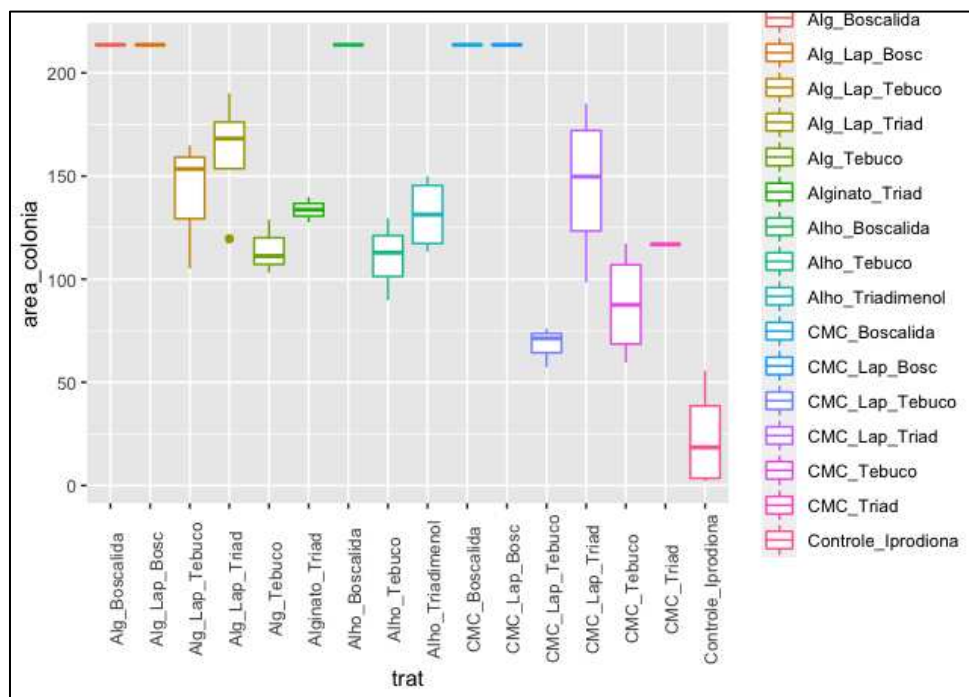


Figura 5 – Gráfico tipo “boxplot” sobre os tratamentos utilizados no teste de inibição de crescimento micelial e a área de colônia observada ao final do experimento.

Observando a Figura 5, é possível confirmar que o revestimento de carboximetilcelulose a 2%, Laponita® a 2% e tebuconazol a 36 mg/L foi o que apresentou maior efeito inibitório para o crescimento micelial do *S. cepivora*, seguido pelos revestimentos de carboximetilcelulose a 2% e tebuconazol a 36 mg/L (54,2%) e alginato de sódio a 2% e tebuconazol a 36 mg/L (40,4%).

Já os revestimentos contendo os ativos Triadimenol apresentaram similaridade nos resultados de inibição, sendo verificado um crescimento micelial superior a 50% de área de colônia em todas as amostras, tendo um percentual de inibição de crescimento micelial médio de 28,2%.

A Figura A.1, no apêndice A apresenta as placas dos tratamentos que apresentaram os maiores resultados de PIC e o controle positivo realizado com o ativo iprodiona, todos, ao final do teste de inibição de crescimento micelial. Uma das placas de repetição do tratamento 20 (carboximetilcelulose a 2%, Laponita® a 2% e tebuconazol a 36 mg/L) apresentou contaminação pelo fungo *Penicillium* sp., o que impediu seu registro.

Cabe lembrar que a concentração utilizada do ativo tebuconazol na síntese dos revestimentos (36 mg/L) foi 5555,5 vezes inferior a utilizada comercialmente (200 g/L). Sendo assim, caso comprovado seu comportamento inibitório em bioensaios, o estudo desta concentração de ativo aplicado em materiais híbridos orgânico-inorgânicos pode sugerir uma possível redução da dose utilizada do produto comercial.

### **5.3. Avaliação da infestação de bulbilhos de alho por meio de discos de micélio de *Stromatinia cepivora* presentes em solo**

O teste de patogenicidade foi realizado com o objetivo de verificar a incidência da doença Podridão Branca em condições favoráveis para o fungo, estabelecidas em câmara BOD, utilizando solo infestado com discos de micélio na concentração de 5 escleródios/100 g de solo utilizando sementes de cebola (*Allium cepa* L.) e bulbilhos de alho (*Allium sativum* L.) sem quaisquer tratamentos prévios.

O teste foi finalizado assim que se perceberam sintomas característicos da Podridão Branca, em 08 plântulas de *Allium sativum* L, sendo elas, tanto provenientes de solo infestado com discos de micélio de *S. cepivora*, quanto de solo sem adição dos escleródios, o que permite concluir que os bulbilhos ou o próprio solo utilizado estivessem contaminados com *S. cepivora* antes do preparo do experimento.

Entre os sintomas característicos da doença, alguns deles são o amarelecimento e morte das folhas mais velhas, apodrecimento dos bulbos, presença de escleródios, ou seja, pontos enegrecidos na superfície dos bulbos e no pseudocaule, bem como a facilidade com que as plântulas se desprendem do solo assim que a doença as acomete (REIS; OLIVEIRA, 2013).

Na Figura 6, os pontos escuros evidenciados pelas setas vermelhas indicam os escleródios desenvolvidos na superfície dos bulbilhos.



Figura 6 – Bulbilhos e raízes acometidos pelo *S. cepivora* durante teste de infestação.

#### 5.4. Caracterização dos Materiais Híbridos Orgânico-Inorgânicos

Dentre as membranas híbridas sintetizadas e descritas na Tabela 4 foram selecionadas aquelas que apresentaram maior inibição de crescimento micelial de *S. cepivora* para a realização da caracterização dos revestimentos. Além delas, avaliou-se também as membranas produzidas sem incorporação de fungicidas (controles).

##### 5.4.1. Análises por difração de raios X no pó (DRXP)

A técnica Difração de Raios X no Pó (DRXP) permitiu a identificação de fases cristalinas nos materiais híbridos orgânico-inorgânicos sintetizados bem como a avaliação do processo de esfoliação, analisando o arranjo estrutural no interior das lamelas. Ou seja, a partir da difratometria de raios X é possível inferir sobre a esfoliação do material tomando como premissa que o grau de organização do sólido esfoliado é muito inferior ao observado nos sólidos lamelares precursores (SILVÉRIO, 2009).

Nos difratogramas da argila Laponita<sup>®</sup> pura (Figuras 7b, 8b, 9b e 10b) observa-se a presença um pico largo, referente à difração do plano de átomos (001), em  $2\theta$  igual a  $6,78^\circ$ . A largura apresentada por este pico é justificada pela baixa organização estrutural na direção (eixo *c*) de empilhamento das lamelas da Laponita<sup>®</sup> (PINTO, 2016; GONZAGA, 2020). Segundo Baumhardt Neto (2003), os materiais com baixa cristalinidade geram picos pequenos e largos no difratograma.

Nos difratogramas do polímero carboximetilcelulose sódica (Figuras 8c e 10c)

há um pico característico do polímero na região de  $2\theta$  igual a  $20^\circ$  (BURGARDT, 2012). Já o alginato de sódio apresenta estrutura amorfa, caracterizada pela ausência de picos de difração e a presença de uma alta linha de base, como evidenciado nas Figuras 7c e 9c. Ambos os compostos, alginato de sódio e a carboximetilcelulose sódica, apresentaram caráter predominantemente amorfo, ao não ser possível observar picos característicos de fases cristalinas (Figuras 7c,d,e; 8c,d,e; 9c,d,e; 10 c,d,e).

Nos difratogramas 7(d), 7(e), 8(d), 8(e), 9(d), 9(e), 10(d) e 10(e), são observados picos de alta cristalinidade, assinalados pelo símbolo (\*), característicos da presença de alumínio metálico proveniente do porta-amostra do equipamento (GOMES, 2021). Também é perceptível diminuição da intensidade dos picos característicos dos materiais precursores, possivelmente em razão do efeito de diluição da matriz polimérica e da interação entre os componentes do revestimento. Tal ocorrência pode ser ilustrada pela redução dos picos referentes a Laponita<sup>®</sup> pura, carboximetilcelulose sódica e triadimenol (Figura 8d).

Outra possibilidade para o não aparecimento dos picos de difração de tebuconazol e triadimenol nos difratogramas dos materiais híbridos, pode ser justificada por uma interação destes com os demais precursores das membranas, o que justificaria a mudança encontrada nos perfis dos espectros Raman (apresentados posteriormente) (SANTOS, 2002; POFFO, 2012).

Nos difratogramas das Figuras 7(a) e 8(a) para o triadimenol são observados inúmeros picos de difração, principalmente na região  $2\theta$  entre  $5^\circ$  e  $45^\circ$ . Como visto no tebuconazol, os picos são intensos com uma estreita relação na largura na meia altura, característica de materiais cristalinos. Nos difratogramas das Figuras 7(d), 7(e), 8(d) e 8(e), em que há a mistura de triadimenol com os demais precursores, os picos de difração foram menores e mais alargados, característicos de materiais amorfos.

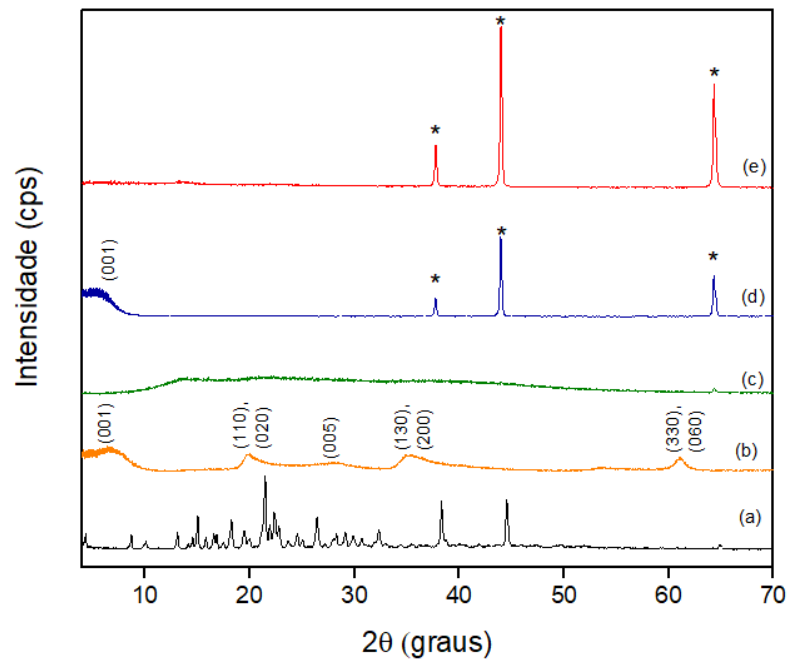


Figura 7 – Difractogramas para (a) triadimenol; (b) Laponita®; (c) alginato de sódio; (d) Membrana composta por alginato de sódio a 2%, Laponita® a 2% e triadimenol a 62 mg/L; (e) Membrana composta por alginato de sódio a 2% e triadimenol a 62 mg/L.

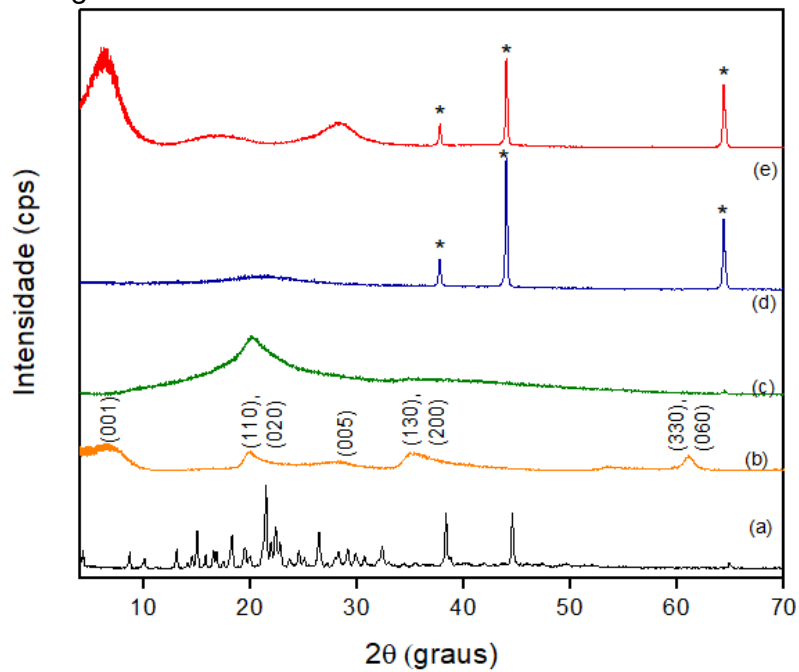


Figura 8 – Difractogramas para: (a) triadimenol; (b) Laponita®; (c) carboximetilcelulose sódica; (d) Membrana composta por carboximetilcelulose sódica a 2%, Laponita® a 2% e triadimenol a 62 mg/L; (e) Membrana composta por carboximetilcelulose sódica a 2% e triadimenol a 62 mg/L.

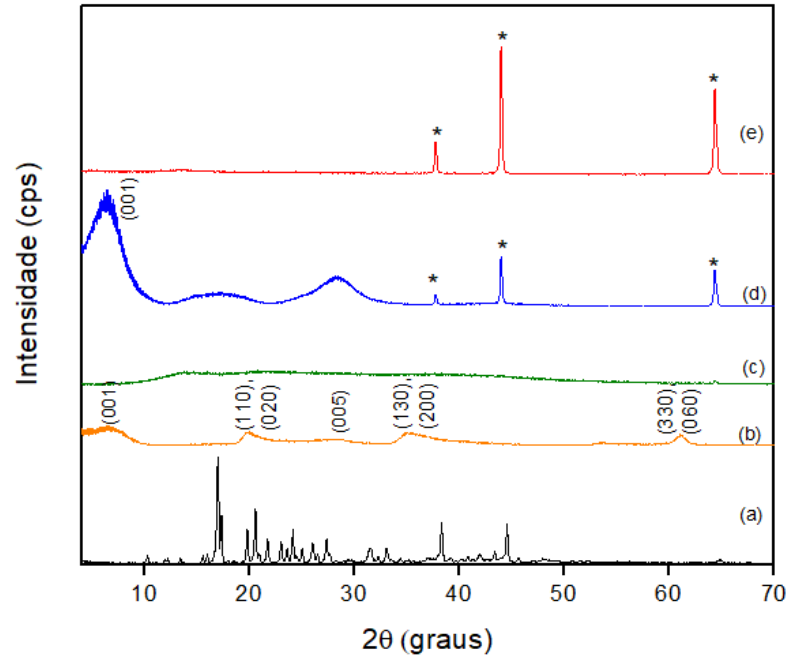


Figura 9 – Difratoformas para: (a) tebuconazol; (b) Laponita®; (c) alginato de sódio; (d) Membrana composta por alginato de sódio a 2%, Laponita® a 2% e tebuconazol a 36 mg/L; (e) Membrana composta por alginato de sódio a 2% e tebuconazol a 36 mg/L.

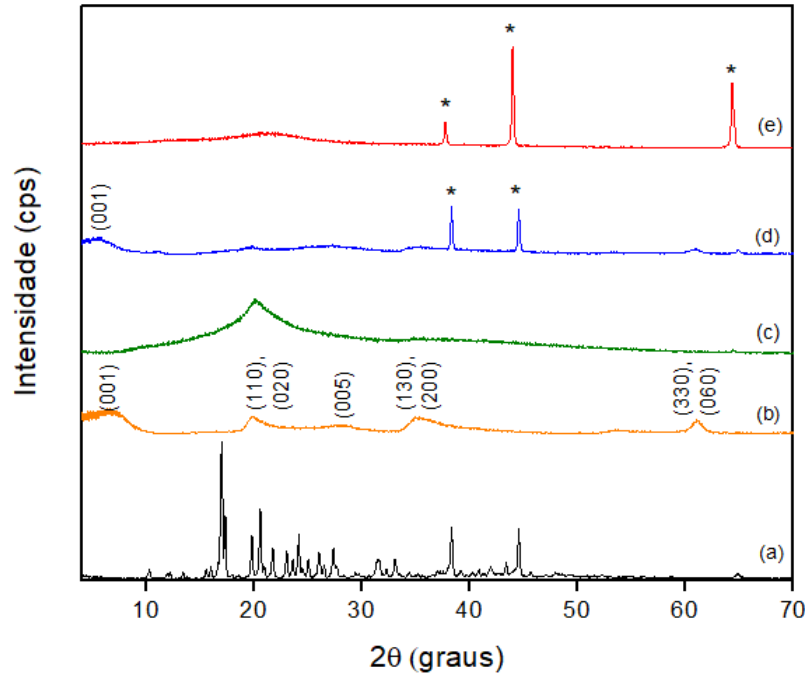


Figura 10 – Difratoformas para: (a) tebuconazol; (b) Laponita®; (c) carboximetilcelulose sódica P.A.; (d) Membrana composta por carboximetilcelulose sódica a 2%, Laponita® a 2% e tebuconazol a 36 mg/L; (e) Membrana composta por carboximetilcelulose sódica a 2% e tebuconazol a 36 mg/L.

Os difratogramas do fungicida tebuconazol (Figuras 9a e 10a) apresentam

picos bem definidos característicos da cristalinidade do composto. Os principais picos de difração ocorrem em  $2\theta$  no intervalo entre  $15^\circ$  e  $45^\circ$ . Nos difratogramas das Figuras 9(d), 9(e), 10(d) e 10(e), cujos compostos possuem o ativo presente na composição, os picos de difração característicos do tebuconazol e dos demais precursores desaparecem, o que evidencia a possibilidade de amorfização dos materiais sintetizados e, ou, baixa concentração dos ativos no filme, inviabilizando a detecção das fases cristalinas dos fungicidas nas membranas poliméricas em que foram incorporados.

#### 5.4.2. Análises por espectrofotometria de absorção molecular na região do infravermelho com transformada de Fourier e acessório de reflectância total atenuada (FTIR-ATR)

Os espectros FTIR-ATR foram discutidos separadamente em relação ao fungicida incorporado aos materiais híbridos e aos materiais precursores utilizados para na composição das membranas sintetizadas. Na Tabela 9 são apresentadas as atribuições das bandas nos espectros de FTIR-ATR dos materiais precursores utilizados.

Tabela 9 - Atribuição de bandas para os precursores Carboximetilcelulose, Laponita<sup>®</sup> e Alginato de sódio presente nas membranas.

Carboximetilcelulose Sódica		Laponita <sup>®</sup>		Alginato de sódio	
Ligação	Nº de onda (cm <sup>-1</sup> )	Ligação	Nº de onda (cm <sup>-1</sup> )	Ligação	Nº de onda (cm <sup>-1</sup> )
O-H	3416	Mg-OH	3675	O-H	3401
C-H	2900	O-H	3438	-CH <sub>2</sub>	2928
COO <sup>-</sup> assim.	1609	O-H	1641	COO <sup>-</sup> assim.	1597
C-O	1414	Si-O	960	COO <sup>-</sup> sim.	1406
C-O	1320	Mg-OH-Mg	652	-CO	1298
C-O	1288	Si-O-Mg/	425	CO-C <sub>manur.</sub>	1079
C-OH	1070	Si-O-Si	425	-CO <sub>gulur.</sub>	1018
C-H	896	-	-	-CO <sub>gulur.</sub>	809

Disponível em:

[https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5152720/mod\\_resource/content/1/TABELA%20DE%20VALORES%20DE%20ABSOR%C3%87%C3%83O%20NO%20INFRVERMELHO.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5152720/mod_resource/content/1/TABELA%20DE%20VALORES%20DE%20ABSOR%C3%87%C3%83O%20NO%20INFRVERMELHO.pdf). Acesso em: 05 nov. 2021.

Nos espectros do alginato de sódio é verificada uma banda ampla de intensidade média na região de  $3401\text{ cm}^{-1}$  que corresponde à presença de ligações -OH na estrutura do polímero (Figuras 11c e 13c) (SÃO PAULO, 2021). A banda na região de  $2928\text{ cm}^{-1}$  está associada a vibrações de alongamento de -CH<sub>2</sub>.

Respectivamente, as bandas nas proximidades de  $1597\text{ cm}^{-1}$  e  $1406\text{ cm}^{-1}$  são características de vibrações assimétricas e simétricas de alongamento do grupo COO (XIAO, 2014). A banda em  $1298\text{ cm}^{-1}$  se refere a vibrações de estiramento de ligações -CO. Já as bandas em  $1079\text{ cm}^{-1}$  e  $1018\text{ cm}^{-1}$ , são características de vibrações de CO e CO-C presentes nos monômeros manurônico e gulurônico, respectivamente. Por fim, em  $809\text{ cm}^{-1}$  uma banda característica da presença de monômeros de ácido gulurônico na estrutura do alginato de sódio, também é observada (DERKACH et al., 2019; GOMES, 2021).

Nos espectros FTIR-ATR da Laponita<sup>®</sup> se observa uma banda de absorção em  $3675\text{ cm}^{-1}$  com baixa intensidade, característica de vibrações de alongamento de grupos MgOH (Figuras 11b, 12b, 13b e 14b). As bandas localizadas em  $3438\text{ cm}^{-1}$  e  $1641\text{ cm}^{-1}$  correspondem às vibrações de alongamento características de grupos hidroxila ( $\text{OH}^-$ ) na molécula da Laponita<sup>®</sup>, correspondentes as moléculas de água adsorvidas pela argila no processo de hidratação. Uma banda de forte intensidade evidenciada em  $960\text{ cm}^{-1}$ , corresponde as vibrações de alongamento das ligações Si-O presentes na molécula. Em  $652\text{ cm}^{-1}$ , uma banda de intensidade média ocorre devido à presença de vibrações de alongamento características de ligações do tipo Mg-OH-Mg na estrutura. Por fim, uma banda em  $425\text{ cm}^{-1}$  é atribuída à presença de ligações do tipo Si-O-Mg e Si-O-Si pela estrutura devido à proximidade e sobreposição das bandas no espectro (PÁLKOVÁ et al., 2010; GOMES, 2021).

Os espectros de triadimenol apresentam uma banda forte em  $3315\text{ cm}^{-1}$  (Figuras 11a e 12a), característica da presença de heteroaromático na estrutura, uma vez que o cloro está diretamente ligado ao anel aromático na molécula de triadimenol, além de nitrogênios cíclicos na composição da molécula. Na região de  $2959\text{ cm}^{-1}$ , uma banda de média intensidade evidencia a presença de carbonos alifáticos na estrutura. O triadimenol é um fungicida da classe dos triazóis, com estrutura caracterizada pela presença de ligações cíclicas compostas por nitrogênios, apresentando, portanto, uma forte banda em  $1489\text{ cm}^{-1}$  (ARAÑA et al., 2008). Por se tratar de um éter aromático, uma banda de intensidade forte é evidenciada em  $1232\text{ cm}^{-1}$  e outra em  $1015\text{ cm}^{-1}$ , características da presença de ligações C-O em éteres (SÃO PAULO, 2021). Devido as duas substituições no anel aromático serem na posição para, verifica-se uma banda de intensidade forte em  $823\text{ cm}^{-1}$  (SÃO PAULO, 2021).

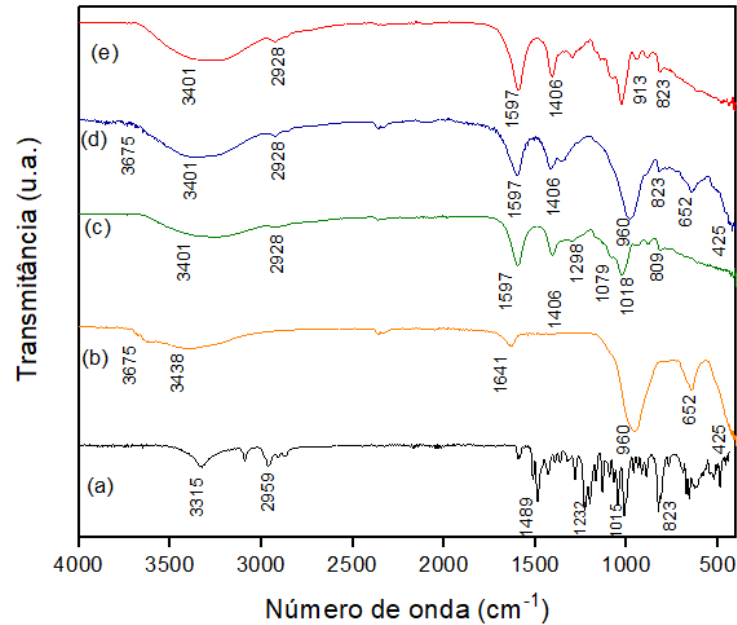


Figura 11 – Espectros FTIR-ATR para: (a) triadimenol P.A.; (b) Laponita®; (c) alginato de sódio; (d) Membrana composta por alginato de sódio a 2%, Laponita® a 2% e triadimenol a 62 mg/L; (e) Membrana composta por alginato de sódio a 2% e a 62 mg/L. triadimenol.

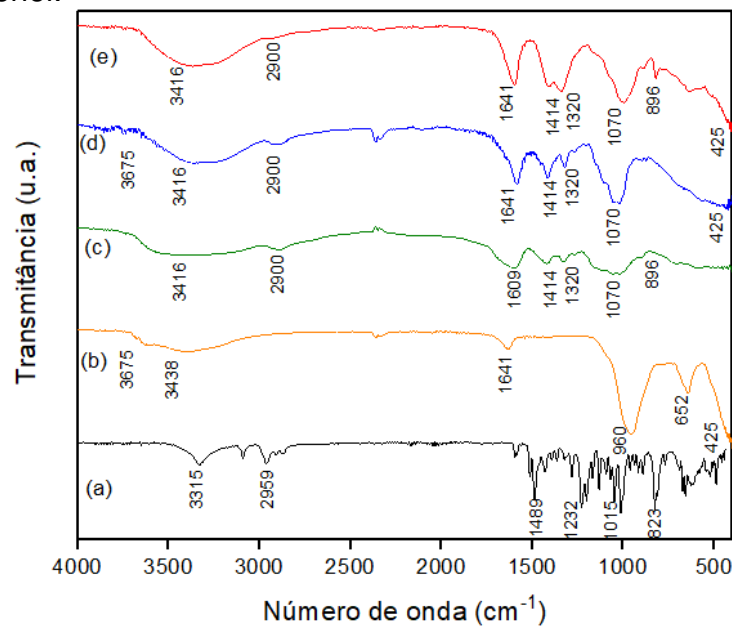


Figura 12 – Espectros FTIR-ATR para (a) triadimenol; (b) Laponita®; (c) carboximetilcelulose sódica; (d) Membrana composta por carboximetilcelulose sódica a 2%, Laponita® a 2% e triadimenol a 62 mg/L; (e) Membrana composta por carboximetilcelulose sódica a 2% e triadimenol a 62 mg/L.

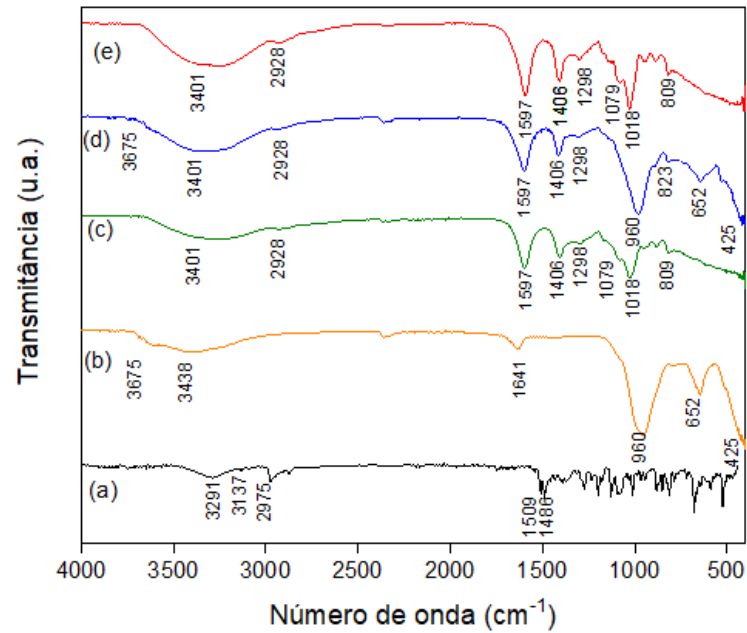


Figura 13 – Espectros FTIR-ATR para (a) tebuconazol; (b) Laponita®; (c) alginato de sódio; (d) Membrana composta por alginato de sódio a 2%, Laponita® a 2% e tebuconazol a 36 mg/L; (e) Membrana composta por alginato de sódio a 2% e tebuconazol a 36 mg/L.

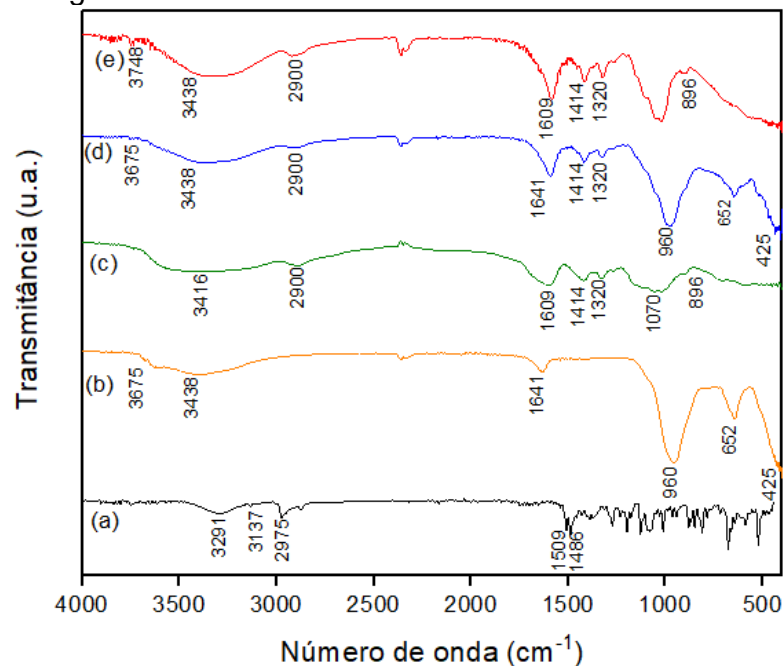


Figura 14 – Espectros FTIR-ATR para: (a) tebuconazol; (b) Laponita®; (c) carboximetilcelulose sódica; (d) Membrana composta por carboximetilcelulose sódica a 2%, Laponita® a 2% e tebuconazol a 36 mg/L; (e) Membrana composta por carboximetilcelulose sódica a 2% e tebuconazol a 36 mg/L.

Nos espectros de carboximetilcelulose sódica, a forte banda em  $3416\text{ cm}^{-1}$  indica vibrações de estiramento de ligações -OH. intra e intermoleculares das moléculas de carboximetilcelulose (Figuras 12c e 14c). Na região de  $2900\text{ cm}^{-1}$ ,

verifica-se uma banda de intensidade baixa característica de ligações C-H (TONG; XIAO; LIM, 2008). Já a banda de forte intensidade na região de  $1609\text{ cm}^{-1}$  ocorre devido à presença carboxilado de sódio ( $\text{COO}^-\text{Na}^+$ ) na molécula (LII et al., 2002). As bandas vizinhas em  $1414\text{ cm}^{-1}$  e  $1320\text{ cm}^{-1}$  são características da presença de ligações C-O nos grupos de ácidos carboxílicos da molécula (SÃO PAULO, 2021). A banda larga de média intensidade na região de  $1070\text{ cm}^{-1}$  caracteriza-se pela ligação entre C-OH e em  $896\text{ cm}^{-1}$ , por ligações de C-H (BURGARDT, 2012).

Os espectros FTIR-ATR do tebuconazol indicam vibrações relacionadas a presença de ligação -OH na molécula na região de  $3291\text{ cm}^{-1}$  (Figuras 13e, 14e)(CAMPOS et al., 2015). Também apresentam estiramentos de ligações C-H com o anel aromático em  $3137\text{ cm}^{-1}$  e estiramentos simétricos referentes a grupos metil ( $-\text{CH}_3$ ) na banda em  $2975\text{ cm}^{-1}$  (MARTINS, 2014). Na região de  $1509\text{ cm}^{-1}$  ocorre uma vibração característica de ligação entre anel benzeno e ligações de carbonos (CAMPOS et al., 2015; QIAN et al., 2013). A banda forte evidenciada em  $1486\text{ cm}^{-1}$  se refere a vibração dos carbonos presentes no anel aromático, fenômeno conhecido como skeleton vibration (QIAN et al., 2013).

#### **5.4.3. Análise termogravimétrica com calorimetria exploratória diferencial e espectrometria de massas (TGA-DSC-MS)**

As análises termogravimétricas foram utilizadas para a verificação das mudanças físicas e químicas registradas nos materiais híbridos durante o programa de controle de temperatura estabelecido.

As curvas TG-DSC-MS estão apresentadas nas Figuras 15, 16, 17 e 18, e são referentes às membranas com os polímeros alginato de sódio e carboximetilcelulose sódica com os fungicidas triadimenol e tebuconazol incorporados.

A Figura 15 apresenta o gráfico de TG-DSC-MS para a amostra de filme de alginato de sódio a 2% e triadimenol a 62 mg/L. É possível notar inúmeros eventos de decomposição de massa. Entre a temperatura ambiente e  $200^\circ\text{C}$  é possível notar uma decomposição de massa de aproximadamente 10%, nesta faixa de temperatura a curva DSC mostra a presença de um evento endotérmico, característico do alginato de sódio (LIMA, 2006) e a curva de massas apresenta a perda de  $\text{H}_2\text{O}$  ( $m/z = 18$ ).

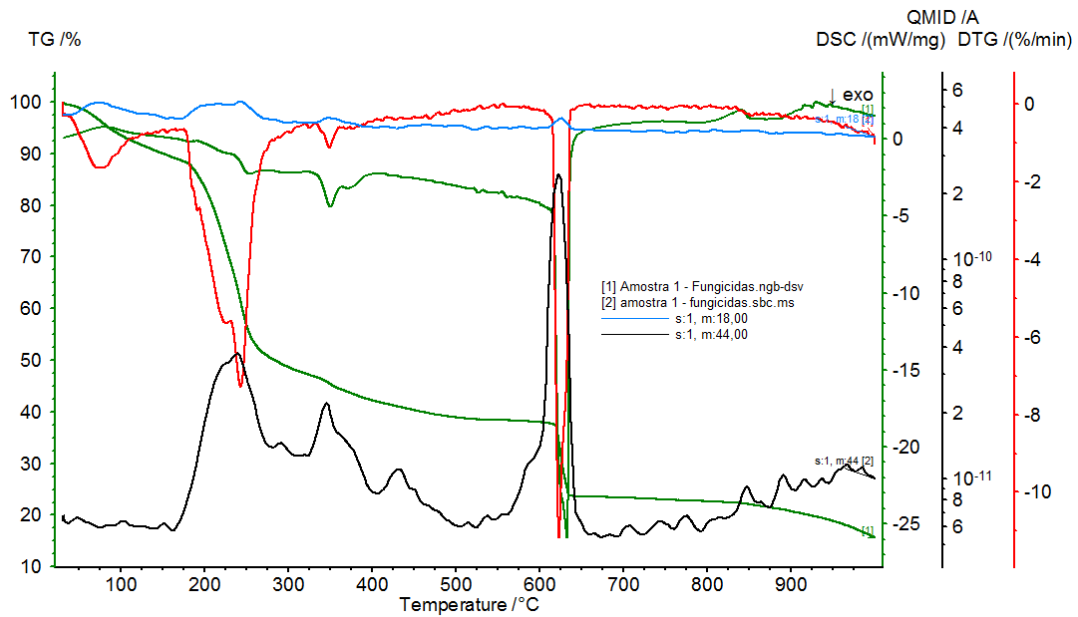


Figura 15: TG-DSC-MS - Amostra de filme de alginato de sódio a 2% e triadimenol a 62 mg/L

Os eventos mais pronunciados ocorrem entre as temperaturas de 200 °C até 500 °C e de 500 °C até 700 °C. Entre 200 °C e 500 °C a perda de massa foi de aproximadamente 42%, nesta faixa de temperatura, a curva DSC apresenta eventos exotérmicos de baixa intensidades onde, por meio das curvas de massas, é possível notar a liberação de H<sub>2</sub>O ( $m/z = 18$ ) e CO<sub>2</sub> ( $m/z = 44$ ), este último bastante intenso devido a decomposição dos compostos orgânicos do polímero e do ativo. Entre 500°C e 700°C a perda de massa foi de aproximadamente 15%, com a ocorrência de um evento exotérmico, com a liberação de CO<sub>2</sub>, como pode ser verificado na curva de massas ( $m/z = 44$ ). Nesta faixa está a temperatura de fusão para o filme de alginato de sódio a 2% e triadimenol a 62 mg/L.

A Figura 16 apresenta o gráfico de TG-DSC-MS para a amostra de filme de carboximetilcelulose sódica a 2% e triadimenol a 62 mg/L. Como na Figura 15, também são observados diversos eventos de decomposição de massa. Entre a temperatura ambiente e 200 °C, a decomposição de massa é de aproximadamente 10%, nesta faixa de temperatura a curva DSC evidenciando evento endotérmico.

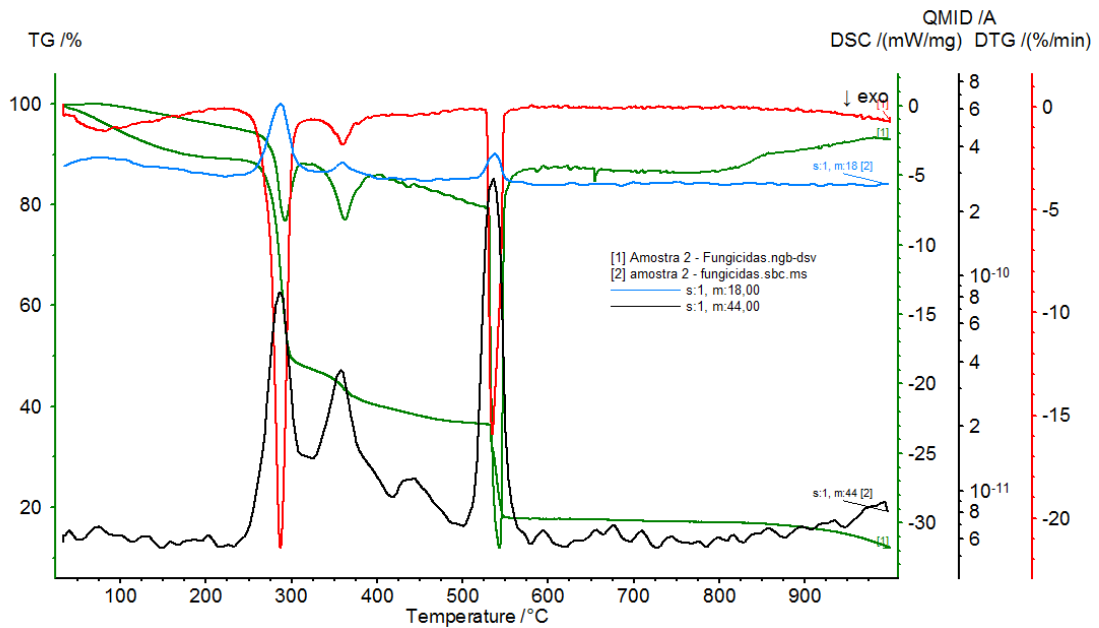


Figura 16: TG-DSC-DTG-MS - Amostra de filme de carboximetilcelulose sódica a 2% e triadimenol a 62 mg/L.

Os demais eventos nas temperaturas de 200 °C até 400 °C e de 500 °C até 600 °C, são característicos da liberação de matéria orgânica, devido processos de oxidação e/ou decomposição, que podem estar relacionados à presença do polímero carboximetilcelulose sódica (SILVA, 2016). Entre 200 °C e 400 °C a perda de massa foi de aproximadamente 40%, nesta faixa de temperatura, a curva DSC apresenta eventos exotérmicos de baixa intensidades onde, por meio das curvas de massas, é possível notar a liberação de H<sub>2</sub>O ( $m/z = 18$ ) e CO<sub>2</sub> ( $m/z = 44$ ), este último com forte intensidade devido a decomposição dos compostos orgânicos do polímero e do ativo. Entre 500 °C e 600 °C a perda de massa foi de aproximadamente 20%, com a ocorrência de um evento endotérmico, com a liberação de H<sub>2</sub>O e de CO<sub>2</sub>, como pode ser verificado, respectivamente, nas curvas de massas ( $m/z = 18$ ) e ( $m/z = 44$ ).

A Figura 17 apresenta o gráfico de TG-DSC-MS para a amostra de filme de alginato de sódio a 2% e tebuconazol a 36 mg/L. Entre a temperatura ambiente e 200 °C é possível notar, uma decomposição de massa de aproximadamente 10%, nesta faixa de temperatura a curva DSC mostra a presença de um evento endotérmico, característico do alginato de sódio (LIMA, 2006). Os eventos mais significativos ocorreram entre as temperaturas de 200 °C até 300 °C e de 550 °C até 650 °C. Entre 200 °C e 300 °C a perda de massa foi de aproximadamente 35%, nesta faixa de temperatura, a curva DSC apresenta eventos endotérmicos de baixa intensidades onde, por meio das curvas de massas, é possível notar a liberação de H<sub>2</sub>O ( $m/z = 18$ )

e  $\text{CO}_2$  ( $m/z = 44$ ), este último novamente com forte intensidade devido a decomposição polimérica nas membranas. Entre  $550\text{ }^\circ\text{C}$  e  $650\text{ }^\circ\text{C}$  a perda de massa foi de aproximadamente 25%, com a ocorrência de um evento endotérmico, com a liberação de  $\text{H}_2\text{O}$  e de  $\text{CO}_2$ , como pode ser verificado, respectivamente, nas curvas de massas ( $m/z = 18$ ) e ( $m/z = 44$ ). É possível verificar, que como em Lisboa (2011), a presença do alginato no filme gera 4 eventos de perda de massa.

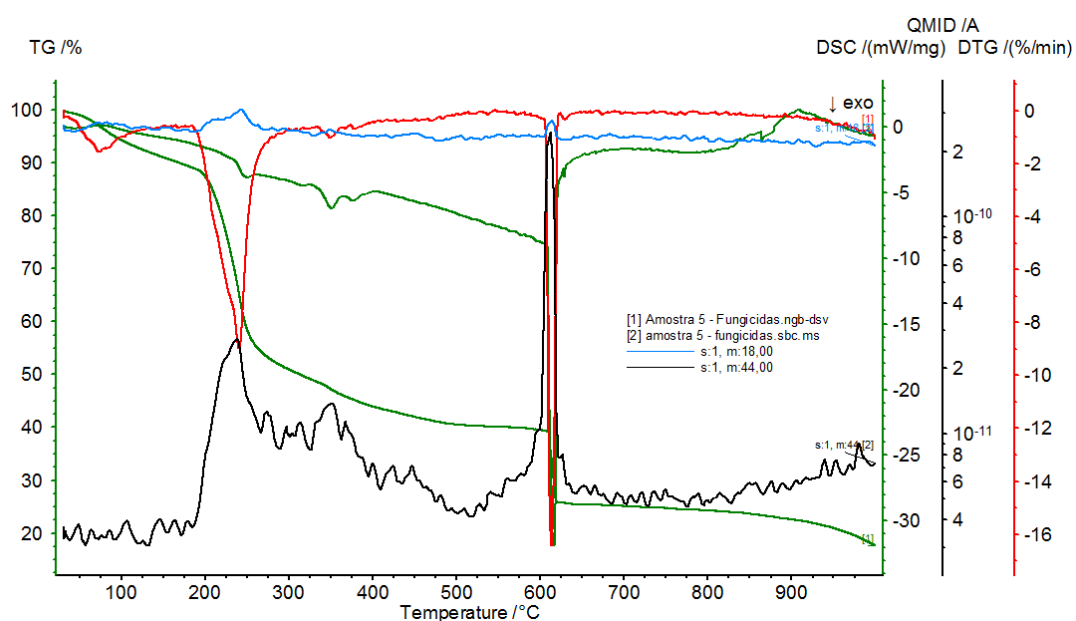


Figura 17: TG-DSC-DTG-MS - Amostra de filme de alginato de sódio a 2% e tebuconazol a 36 mg/L.

A Figura 18 apresenta o gráfico de TG-DSC-MS para a amostra de filme de carboximetilcelulose sódica a 2% e tebuconazol a 36 mg/L. Entre a temperatura ambiente e  $200\text{ }^\circ\text{C}$  é possível notar, uma decomposição de massa também de aproximadamente 10% e na faixa de temperatura na curva DSC, um evento exotérmico. Os eventos mais expressivos estão nas temperaturas de  $200\text{ }^\circ\text{C}$  até  $300\text{ }^\circ\text{C}$  e de  $500\text{ }^\circ\text{C}$  até  $600\text{ }^\circ\text{C}$ . Entre  $200\text{ }^\circ\text{C}$  e  $300\text{ }^\circ\text{C}$  a perda de massa foi de aproximadamente 40%, nesta faixa de temperatura, a curva DSC apresentando eventos endotérmicos de baixa intensidades onde, por meio das curvas de massas, é possível também notar a liberação de  $\text{H}_2\text{O}$  ( $m/z = 18$ ) e  $\text{CO}_2$  ( $m/z = 44$ ), esta última, característica da decomposição polimérica nas membranas. Entre  $500\text{ }^\circ\text{C}$  e  $600\text{ }^\circ\text{C}$  a perda de massa foi de aproximadamente 30%, com a ocorrência de um evento endotérmico intenso e liberação de  $\text{H}_2\text{O}$  e de  $\text{CO}_2$ , como pode ser verificado, respectivamente, nas curvas de massas ( $m/z = 18$ ) e ( $m/z = 44$ ).

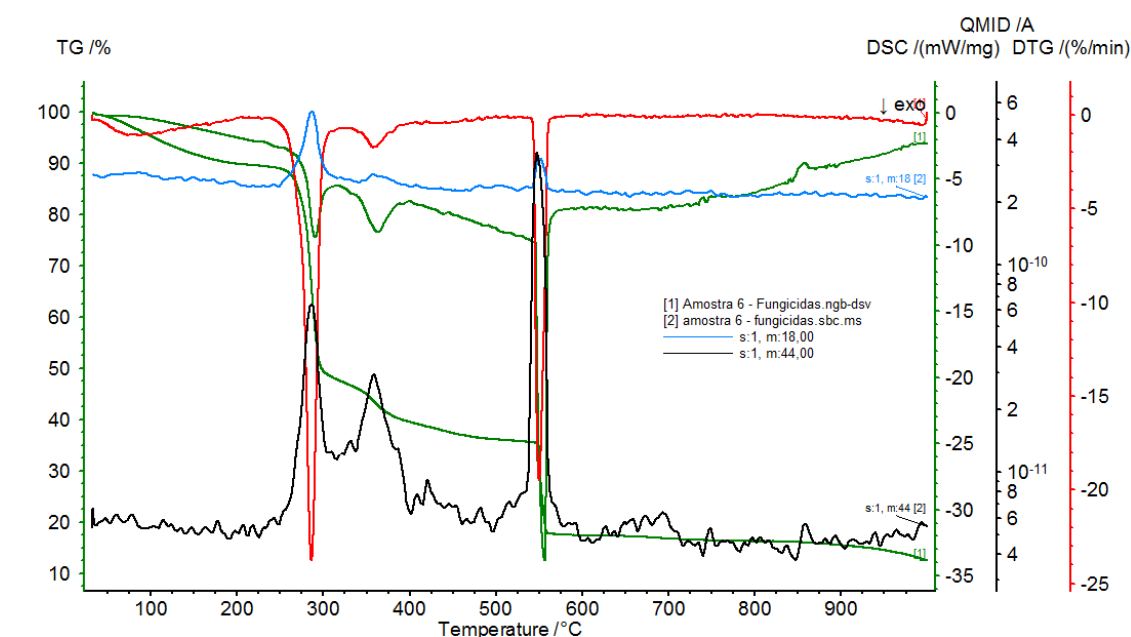


Figura 18: TG-DSC-DTG-MS - Amostra de filme de carboximetilcelulose sódica a 2% e tebuconazol a 36 mg/L.

De modo geral, as curvas apresentadas nos termogramas revelaram tanto as membranas sintetizadas com alginato de sódio como as com carboximetilcelulose sódica apresentaram dois grandes eventos de decomposição importantes cada um, durante o programa de aquecimento realizado (de 30 °C a 1000 °C).

O primeiro evento apresentou-se entre 200 e 300 °C, característico da decomposição de compostos por volatilização. A partir da análise pelo espectrômetro de massas acoplado, foi possível sugerir, a partir da massa molar encontrada ( $m/z=18$ ) que houve a perda de moléculas de água da amostra como produtos desta decomposição. Nesta etapa, houve perda de aproximadamente 40% da massa das amostras analisadas.

O segundo evento observado ocorreu no intervalo entre 500 e 700°C, característico da decomposição de “negro de fumo”. Pela massa molar evidenciada pelo espectrômetro de massas,  $m/z=44$ , houve perda de moléculas de CO<sub>2</sub> em ambas as estruturas dos polímeros, nesse intervalo de temperatura. Também neste intervalo, houve perda de aproximadamente 30% em massa das amostras analisadas.

Analisando as curvas obtidas por DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial, verificou-se que o fluxo de calor foi predominantemente endotérmico, ou seja, o calor é fornecido para a amostra para manter nula a diferença de temperatura entre a amostra e a referência.

As curvas DTG apresentadas indicaram as temperaturas de início das reações

de decomposição e os instantes em que as velocidades de reação se tornaram máximas durante o processo. Como é visto nas imagens evidenciadas nas figuras 15,16,17 e 18, os picos agudos das curvas DTG ocorreram nas mesmas temperaturas dos principais eventos de decomposição apresentados nas curvas TG.

A partir de 700 °C houve a etapa de decomposição dos resíduos, em que se ocorre geralmente a formação dos óxidos de zinco e alumínio.

A partir das curvas termogravimétricas foi possível avaliar a estabilidade térmica dos materiais constituintes, o teor de água nos compostos e a determinação da composição química das amostras.

#### **5.4.4. Análises por espectroscopia vibracional Raman**

A espectroscopia vibracional Raman foi utilizada para a caracterização dos materiais híbridos sintetizados através do espalhamento inelástico da luz. A diferença de energia entre o fóton incidente e o fóton espalhado corresponde a um quantum de energia vibracional da molécula. Esta técnica permite a identificação de componentes e a caracterização de interações intermoleculares através dos valores de frequência das bandas vibracionais no espectro Raman.

O espectro Raman da Laponita<sup>®</sup> pura apresenta uma banda de forte intensidade em 684 cm<sup>-1</sup> devido às vibrações simétricas das redes de SiO<sub>4</sub> presentes na estrutura da argila sintética (Figuras 19b, 20b, 21b e 22b) (CUNHA et al., 2017). Outras bandas de menor intensidade são observadas no espectro da Laponita<sup>®</sup> como, por exemplo, em 1087 cm<sup>-1</sup>, associada à presença de ligações assimétricas Si-O; 362 cm<sup>-1</sup>, proveniente de modos vibracionais característicos de ligações Si-O e Mg-O e 188 cm<sup>-1</sup>, oriunda de vibrações de grupos MgLiO<sub>6</sub>, presentes na intercâmara octaédrica da argila (ITURRIOZ-RODRIGUEZ et al., 2021).

Os espectros dos materiais híbridos apresentam a banda em 684 cm<sup>-1</sup>, característica da Laponita<sup>®</sup> confirmando a presença da argila (Figuras 19d, 21d e 22d).

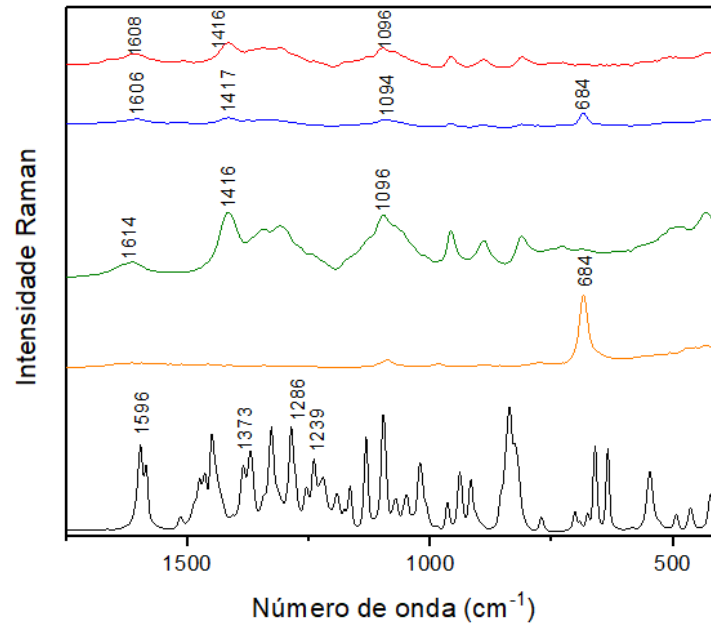


Figura 19 – Espectros Raman para: (a) triadimenol P.A.; (b) Laponita® P.A.; (c) alginato de sódio P.A.; (d) membrana composta por alginato de sódio a 2%, Laponita® a 2% e triadimenol a 62 mg/L; (e) membrana composta por alginato de sódio a 2% e triadimenol a 62 mg/L.

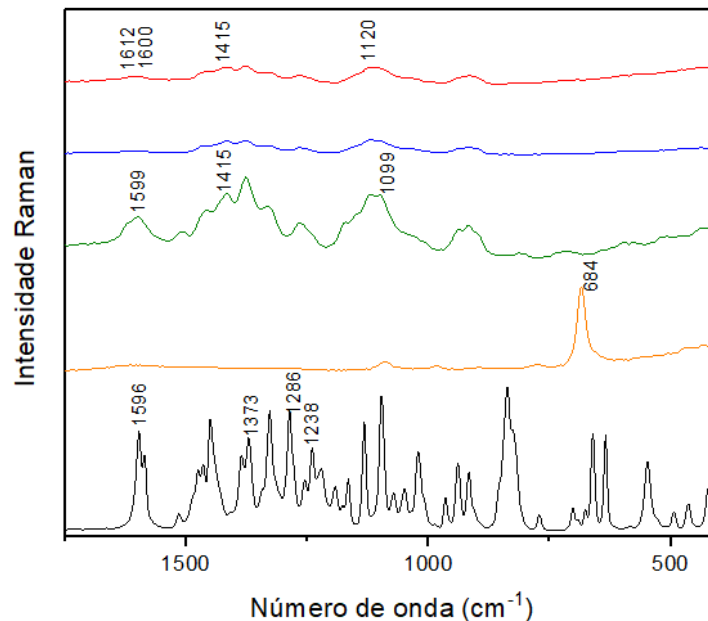


Figura 20 – Espectros Raman para: (a) triadimenol P.A.; (b) Laponita® P.A.; (c) carboximetilcelulose Sódica P.A.; (d) membrana composta por carboximetilcelulose sódica a 2%, Laponita® a 2% e triadimenol a 62 mg/L; (e) membrana composta por carboximetilcelulose sódica a 2% e triadimenol a 62 mg/L.

O espectro Raman do triadimenol é apresentado nas Figuras 19(a) e 20(a). Como o triadimenol também pertence ao grupo químico dos triazóis, uma banda de forte intensidade é esperada entre  $1500\text{ cm}^{-1}$  e  $1600\text{ cm}^{-1}$ , como visto no ativo tebuconazol. Assim, em  $1596\text{ cm}^{-1}$ , se verifica uma banda referente às ligações

cíclicas de nitrogênio. O ativo também apresenta bandas de forte intensidade entre  $1200\text{ cm}^{-1}$  e  $1300\text{ cm}^{-1}$ , características do éter aromático presente na estrutura. Na região de  $1373\text{ cm}^{-1}$  se verifica a presença de uma banda de intensidade forte caracterizada pela posição *-para* das substituições do anel aromático do triadimenol. Também se verificam outras bandas características do ativo em  $1120\text{ cm}^{-1}$  e no intervalo de  $950\text{ cm}^{-1}$  a  $600\text{ cm}^{-1}$  (BURGER; VAN DER BOOM, 2000).

O espectro Raman do polímero alginato de sódio apresentado nas Figuras 19(c) e 21(c), possui duas bandas, em  $1416\text{ cm}^{-1}$  e  $1614\text{ cm}^{-1}$ , características de vibrações de estiramento das ligações carboxílicas  $\text{COO}^-$ . Em  $1096\text{ cm}^{-1}$ , uma banda de forte intensidade evidencia a presença de vibrações de estiramento C-C, ligações glicosídicas C-O-C e vibrações de estiramento simétricas conhecidas como “ring breathing” (CAMPOS-VALLETTE et al., 2010).

Nos espectros 19(d), 19(e), 21(d) e 21(e), é possível observar bandas nas proximidades de  $1600\text{ cm}^{-1}$ ,  $1400\text{ cm}^{-1}$  e  $1100\text{ cm}^{-1}$  referente a presença do alginato de sódio após a síntese dos materiais híbridos. A banda  $1614\text{ cm}^{-1}$ , na Figura 20(c), sofreu um deslocamento para  $1608\text{ cm}^{-1}$  quando observada em 19(e). Isso pode ser justificado pelas interações moleculares entre o polímero e o ativo fungicida triadimenol. O mesmo foi observado no espectro da Figura 21(c), com a banda  $1614\text{ cm}^{-1}$  que se deslocou para  $1594\text{ cm}^{-1}$  na Figura 21(e), em relação a interação do alginato de sódio com o ativo fungicida tebuconazol.

Da mesma forma, na Figura 21(d) foi observado o aparecimento da banda em  $1052\text{ cm}^{-1}$ , referente a um deslocamento da banda original,  $1096\text{ cm}^{-1}$ , presente em 21(c). Este deslocamento pode estar associado a um enfraquecimento das ligações glicosídicas C-O-C e às interações entre alginato de sódio, Laponita® e tebuconazol (SCHMID et al., 2008).

A espectro Raman para a carboximetilcelulose sódica é apresentado nas Figuras 20(c) e 22(c), com bandas características das ligações também verificadas na molécula do alginato de sódio, como os modos vibracionais de alongamento simétrico e assimétrico do íon carboxilato, respectivamente, verificadas em  $1415\text{ cm}^{-1}$  e  $1599\text{ cm}^{-1}$ . Da mesma forma, uma banda em  $1099\text{ cm}^{-1}$  evidencia a presença de vibrações de alongamento C-C, ligações glicosídicas C-O-C e as vibrações de estiramento simétricas de “ring breathing” (CAMPOS-VALLETTE et al., 2010).

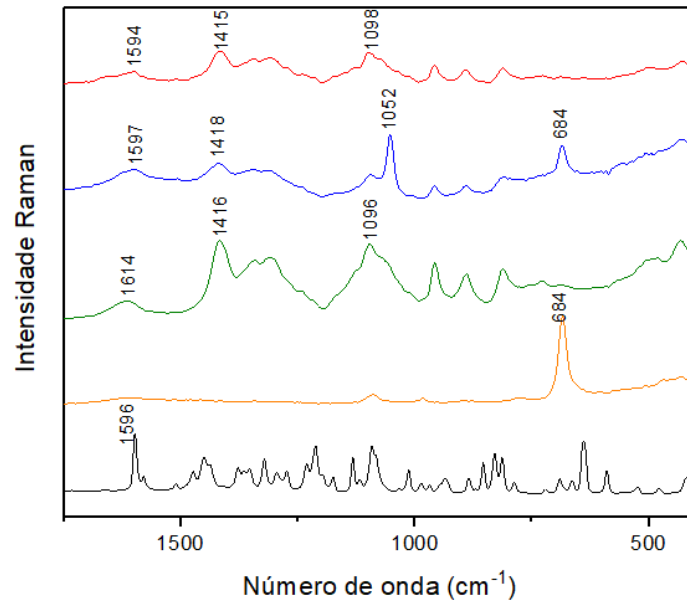


Figura 21 – Espectros Raman para: (a) tebuconazol P.A.; (b) Laponita® P.A.; (c) alginato de sódio P.A.; (d) membrana composta por alginato de sódio a 2%, Laponita® a 2% e tebuconazol a 36 mg/L; (e) membrana composta por alginato de sódio a 2% e tebuconazol a 36 mg/L.

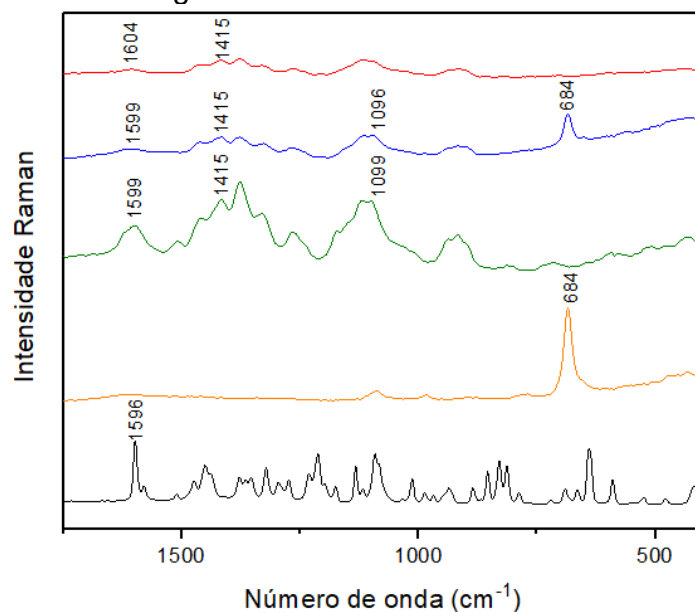


Figura 22 – Espectros Raman para: (a) tebuconazol P.A.; (b) Laponita® P.A.; (c) carboximetilcelulose sódica P.A.; (d) membrana composta por carboximetilcelulose sódica a 2%, Laponita® a 2% e tebuconazol a 36 mg/L; (e) membrana composta por carboximetilcelulose sódica a 2% e tebuconazol a 36 mg/L.

O espectro Raman do tebuconazol é apresentado nas Figuras 21(a) e 22(a). As bandas características do fungicida estão reunidas na região entre 1590  $\text{cm}^{-1}$  e 1800  $\text{cm}^{-1}$ . Nos espectros aqui apresentados, uma banda de forte intensidade em 1596  $\text{cm}^{-1}$  evidencia a presença do composto (MARTINS, 2014). A banda entre 1500  $\text{cm}^{-1}$  e 1600  $\text{cm}^{-1}$  é característica do grupo dos triazóis, compostos

heterocíclicos formados pela presença de 3 átomos de nitrogênio em um mesmo núcleo cíclico (FREITAS et al., 2011).

Como foi dito anteriormente, os fungicidas foram incorporados aos materiais híbridos em doses muito baixas em comparação àquelas utilizadas no uso comercial. Portanto, apesar da ausência de sinal Raman referente às moléculas dos fungicidas nos espectros dos materiais híbridos, provavelmente pela baixa concentração destes nos compósitos, mudanças nos perfis dos espectros das membranas sintetizadas contendo fungicidas foram observadas em relação àqueles sem fungicidas. Essas mudanças sutis nos perfis sugeriram que, mesmo que os fungicidas estivessem em baixas concentrações, havia interação entre os ativos fungicidas e os polímeros nas membranas.

Dessa forma, esta técnica permitiu também a confirmação das interações entre os precursores dos materiais híbridos orgânico-inorgânicos e dos fungicidas incorporados a partir da análise dos espectros dos compostos P.A. (concentração pura para análise) e pós-sínteses.

#### **5.4.5. Análises por microscopia de luz**

As análises foram realizadas em bulbilhos de alho previamente revestidos com membranas à base do polímero carboximetilcelulose e a Laponita<sup>®</sup>, conforme descrito na Tabela 6 do item 4.2.7. Os tratamentos à base do polímero carboximetilcelulose foram selecionados para melhor visualização da membrana formada, uma vez que os tratamentos à base do polímero alginato de sódio apresentaram membranas menos espessas e mais aderidas à superfície dos bulbilhos, o que dificultaria sua visualização.

Na Figura 23 são apresentadas as imagens feitas dos bulbilhos a partir do estereomicroscópio. Como é possível verificar na Figura 23(a), o revestimento com carboximetilcelulose confere um aspecto de brilho à superfície da semente (OLIVEIRA et al., 2007).

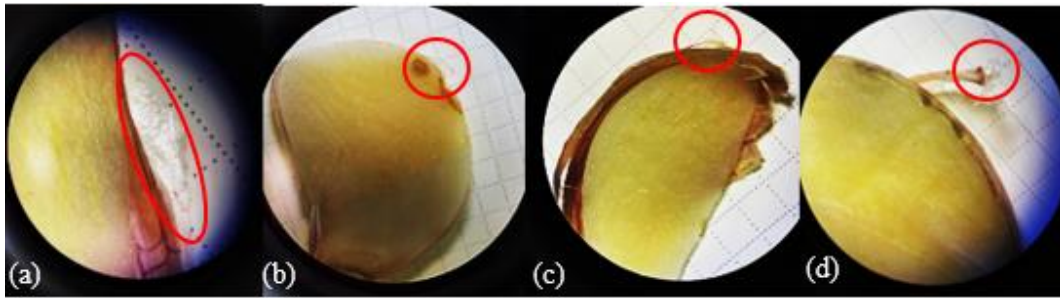


Figura 23 – Imagens dos revestimentos em estereomicroscópio (ampliação de 40 vezes o tamanho real): (a) Bulbilho revestido com membrana à base de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2%; (b) Bulbilho revestido com membrana à base de Carboximetilcelulose a 2%, Laponita® a 2% e solução de Triadimenol a 62 mg/L; (c) Bulbilho revestido com membrana à base de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2% e solução de Tebuconazol a 36 mg/L; (d) Bulbilho revestido com membrana à base de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2% e solução combinada de Triadimenol a 62 mg/L e Tebuconazol a 36 mg/L.

A partir das imagens com o auxílio do software Imagej® foi realizada a medição da espessura do revestimento. Os filmes apresentaram espessura média de  $67,5 \pm 11,5 \mu\text{m}$ . A espessura do revestimento está relacionada com a quantidade de substâncias sólidas presentes na composição do filme, assim quanto maior a presença de sólidos, maior a espessura observada no revestimento (MOHAMMADI, KAMKAR, MISAGHI, 2018).

Em Santos (2021), são apresentados valores de espessuras inferiores às observadas neste estudo para filmes híbridos contendo o polímero carboximetilcelulose na composição do revestimento. Isso deve estar relacionado à adição da argila Laponita®, houve adição de solução contendo os ativos fungicidas Tebuconazol e Triadimenol, o que deve estar relacionado ao aumento da espessura do filme obtido.

### **5.5. Avaliação do efeito inibitório dos revestimentos contendo ativos fungicidas incorporados em bulbilhos de alho cultivados em solo infestado pelo *Stromatinia cepivora***

Nesta etapa do estudo, o objetivo foi verificar a eficácia dos tratamentos realizados nos bulbilhos em relação aos índices de brotação, de incidência de sintomas característicos da podridão branca e de mortalidade durante o bioensaio.

A Tabela 10 apresenta os tratamentos utilizados, a concentração de escleródio no solo (g/ L de solo) e os percentuais de brotação, incidência e mortalidade

verificados durante o experimento.

Tabela 10 - Condições utilizadas para o Bioensaio final em câmara BOD.

Tratamentos	Concentração de escleródios (g/L de solo)	Composição dos Tratamentos	Índice de Brotação (%)	Incidência de sintomas (%)	Índice de mortalidade (%)
1.1 a 1.3	0,1	Bulbilho de alho não tratado	100,00	0,00	0,00
2.1 a 2.3	0,1	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2%	66,67	16,67	0,00
3.1 a 3.3	0,1	Bulbilho de alho embebido em solução de Triadimenol	100,00	0,00	0,00
4.1 a 4.3	0,1	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2% a partir de solução de Triadimenol (62 mg/L)	50,00	0,00	0,00
5.1 a 5.3	0,1	Bulbilho de alho embebido em solução de Tebuconazol	100,00	0,00	0,00
6.1 a 6.3	0,1	Solução de Carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2% a partir de solução de Tebuconazol I (36 mg/L)	66,67	0,00*	0,00
7.1 a 7.3	0,1	Bulbilho de	100,00	0,00	0,00

		alho embebido em solução combinada de Triadimenol (62 mg/L) e Tebuconazo I (36 mg/L)			
8.1 a 8.3	0,1	Solução de Carboximetil celulose a 2% e Laponita® a 2% a partir de solução combinada de Triadimenol (62 mg/L) e Tebuconazo I (36 mg/L)	83,33	16,67	0,00
9.1 a 9.3	0,1	Bulbilho de alho embebido em solução de Iprodiona (Controle Positivo)	100,00	0,00	0,00
10.1 a 10.3	0,1	Solo sem bulbilho de alho (Controle Negativo)	-	-	-
11.1 a 11.3	1,0	Bulbilho de alho não tratado	66,67	33,33	16,67
12.1 a 12.3	1,0	Solução de Carboximetil celulose a 2% e Laponita® a 2%	100,00	50,00	0,00
13.1 a 13.3	1,0	Bulbilho de alho embebido em solução de Triadimenol	83,33	100,00	16,67
14.1 a 14.3	1,0	Solução de	83,3	50,0	16,67

		Carboximetil celulose a 2% e Laponita® a 2% a partir de solução de Triadimenol (62 mg/L)			
15.1 a 15.3	1,0	Bulbilho de alho embebido em solução de Tebuconazo I	66,67	33,33	0,00
16.1 a 16.3	1,0	Solução de Carboximetil celulose a 2% e Laponita® a 2% a partir de solução de Tebuconazo I (36 mg/L)	100,00	16,67	0,00
17.1 a 17.3	1,0	Bulbilho de alho embebido em solução combinada de Triadimenol (62 mg/L) e Tebuconazo I (36 mg/L)	66,67	33,33	0,00
18.1 a 18.3	1,0	Solução de Carboximetil celulose a 2% e Laponita® a 2% a partir de solução combinada de Triadimenol (62 mg/L) e Tebuconazo I (36 mg/L)	83,33	0,00	0,00
19.1 a 19.4	1,0	Bulbilho de	100,00	16,67	0,00

		alho embebido em solução de Iprodiona (Controle Positivo)			
20.1 a 20.3	1,0	Solo sem bulbilho de alho (Controle Negativo)	-	-	-
21.1 a 21.3	10,0	Bulbilho de alho não tratado	33,33	100,00	100,00
22.1 a 22.3	10,0	Solução de Carboximetil celulose a 2% e Laponita® a 2%	33,33	100,00	83,33
23.1 a 23.3	10,0	Bulbilho de alho embebido em solução de Triadimenol	66,67	100,00	50,00
24.1 a 24.3	10,0	Solução de Carboximetil celulose a 2% e Laponita® a 2% a partir de solução de Triadimenol (62 mg/L)	100,00	16,67	16,67
25.1 a 25.3	10,0	Bulbilho de alho embebido em solução de Tebuconazo	100,00	100,00	0,00
26.1 a 26.3	10,0	Solução de Carboximetil celulose a 2% e Laponita® a 2% a partir de solução	100,00	0,00	0,00

		de Tebuconazo I (36 mg/L)			
27.1 a 27.3	10,0	Bulbilho de alho embebido em solução combinada de Triadimenol (62 mg/L) e Tebuconazo I (36 mg/L)	100,00	33,33	16,67
28.1 a 28.3	10,0	Solução de Carboximetil celulose a 2% e Laponita® a 2% a partir de solução combinada de Triadimenol (62 mg/L) e Tebuconazo I (36 mg/L)	100,00	0,00	0,00
29.1 a 29.3	10,0	Bulbilho de alho embebido em solução de Iprodiona (Controle Positivo)	100,00	33,33	0,00
30.1 a 30.3	10,0	Solo sem bulbilho de alho (Controle Negativo)	-	-	-

O índice de brotação de alho foi menor principalmente nos bulbilhos que não receberam revestimento por membranas poliméricas, e foram apenas imersos em solução dos ativos fungicidas ou plantados sem nenhum tipo de pré-tratamento.

Cabe ressaltar, que todos os bulbilhos tratados com o fungicida Iprodiona usado como controle positivo, apresentaram índice total de brotação. Isso pode ter relação com a atividade do iprodiona sobre a comunidade microbiana do solo, reduzindo a biomassa fúngica presente nas amostras (MIÑAMBRES, 2010).

Sobre o percentual de incidência de sintomas característicos da Podridão Branca, os experimentos com concentração de 0,1 g de escleródio/ L de solo foram os que apresentaram a menor média de incidência (8,33%) que deve estar relacionado à baixa concentração do fungo *S. cepivora* no solo, o que pode ter contribuído para o não aparecimento de sintomas nas plântulas.

Nos experimentos realizados na concentração de 1 g de escleródio/ L de solo, o revestimento constituído pela combinação dos fungicidas tebuconazol a 36 mg/L e triadimenol a 62 mg/L incorporados em CMC a 2% e Laponita® a 2% foi o único que não apresentou evidências de infestação pelo *S. cepivora* nas raízes e bulbilhos.

Na maior concentração de escleródio testada (10 g de escleródio/ L de solo), dois revestimentos impediram a incidência de sintomas, sendo eles: CMC 2% e Laponita® 2% com Tebuconazol incorporado a 36 mg/L e CMC 2% e Laponita® 2% com incorporação dos fungicidas Tebuconazol a 36 mg/L e Triadimenol a 62 mg/L. Correlacionando estes resultados com os obtidos no teste de inibição de crescimento micelial, a presença do fungicida tebuconazol na composição das membranas poliméricas acarretou maior efeito antifúngico que os demais ativos fungicidas utilizados.

A mortalidade dos bulbilhos, ocorrência comum em plantas acometidas pela Podridão Branca, apresentou o maior percentual médio (26,67%) quando os bulbilhos se desenvolveram em solo com alta concentração de escleródio (10 g de escleródio/ L de solo).

Os dados do bioensaio foram analisados por meio da análise de variâncias (ANOVA) com o auxílio do software R versão 4.1.2. As Figuras 24, 25 e 26 apresentam os gráficos de interação obtidos por meio da relação entre a densidade de escleródio no solo (g de escleródio/ L de solo) e os índices de brotação, incidência e mortalidade, respectivamente.

Observando a Figura 24, que mostra a interação entre o percentual de brotação e a densidade de escleródio, é possível afirmar que todos os tratamentos apresentaram índice de brotação superior a 33,33% nas concentrações de escleródio no solo analisadas, exceto o controle negativo (Tratamento 10 - Solo sem bulbilho de alho). O controle positivo realizado com o ativo Iprodiona (Tratamento 9 - Bulbilho de alho embebido em solução de Iprodiona), como dito anteriormente, apresentou índice total de brotação em todas as densidades de escleródio.

Os tratamentos 4 (CMC 2% e Laponita® a 2% a partir de solução de

Triadimenol (62 mg/L)), 6 (CMC a 2% e Laponita® a 2% a partir de solução de Tebuconazol (36 mg/L)) e 8 (CMC a 2% e Laponita® a 2% a partir de solução combinada de Triadimenol (62 mg/L) e Tebuconazol (36 mg/L)) apresentaram índice de brotação superior a 83,33% nas densidades de 1,0 e 10,0 g de escleródio/ L de solo, sendo os revestimentos que obtiveram melhores resultados nestas densidades de escleródio no solo. Isso pode ter relação com a interação formada entre os ativos fungicidas incorporados e as membranas poliméricas compostas por CMC a 2% e Laponita® a 2%.

Para os tratamentos 1 (Bulbilho de alho não tratado) e 2 ( CMC a 2% e Laponita® a 2%), ambos sem incorporação de fungicidas, foi verificado um comportamento similar nos índices de brotação, incidência e mortalidade, onde apenas à baixa densidade de escleródio (0,1 g de escleródio/L de solo) houve desenvolvimento das plântulas.

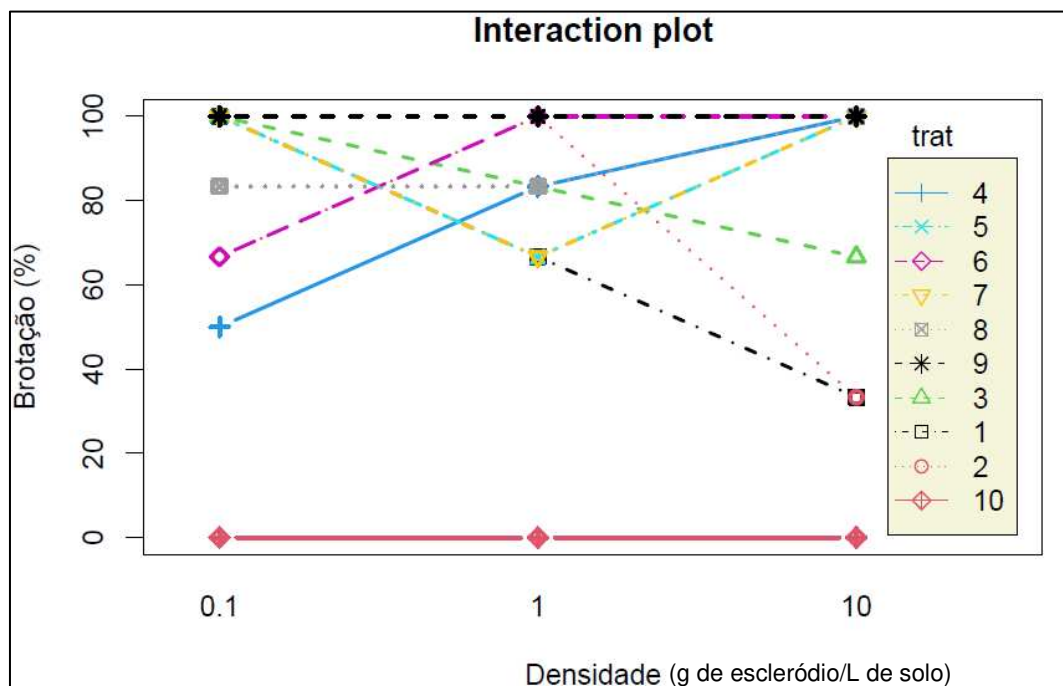


Figura 24 – Gráfico de interação entre a densidade de escleródio no solo (g de escleródio/ L de solo) e os índices de brotação observados no bioensaio.

A Figura 25, apresenta a interação entre o percentual de incidência de sintomas da Podridão Branca em relação a densidade de escleródio no solo. Observando as membranas poliméricas que melhor impediram o aparecimento dos sintomas característicos da doença, novamente os tratamentos 4, 6 e 8 se destacaram, apresentando incidência de 16,67% (Tratamento 4) e 0% (Tratamentos 6 e 8) na densidade de 10,0 g de escleródio/L de solo, percentuais inclusive superiores ao verificado no controle positivo (Tratamento 9), que na

mesma densidade (10,0 g de escleródio/L de solo) apresentou 33,33% de incidência.

Na figura 26, são apresentados os índices de mortalidade das plantas, como evolução dos sintomas da Podridão Branca. Na densidade de 0,1g de escleródio/L de solo, todos os tratamentos impediram a ocorrência de mortalidade pela doença nas plântulas em desenvolvimento. Já na concentração de 1,0 g de escleródio/g de solo os tratamentos apresentaram um índice de mortalidade médio de 5% das plântulas acometidas pela Podridão Branca. Na densidade de 10 g de escleródio/L de solo, apenas os tratamentos 6 e 8 apresentaram índice nulo de mortalidade das plântulas, em comparação com os demais tratamentos realizados, o que sugere um potencial antifúngico maior destas membranas poliméricas em relação às demais.

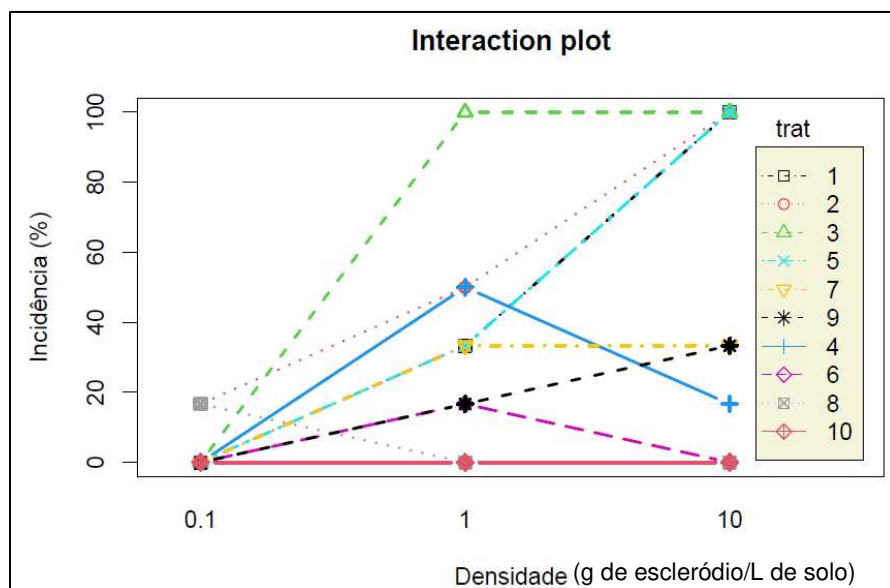


Figura 25 – Gráfico de interação entre a densidade de escleródio no solo (g de escleródio/ L de solo) e os índices de incidência observados no bioensaio.

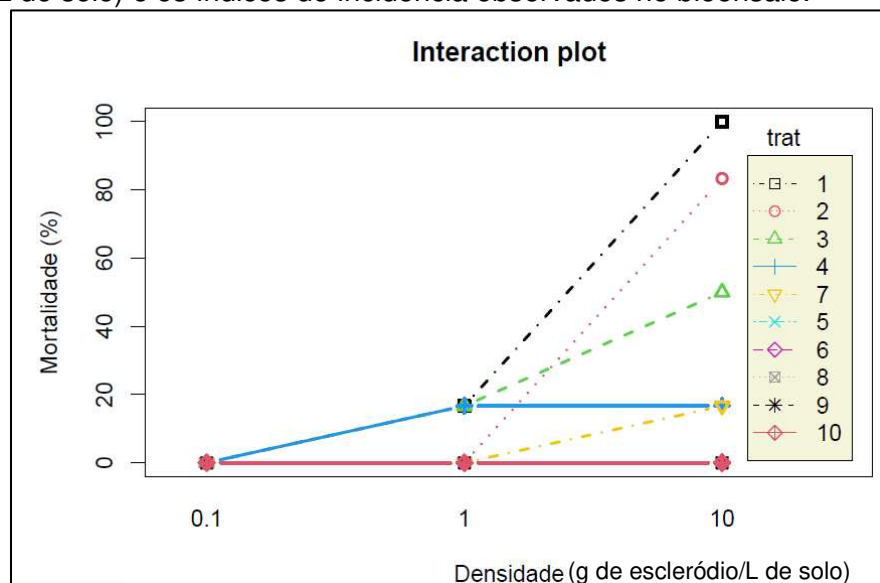


Figura 26 – Gráfico de interação entre a densidade de escleródio no solo (g de escleródio/ L de solo) e os índices de mortalidade observados no bioensaio.

Dessa forma, é possível observar que as membranas poliméricas sintetizadas com a combinação de CMC e Laponita<sup>®</sup> apresentaram uma maior interação com os ativos fungicidas Triadimenol e Tebuconazol, resultando em um maior efeito inibitório para a atividade do fungo *S. cepivora* nos bulbilhos de alho.

A biocompatibilidade e atoxidade dos materiais híbridos orgânico-inorgânicos que compõe o revestimento (ALMEIDA, 2022), juntamente com a baixa concentração de fungicidas utilizada na composição da membrana polimérica confere ao material um caráter inovador para o tratamento de bulbilhos de alho pré-plantio. Além disso, o uso de materiais híbridos antifúngicos aumenta a área superficial de tratamento do bulbilho, enquanto potencializa o efeito inibitório apesar das quantidades e concentrações reduzidas (AZEREDO et al., 2009).

Cabe lembrar, que os bulbilhos se desenvolveram em incubadora BOD em condições de temperatura e fotoperíodo favoráveis ao fungo *S. cepivora* durante todo o experimento. A presença de água, temperatura adequada, umidade e fotoperíodo de luz, entre outras características, tornam o ambiente favorável para o desenvolvimento e crescimento fúngico (TRIPATHI; DUBEY; 2004).

## 6. CONCLUSÕES

O uso dos fungicidas triadimenol e tebuconazol incorporados à síntese de membranas poliméricas no revestimento de bulbilhos de alho (*Allium sativum* L.) auxiliaram na mitigação da ocorrência da Podridão Branca causada pelo fungo *Stromatinia cepivora* nos experimentos realizados.

O revestimento contendo CMC a 2%, Laponita<sup>®</sup> a 2% e tebuconazol a 36 mg/L foi o que apresentou a maior porcentagem de inibição de crescimento micelial de *S. cepivora* - PIC (64,5%) e também os melhores índices de brotação (86% a 100%) verificados durante os ensaios.

As técnicas de caracterização utilizadas durante este estudo confirmaram a presença das membranas poliméricas nas superfícies dos bulbilhos de alho (*Allium sativum* L.), bem como a interação entre os ativos fungicidas e as membranas poliméricas constituintes do revestimento dos bulbilhos.

Nos difratogramas de DRXP e espectros de FTIR-ATR e Raman, os materiais híbridos não apresentaram de forma intensa sinais da presença dos ativos fungicidas

incorporados, evidenciando apenas deslocamentos sutis, que inferem a interação polímero-argila e fungicida. Isso se justifica pelas baixas concentrações utilizadas e incorporadas aos filmes, o que não permitiu suas apresentações nos difratogramas e espectros.

Embora os ativos fungicidas tenham sido incorporados em concentrações baixas, quando comparadas às utilizadas comercialmente, eles apresentaram efeito inibitório no crescimento micelial do fungo *S. cepivora*, evitando o aparecimento de sintomas tanto na etapa do teste de inibição de crescimento micelial - ICM quanto no bioensaio conduzido em BOD.

A análise térmica das membranas poliméricas permitiu verificar a estabilidade térmica das membranas evidenciando dois eventos principais de decomposição, um na faixa de 200 a 300 °C responsável pela perda de água das moléculas e um posterior, na faixa de 500 a 700 °C, responsável pela perda de carbono, das cadeias poliméricas do material.

Por meio do bioensaio conduzido em BOD se confirmou o efeito inibitório da incorporação dos ativos fungicidas nas membranas poliméricas sobre o fungo *S. cepivora*, sendo os revestimentos sintetizados com CMC a 2% e Laponita® a 2% e incorporados ao tebuconazol a 36 mg/L e solução combinada de tebuconazol a 36 mg/L e triadimenol a 62 mg/L, os tratamentos que apresentaram índice médio de brotação de 100% e índices de incidência de sintomas e mortalidade nulos.

Além disso, em solos infestados à concentração de 10 g de escleródio/ L de solo, ambos os revestimentos (tratamentos 6 e 8) sugeriram proteção no aparecimento de sintomas e mortalidade por Podridão Branca utilizando concentrações de ativo muito inferiores às utilizadas comercialmente.

Entre algumas das limitações encontradas no estudo, a baixa solubilidade em água dos ativos fungicidas levou o trabalho a investigar o comportamento inibitório dos ativos nestas concentrações, o que foi afortunadamente positivo. Outra limitação foi o estudo estatístico realizado no teste piloto de ICM, que não forneceu um direcionamento de quais membranas híbridas e quais concentrações deveriam ser utilizadas no teste de ICM final, o que levou à seleção das membranas poliméricas para uso no bioensaio a partir dos percentuais de inibição de crescimento - PIC observados.

Os resultados apresentados neste estudo abriram uma discussão sobre a possibilidade de reduzir potencialmente as concentrações de ativos fungicidas

atualmente utilizadas para mitigação da doença Podridão Branca, partindo do uso associado de membranas poliméricas no pré-tratamento de bulbilhos de alho (*Allium sativum* L.) e de outras culturas potencialmente afetadas, o que implica na necessidade de estudos futuros que investiguem o comportamento desse pré-tratamento em situações de acometimento de lavouras pelo fungo *S. cepivora*.

A validação do uso deste método em casas de vegetação pode permitir a redução das concentrações de ativos fungicidas aplicados no controle do *S. cepivora*, tendo em vista o uso das membranas poliméricas para o revestimento dos bulbilhos e sementes, o que impactaria positivamente na redução dos custos de produção e na redução do uso de fungicidas nas culturas em que forem aplicadas.

## 7. REFERÊNCIAS

- ALEMÁN, J. V. et al. Definitions of terms relating to the structure and processing of sols, gels, networks, and inorganic-organic hybrid materials (IUPAC Recommendations 2007). *Pure and Applied Chemistry*, v. 79, n. 10, p. 1801-1829, 2007.
- ALEXANDRE, M.; DUBOIS, P. Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials. **Materials Science & Engineering R-Reports**, 28, n. 1-2, p. 1-63, Jun 2000. Review.
- ALI, Farman et al. Polymer-clay nanocomposites, preparations and current applications: A review. **Current Nanomaterials**, v. 1, n. 2, p. 83-95, 2016.
- ALMEIDA, José Filipe da Silva Lapas. **Preparação e caracterização de hidrogéis para aplicações biomédicas**. 2010. Tese de Doutorado. Universidade de Coimbra (Portugal).
- ALMEIDA, Bianca Gottardo. **Nanomateriais híbridos contendo prata e óxido de grafeno reduzido para atividade antifúngica**. 2022. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, 2022.
- ANDRÉ, Michelle de Souza Fayad. **Diagnose, disseminação e efeitos do complexo viral do alho (*Allium sativum* L.) em regiões produtoras do Brasil**. 2010. 147 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia)-Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Fitopatologia, 2010.
- ARANA, J.; RODRIGUEZ, C. F.; MELIAN, J. A. H.; DIAZ, O. G. *et al.* Comparative study of photocatalytic degradation mechanisms of pyrimethanil, triadimenol, and resorcinol. **Journal of Solar Energy Engineering-Transactions of the Asme**, 130, n. 4, p. 8, Nov 2008. Article.
- AZEREDO, H. et al. Nanocomposite edible films from mango puree reinforced with cellulose nanofibers. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 5, p.31-35, 2009.
- BARRA, Alvaro CC; AMARAL, Thaeny C.; IZUMI, Celly. EFEITOS DA TEMPERATURA NOS ESPECTROS RAMAN DOS POLÍMEROS CONDUTORES PEDOT E MEH-PPV. **Química Nova**, v. 42, p. 1098-1103, 2019.
- BENVENUTTI, E. V.; MORO, C. C.; COSTA, T. M. H.; GALLAS, M. R. SILICA BASED HYBRID MATERIALS OBTAINED BY THE SOL-GEL METHOD. **Química Nova**, 32, n. 7, p. 1926-1933, 2009. Review.
- BRAMFITT, Bruce L.; LAWRENCE, Samuel J. Metallography and microstructures of carbon and low-alloy steels. **Materials Park, OH: ASM International, 2004.**, p. 608-626, 2004.
- BURGARDT, Vânia de Cássia da Fonseca. **Estudo das interações físico-químicas entre caseinomacropéptido e carboximetilcelulose: efeito do pH e concentração**. 2012. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná.
- BURGER, Artur; VAN DEN BOOM, Christian. Physicochemical properties of plant protection substances: I polymorphism and binary systems of triadimenol. **Microchimica Acta**, v. 135, n. 1, p. 63-69, 2000.
- CAMPOS-VALLETTE, M. M.; CHANDIA, N. P.; CLAVIJO, E.; LEAL, D. *et al.* Characterization of sodium alginate and its block fractions by surface-enhanced Raman spectroscopy. **Journal of Raman Spectroscopy**, 41, n. 7, p. 758-763, Jul 2010. Article.

CARDOSO, L. P.; CELIS, R.; CORNEJO, J.; VALIM, J. B. Layered double hydroxides as supports for the slow release of acid herbicides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54, n. 16, p. 5968-5975, Aug 2006. Article.

CERRUTTI, Bianca M.; FROLLINI, Elisabete. Carboximetilcelulose como agente de estabilização de suspensões cerâmicas. In: **Anais do 10º Congresso Brasileiro de Polímeros–Foz do Iguaçu, PR–Outubro**. 2009.

CHUJO, Y. Organic inorganic hybrid materials. **Current Opinion in Solid State & Materials Science**, 1, n. 6, p. 806-811, Dec 1996. Review.

COLEY-SMITH, J. R.; KING, J. E. The production by species of *Allium* of alkyl sulphides and their effect on germination of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* Berk. **Annals of Applied Biology**, v. 64, n. 2, p. 289-301, 1969.

COLEY-SMITH, J. R.; MITCHELL, CHRISTINE M.; SANSFORD, CLAIRE E. Long-term survival of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* and *Stromatinia gladioli*. **Plant Pathology**, v. 39, n. 1, p. 58-69, 1990.

COLEY-SMITH, J. R.; PARFITT, D.; TAYLOR, I. M.; REESE, R. A. STUDIES OF DORMANCY IN SCLEROTIA OF SCLEROTIUM-CEPIVORUM. **Plant Pathology**, 36, n. 4, p. 594-599, Dec 1987. Article.

COOKE, B. M. Disease assessment and yield loss. In: **The epidemiology of plant diseases**. Springer, Dordrecht, 2006. p. 43-80.

CROWE, F. J. et al. Inoculum density of *Sclerotium cepivorum* and the incidence of white rot of onion and garlic. **Phytopathology**, v. 70, n. 1, p. 64-69, 1980.

CUMMINS, H. Z. Liquid, glass, gel: The phases of colloidal Laponite. **Journal of Non-Crystalline Solids**, 353, n. 41-43, p. 3891-3905, Nov 2007. Article; Proceedings Paper.

CUNHA, V. R. R.; LIMA, F.; SAKAI, V. Y.; VERAS, L. M. C. *et al.* LAPONITE (R)-pilocarpine hybrid material: experimental and theoretical evaluation of pilocarpine conformation. **Rsc Advances**, 7, n. 44, p. 27290-27298, 2017. Article.

DA SILVA, T. L. et al. Alginate and Sericin: Environmental and and Pharmaceutical Applications. In: **Biological activities and application of marine polysaccharides**. Rijeka: InTech, 2017. p. 57–85.

DAVILA, J. L.; D'AVILA, M. A. Laponite as a rheology modifier of alginate solutions: Physical gelation and aging evolution. **Carbohydrate Polymers**, 157, p. 1-8, Feb 2017. Article.

DE CASTRO, V.; DUARTE, V. G. O.; NOBRE, D. A. C.; SILVA, G. H. *et al.* Plant growth regulation by seed coating with films of alginate and auxin-intercalated layered double hydroxides. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, 11, p. 1082-1091, Jul 2020. Article.

DE MOURA, M. R.; AOUADA, F. A.; MATTOSO, L. H. C.; ZUCOLOTTO, V. Hybrid Nanocomposites Containing Carboxymethylcellulose and Silver Nanoparticles. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, 13, n. 3, p. 1946-1950, Mar 2013. Article.

DE QUEIROZ, Gabriel Braz et al. Caracterização morfológica de isolados de *sclerotium cepivorum* de alho e cebola no Brasil. In: **Embrapa Hortaliças-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. In: ANAIS da V e VI jornada científica da Embrapa Hortaliças.

Brasília, DF: Embrapa, 2016., 2016.

DERKACH, S. R.; VORON'KO, N. G.; SOKOLAN, N. I.; KOLOTOVA, D. S. *et al.* Interactions between gelatin and sodium alginate: UV and FTIR studies. **Journal of Dispersion Science and Technology**, 41, n. 5, p. 690-698, Apr 2020. Article.

DOMINGOS, L. B. **Indutores de germinação de escleródios e uso de fungicidas no manejo de *Sclerotium cepivorum*. 2015.** Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal de Viçosa, Rio Paranaíba.

DOMINGOS, L. B. *et al.* EFICIÊNCIA DE FUNGICIDAS NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Sclerotium cepivorum*. In: XLI CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 61., 2018, Marília. **XLI Congresso Paulista de Fitopatologia**. Marília: Summa Phitopathologica, 2018. v. 44, p. 1-5. Disponível em: [http://www.infobibos.com/anais/cpfito/41/Resumos/Resumo41CPFito\\_0028.pdf](http://www.infobibos.com/anais/cpfito/41/Resumos/Resumo41CPFito_0028.pdf). Acesso em: 01 fev. 2022.

EPAGRI/CEPA. **Boletim Agropecuário**. Abril/2020. Florianópolis, 2020, 51p. (Epagri. Documentos, 309).

ESTEVES, Ana Catarina C.; BARROS-TIMMONS, Ana; TRINDADE, Tito. Nanocompósitos de matriz polimérica: estratégias de síntese de materiais híbridos. **Química Nova**, v. 27, p. 798-806, 2004.

FAUSTINI, M.; NICOLE, L.; RUIZ-HITZKY, E.; SANCHEZ, C. History of Organic-Inorganic Hybrid Materials: Prehistory, Art, Science, and Advanced Applications. **Advanced Functional Materials**, 28, n. 27, p. 30, Jul 2018. Article.

FERNANDO, I. P. S.; LEE, W.; HAN, E. J.; AHN, G. Alginate-based nanomaterials: Fabrication techniques, properties, and applications. **Chemical Engineering Journal**, 391, p. 13, Jul 2020. Review.

FREITAS, L. B. O. *et al.* A reação "click" na síntese de 1,2,3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1791-1804, 2011.

GACESA, Peter. Alginates. **Carbohydrate polymers**, v. 8, n. 3, p. 161-182, 1988.

GHADIRI, M.; CHRZANOWSKI, W.; LEE, W. H.; FATHI, A. *et al.* Physico-chemical, mechanical and cytotoxicity characterizations of Laponite (R)/alginate nanocomposite. **Applied Clay Science**, 85, p. 64-73, Nov 2013. Article.

GOMES, A. L. A. **Materiais híbridos orgânico-inorgânicos derivados de interação entre alginato, argilas sintéticas e biorreguladores de crescimento: filmes para o revestimento de minitoletes de cana-de-açúcar.** Dissertação - Universidade Federal de Viçosa. Rio Paranaíba, p. 96. 2021.

GONZAGA, Virgínia de Alencar Muniz. **Desenvolvimento de membranas porosas à base de quitosana e laponita para tratamento de lesões de pele.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

ITURRIOZ-RODRIGUEZ, N.; MARTIN-RODRIGUEZ, R.; RENERO-LECUNA, C.; AGUADO, F. *et al.* Free-labeled nanoclay intracellular uptake tracking by confocal Raman imaging. **Applied Surface Science**, 537, p. 10, Jan 2021. Article.

JOSÉ, Nadia Mamede; PRADO, Luís Antônio Sanchez de Almeida. Materiais híbridos

orgânico-inorgânicos: preparação e algumas aplicações. **Química Nova**, v. 28, p. 281-288, 2005.

KICKELBICK, Guido (Ed.). **Hybrid materials: synthesis, characterization, and applications**. John Wiley & Sons, 2007.

LII, C. Y.; TOMASIK, P.; ZALESKA, H.; LIAW, S. C. *et al.* Carboxymethyl cellulose-gelatin complexes. **Carbohydrate Polymers**, 50, n. 1, p. 19-26, Oct 2002. Article.

LIMA, Aline Margarete Furuyama et al. **Estudo de propriedades físico-químicas de alginato de sódio, pectina e blendas em solução e no estado sólido com aplicação em sistema de liberação de fármacos**. 2006. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina.

LIMA, Kelly Santana. **Estudo de nanocompósitos poli(metacrilato de hidroxietila)/ laponita para revestimento de sementes**. 2018. 82 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, 2018.

LISBOA, Marcia Severiano. **Obtenção e caracterização do sistema compósito alginato de sódio-dióxido de titânio em formas de pó e de membrana**. 2011. 175 f. Tese (Doutorado em Físico-Química; Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.

LOPES, Daniela Biaggioni. **Seleção "in vitro" e em câmara de crescimento de fungicidas e antagonistas para o controle de *Sclerotium cepivorum* Berk., agente causal da podridão branca da cebola (*Allium cepa* L.)**. 1994. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo.

LOURENÇO JUNIOR, V. Podridão branca em alho e cebola: doença destrutiva, mas de pouca importância para os fitopatologistas. In: **Embrapa Hortaliças-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SIMPÓSIO DE FITOPATOLOGIA, 2., Brasília, DF. Diagnose e manejo de fitopatógenos habitantes do solo [resumo das palestras]. Brasília, DF: Grupo de Estudos em Patologia de Plantas, 2017., 2017.

LOURENÇO JUNIOR, Valdir et al. Etiology, epidemiology, and management of white rot on onion and garlic: current knowledge and future directions for Brazil. **Científica**, v. 46, n. 3, p. 241-256, 2018.

MACAN, J. Definitions of Terms Relating to the Structure and Processing of Sols, Gels, Networks, and Inorganic-Organic Hybrid Materials. **Kemija u industriji; časopis kemičara i tehnologa Jugoslavije**, 60, n. 3, p. 135-153, 2011.

MARCUZZO, Leandro Luiz; LUIZ, Leonardo. Influência da temperatura e do fotoperíodo na germinação in vitro de escleródios de *Sclerotium cepivorum*, agente causal da podridão branca do alho e da cebola. **Summa Phytopathologica**, v. 43, p. 164-164, 2017.

MARÍN, Patricia et al. Potential effects of environmental conditions on the efficiency of the antifungal tebuconazole controlling *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* growth rate and fumonisin biosynthesis. **International journal of food microbiology**, v. 165, n. 3, p. 251-258, 2013.

MARK, Herman Francis; KROSCWITZ, Jacqueline I. Encyclopedia of polymer science and engineering. 1985.

MARTINS, Eucarlos de Lima. **Síntese e caracterização de micropartículas de**

**etilcelulose e seu uso na encapsulação do fungicida Tebuconazol.** 2014. 117 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química de Araraquara, 2014. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/115621>>. Acesso em: 15 fev. 2022.

MIÑAMBRES, Guadalupe G. et al. Application of thymol and iprodione to control garlic white rot (*Sclerotium cepivorum*) and its effect on soil microbial communities. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, n. 1, p. 161-170, 2010.

MOHAMMADI, Hamid; KAMKAR, Abolfazl; MISAGHI, Ali. Nanocomposite films based on CMC, okra mucilage and ZnO nanoparticles: Physico mechanical and antibacterial properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 181, p. 351-357, 2018.

NUNES, M. E. T.; KIMATI, H. Doenças do alho e da cebola (*Allium sativum* L. e *Allium cepa* L.). In: KIMATI, H.; AMORIM, 1., et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2, 1997. p. 49-64.

OKURA, Mônica Hitomi; RENDE, José Carlos. **Microbiologia: roteiros de aulas práticas**. São Paulo: Tecmedd, 2008.

OLIVEIRA, Aline F. de et al. **Recobrimento de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) com filmes biodegradáveis desenvolvidos a partir da mistura de carboximetilcelulose e alginato de sódio.** in: Congresso Brasileiro de Polímeros, 9., 2007, Campina Grande. **Anais do 9º Congresso Brasileiro de Polímeros**. Campina Grande: Ipen - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, 2007. p. 1-9. Disponível em: <https://www.ipen.br/biblioteca/cd/cbpol/2007/PDF/360.pdf>. Acesso em: 02 jan. 2022.

PALKOVA, H.; MADEJOVA, J.; ZIMOWSKA, M.; SERWICKA, E. M. Laponite-derived porous clay heterostructures: II. FTIR study of the structure evolution. **Microporous and Mesoporous Materials**, 127, n. 3, p. 237-244, Feb 2010. Article.

PEREIRA, R. B.; OLIVEIRA, V. R. Podridão branca do alho e da cebola. **Embrapa Hortaliças-Artigo de divulgação na mídia (INFOTECA-E)**, 2013.

PEREIRA, R. B.; OLIVEIRA, V. R.; PINHEIRO, J. B. Diagnose e manejo de doenças fúngicas na cultura da cebola. **Embrapa Hortaliças-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2014.

PINTO, C. M. F. et al. Production components and yield loss of garlic cultivars planted at different times in a field naturally infested with *Sclerotium cepivorum*. **International journal of pest management**, v. 46, n. 1, p. 67-72, 2000.

PINTO, C. M. F.; MAFFIA, L. A.; BERGER, R. D.; MIZUBUTI, E. S. G. et al. Progress of white rot on garlic cultivars planted at different times. **Plant Disease**, 82, n. 10, p. 1142-1146, Oct 1998. Article.

PINTO, M. D. E.; GONCALVES, R. G. L.; DOS SANTOS, R. M. M.; ARAUJO, E. A. et al. Mesoporous carbon derived from a biopolymer and a clay: Preparation, characterization and application for an organochlorine pesticide adsorption. **Microporous and Mesoporous Materials**, 225, p. 342-354, May 2016. Article.

POFFO, C. M. et al. **Evolução estrutural e térmica do Silício policristalino submetido à Moagem Mecânica**. Dissertação de Mestrado. 2012. Universidade Federal de Santa Catarina.

RABINOWITCH, H. D. **Onions and Allied Crops: Volume II: Agronomy Biotic Interactions**. CRC Press, 2018.

RAMPHAL, I. A.; HAGERMAN, M. E. Water-Processable Laponite/Polyaniline/Graphene Oxide Nanocomposites for Energy Applications. *Langmuir*, 31, n. 4, p. 1505-1515, Feb 2015. Article.

REGHIN, Marie Yamamoto; KIMOTO, Tosiaki. Dormência, vernalização e produção de alho após diferentes tratamentos de frigorificação de bulbilhos-semente. **Horticultura Brasileira**, v. 16, p. 73-79, 1998.

REIS, Ailton; OLIVEIRA, Valter Rodrigues. Identificação e manejo da podridão-branca do alho e da cebola. **Embrapa Hortaliças-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2013.

RESENDE, Francisco Vilela. Desafios da produção e inovações tecnológicas para cultura do alho no Brasil. **Hortaliças em Revista, ano**, v. 7, p. 16-17, 2018.

ROCHA, Michele Aparecida. **Materiais híbridos nanoestruturados à base de hidróxidos duplos lamelares e o fármaco sulindaco**. 2015. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

RODRIGUES, Ariano De Giovanni; GALZERANI, José Cláudio. Espectroscopias de infravermelho, Raman e de fotoluminescência: potencialidades e complementaridades. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 34, 2012.

ROSSEINSKY, D. R. ENCYCLOPEDIA OF POLYMER SCIENCE AND ENGINEERING, 2ND EDITION - KROSCWITZ,JI. **Nature**, 339, n. 6222, p. 268-269, May 1989. Book Review.

SAIKIA, Pinky et al. Hybrid nanocomposites of layered double hydroxides: an update of their biological applications and future prospects. **Colloid and Polymer Science**, v. 295, n. 5, p. 725-747, 2017.

SANTOS, Vanessa Souza et al. Avaliação e caracterização de biofilme comestível de carboximetilcelulose contendo nanopartículas de quitosana e Cúrcuma longa. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 26, 2021.

SANCHEZ, C.; JULIAN, B.; BELLEVILLE, P.; POPALL, M. Applications of hybrid organic-inorganic nanocomposites. **Journal of Materials Chemistry**, 15, n. 35-36, p. 3559-3592, 2005. Review.

SANCHEZ, C.; SHEA, K. J.; KITAGAWA, S. Recent progress in hybrid materials science. **Chemical Society Reviews**, 40, n. 2, p. 471-472, 2011. Editorial Material.

SANTOS, Luís Presley Serejo dos. **Caracterização óptica e estrutural de PbTiO<sub>3</sub> nanoestruturado obtido por moagem mecânica de alta energia**. 2002. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SÃO PAULO. Usp. Universidade de São Paulo (org.). **TABELA DE VALORES DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO PARA COMPOSTOS ORGÂNICOS**. Disponível em: [https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5152720/mod\\_resource/content/1/TABELA%20DE%20VALORES%20DE%20ABSOR%C3%87%C3%83O%20NO%20INFRAVERMELHO.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5152720/mod_resource/content/1/TABELA%20DE%20VALORES%20DE%20ABSOR%C3%87%C3%83O%20NO%20INFRAVERMELHO.pdf). Acesso em: 05 nov. 2021.

SAVELEVA, M. S.; EFTEKHARI, K.; ABALYMOV, A.; DOUGLAS, T. E. L. *et al.* Hierarchy of

Hybrid Materials - The Place of Inorganics-in-Organics in it, Their Composition and Applications. **Frontiers in Chemistry**, 7, p. 21, Apr 2019. Review.

SCHMID, T.; MESSMER, A.; YEO, B. S.; ZHANG, W. H. *et al.* Towards chemical analysis of nanostructures in biofilms II: tip-enhanced Raman spectroscopy of alginates. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 391, n. 5, p. 1907-1916, Jul 2008. Article.

SCHWARTZ, Howard F. *et al.* (Ed.). **Compendium of onion and garlic diseases and pests**. St. Paul, MN: American Phytopathological Society, 2008.

SILVA, Monickarla Teixeira Pegado da. **Síntese, caracterização de óxido de alumínio a partir de esferas híbridase aplicação na conversão do glicerol: influência do grau de substituição e polimerização da carboximetilcelulose**. 2016. 99f. Dissertação (Mestrado em Química) - Centro de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2016.

SILVA NETO, Luiz Daniel da. **Síntese de hidróxido duplo lamelar: efeitos do processo de secagem**. 2020. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos.

SILVÉRIO, Fabiano. **Preparação e caracterização de materiais híbridos formados pela interação entre hidróxidos duplos lamelares e siliconas aniônicas**. 2009. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

TOMAS, H.; ALVES, C. S.; RODRIGUES, J. Laponite (R) : A key nanoplatform for biomedical applications? **Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine**, 14, n. 7, p. 2407-2420, Oct 2018. Review.

TONG, Q. Y.; XIAO, Q.; LIM, L. T. Preparation and properties of pullulan-alginate-carboxymethylcellulose blend films. **Food Research International**, 41, n. 10, p. 1007-1014, Dec 2008. Article.

TRANI, P. E. *et al.* **Cultura do alho – recomendações para seu cultivo no Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1997. 39 p. (Boletim Técnico, 170).

TRIPATHI, P.; DUBEY, N. K. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v. 32, n. 3, p. 235–245, 2004.

UTKHEDE, R. S. BIOLOGY AND CONTROL OF ONION WHITE ROT. **Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection**, 89, n. 5, p. 291-301, 1982. Article.

VANGINKEL, C. G.; GAYTON, S. The biodegradability and nontoxicity of carboxymethyl cellulose (DS 0.7) and intermediates. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 15, n. 3, p. 270-274, Mar 1996. Article.

VILLALTA, O. N.; WITE, D.; PORTER, I. J.; MCLEAN, K. L. *et al.* Integrated Control of Onion White Rot on Spring Onions Using Diallyl Disulphide, Fungicides and Biocontrols. **International Symposium on Vegetable Production, Quality and Process Standardization in Chain: a Worldwide Perspective**, 944, p. 63-71, 2012. Proceedings Paper.

VILELA, Nirlene J.; HENZ, Gilmar P. Situação atual da participação das hortaliças no agronegócio brasileiro e perspectivas futuras. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 17, n. 1, p. 71-89, 2000.

WANG, J.; SHI, L.; WANG, D.; LI, L. *et al.* White rot disease protection and growth promotion of garlic (*Allium sativum*) by endophytic bacteria. **Plant Pathology**, 68, n. 8, p. 1543-1554, Oct 2019. Article.

XIAO, Q.; GU, X. H.; TAN, S. Drying process of sodium alginate films studied by two-dimensional correlation ATR-FTIR spectroscopy. **Food Chemistry**, 164, p. 179-184, Dec 2014. Article.

WORDELL FILHO, João Américo et al. **Manejo fitossanitário na cultura da cebola**. Florianópolis: Epagri, 2006.226p.

YANG, X. H.; ZHU, W. L. Viscosity properties of sodium carboxymethylcellulose solutions. **Cellulose**, 14, n. 5, p. 409-417, Oct 2007. Article.

YUEN, S. N.; CHOI, S. M.; PHILLIPS, D. L.; MA, C. Y. Raman and FTIR spectroscopic study of carboxymethylated non-starch polysaccharides. **Food Chemistry**, 114, n. 3, p. 1091-1098, Jun 2009. Article.

ZENG, D. F.; SHI, Y. F. Preparation and application of a novel environmentally friendly organic seed coating for rice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 89, n. 13, p. 2181-2185, Oct 2009. Article.

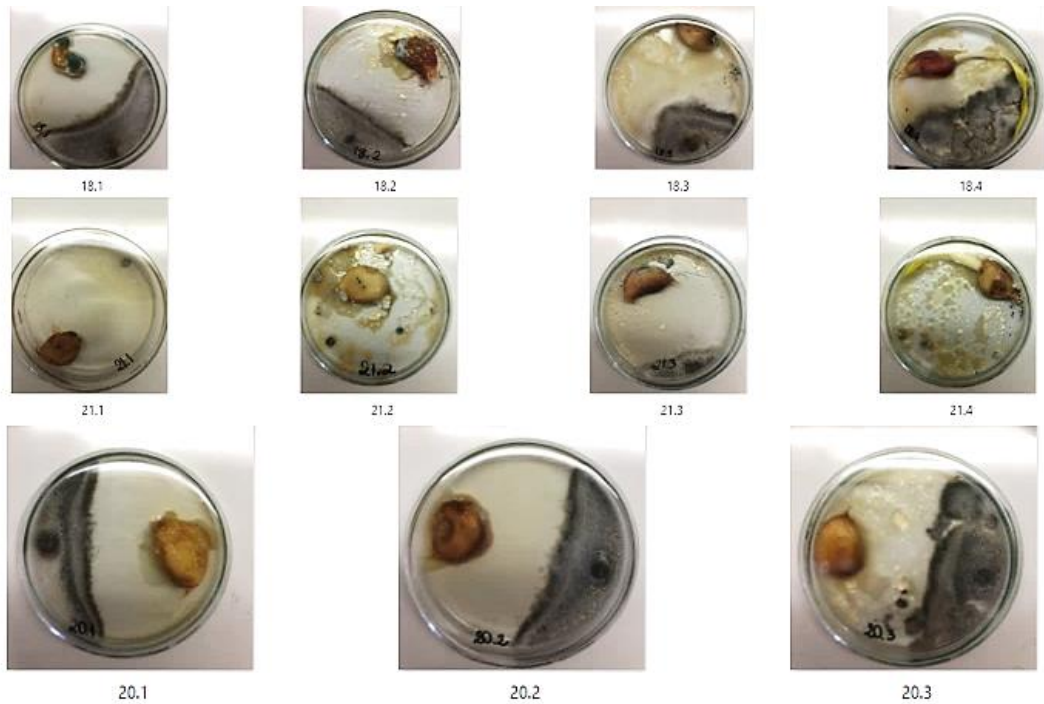
**APÊNDICE A – IMAGENS DOS EXPERIMENTOS**

Figura A.1 – Bulbilhos revestidos com carboximetilcelulose a 2% e fungicida Tebuconazol (Experimentos 18.1 a 18.4); Bulbilhos revestidos com Iprodiona na dose proporcional 1 kg de produto :100 kg de bulbilhos - Controle Positivo (Experimentos 21.1 a 21.4); Bulbilhos revestidos com membranas poliméricas compostas por Solução de carboximetilcelulose a 2% e Laponita® a 2% e fungicida Tebuconazol (Experimentos 20.1 a 20.3).