



ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DE DOENÇAS E NA CONSERVAÇÃO DA QUALIDADE DE UVA PÓS-COLHEITA.

CAMILA E. **SOKABE**¹; Eliane A. **BENATO**²; SILVIA R.T. **VALENTINI**³; VALÉRIA D.A.
ANJOS³; MAURILO M. **TERRA**⁴
Nº 12208

RESUMO

Há uma tendência crescente na busca de métodos alternativos para conservação de frutos pós-colheita. Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de óleos essenciais (capim-limão - *Cymbopogon citratus* e limão - *Citrus limon*), e a forma de aplicação, no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* e de outras doenças em uvas pós-colheita, bem como, o efeito na conservação da qualidade de uvas. Inicialmente, foram realizados dois experimentos em uva 'Itália' inoculada, com aplicação dos óleos essenciais por nebulização ou por volatilização. A nebulização foi gerada por um nebulizador ultrasônico, contendo a solução dos óleos (6 tratamentos com 10 repetições). O experimento por volatilização consistiu na disposição de cachos de uvas, inoculados, em bandejas com algodão embebido na solução do óleo essencial, e envolvidos por filme PVC. O armazenamento foi sob condições ambiente por 8 dias. Em função dos resultados preliminares, posteriormente, foi realizado um experimento por nebulização de óleo de capim-limão (4 tratamentos com 5 repetições). O armazenamento foi sob condições ambiente (25°C) por 4 dias e sob refrigeração (1°C) por 14 dias mais 4 dias a 25°C. Foram realizadas análises fitopatológicas, físico-químicas e sensoriais. Os resultados mostraram que o tratamento com óleo de capim-limão por nebulização (50 e 100 mg L⁻¹) reduziu a podridão de *C. gloeosporioides* em uva, sem causar alterações significativas.

¹Bolsista CNPq: Graduação em Eng. Alimentos, UNICAMP, Campinas-SP, camila.esokabe@gmail.com ;

²Orientadora, Pesq. Científica GEPC/ITAL, Campinas/SP, benato@ital.sp.gov.br ; ³Pesq. Científico GEPC/ITAL; ⁴Pesq. Científico IAC, Campinas/SP.

ABSTRACT

Many researches have focused on alternative methods for the preservation of fruits after harvest. This work aimed to evaluate the effect of essential oils (lemon grass, *Cymbopogon citratus*, and lemon, *Citrus limon*), and their application form for the control of *Colletotrichum gloeosporioides* and other diseases in the postharvest of grapes, as well as their effects on the quality of the fruit. The way of application and their effects on inoculated 'Italia' grapes were evaluated in two assays with the application of the essential oils by nebulization and volatilization. The nebulization was created by an ultrasonic system containing solutions of essential oils (6 concentrations and 10 replicates). The volatilization method consisted in displaying the inoculated grapes on plastic trays packed with PVC film. In both assays, the fruits were stored without refrigeration for 8 days. According to the results of these tests, another assay was performed: the nebulization of lemon grass oil (4 concentrations and 5 replicates) on inoculated grapes stored at 25°C for 4 days and at 1°C for 14 days and then, transferred to 25°C for 4 days. The nebulization of lemon grass at 50 and 100 mg.L⁻¹ reduced *C. gloeosporioides* infection without significant changes in the quality of grapes.

INTRODUÇÃO

Os agentes causadores de podridões em pós-colheita, em geral, apresentam características comuns, que são a capacidade de se estabelecerem no fruto imaturo e permanecerem em estado quiescente, sem o aparecimento de sintomas, até que haja condições físicas e/ou fisiológicas do hospedeiro para que o processo de colonização de desenvolva (CARNELOSSI et al., 2009). A ocorrência de podridões e a degrana das bagas de uva são responsáveis pela grande quantidade de perdas pós-colheita. Os fungos que comumente ocorrem em uvas pós-colheita são *Colletotrichum gloeosporioides*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, *Rhizopus* sp., *Lasiodiplodia theobromae*, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. e leveduras, destacando-se o *C. gloeosporioides*, causador da podridão da uva madura (BENATO, 2003). Outra causa muito comum de redução da vida-de-prateleira da uva se deve à perda de massa, causando o ressecamento da ráquis, perda de turgidez das bagas e aumento da degrana, tornando o produto impróprio para comercialização.

Os métodos de controle de doenças pós-colheita podem ser agrupados em físicos, químicos e biológicos. Os métodos físicos (ex.: refrigeração, atmosfera modificada) podem atuar diretamente sobre os patógenos, bem como de modo indireto, atuando sobre a fisiologia da fruta, retardando o amadurecimento e,

conseqüentemente, mantendo a resistência da fruta ao ataque de microrganismos. Os tratamentos químicos dizem respeito à aplicação controlada de agentes fungicidas, fungistáticos ou bactericidas, isoladamente ou em conjunto com as operações de limpeza. Os métodos biológicos e alternativos surgiram a partir de restrições de uso dos fungicidas e incluem o uso de biofungicidas, extratos de plantas e óleos essenciais (JOBILING, 2009; ANARUMA et al., 2010). Além disso, observa-se um aumento das pesquisas envolvendo a utilização de agentes alternativos, potenciais indutores de resistência, para o controle de doenças de pós-colheita (CIA et al., 2007). Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de óleos essenciais (capim-limão e limão), e a forma de aplicação, no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* e de outras doenças em uvas pós-colheita, bem como, o efeito na conservação da qualidade de uvas.

MATERIAL E MÉTODOS

Inóculo e Inoculação

O isolado de *C. gloeosporioides* foi fornecido pelo Centro Nacional de Pesquisa Uva e Vinho - Embrapa Uva e Vinho (Código CNPUV 381). O fungo foi cultivado em meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA), à 25°C com alternância de luz (12 horas). Para inoculação dos cachos de uva, preparou-se uma suspensão de conídios, inserindo-se 10 mL de água destilada às placas de petri com o patógeno, em seguida, fez-se a raspagem do substrato com auxílio de uma alça de Drigalsky e a filtragem em camadas de gaze. A suspensão foi ajustada a uma concentração de aproximadamente 10^5 conídios mL⁻¹, determinada pela contagem em câmara de Neubauer. Adiciona-se então à suspensão uma gota de Tween²⁰ para melhor dispersão dos conídios.

Após a preparação da suspensão, com o auxílio de uma agulha de seringa de cromatografia, foram feitos micro-ferimentos de 1-2 mm de profundidade na epiderme de 10 bagas devidamente identificadas, por cacho de uva. A inoculação foi realizada por aspersão da suspensão de conídios sobre os cachos de uva.

Aplicação de óleo essencial por nebulização

Foram utilizados cachos de uva cv. Itália. O experimento consistiu em 6 tratamentos de 10 repetições cada, com um cacho de uva por parcela. Inicialmente, os cachos de uva foram inoculados, ficando 4 horas em incubação, antes dos tratamentos. Foram feitos os seguintes tratamentos, com aplicação dos óleos por nebulizador ultrasônico: 1- testemunha absoluta; 2- testemunha – aplicando-se água

com Iharaguen-S ($0,3 \text{ mg L}^{-1}$), 3- Capim-limão 100 – aplicando-se água com Iharaguen-S e óleo de capim-limão (100 mg L^{-1}), 4- Capim-limão 250 - aplicando-se água com Iharaguen-S e óleo de capim-limão (250 mg L^{-1}), 5- Limão 100 - aplicando-se água com Iharaguen-S e óleo de limão (100 mg L^{-1}), 6- Limão 250 - aplicando-se água, Iharaguen-S e óleo de limão (250 mg L^{-1}). Tambores de 200 L, hermeticamente fechados e com ventilação interna, foram utilizados durante a aplicação dos tratamentos. Utilizou-se 15 mL de solução de cada tratamento no nebulizador, injetando-se, durante 10 minutos, a névoa de solução no interior do tambor com a ventilação ligada para maior uniformidade. Após a aplicação, os cachos foram mantidos em sacolas plásticas abertas durante 8 dias em uma câmara de 25°C / 80%UR. Após este período, foram feitas análises dos cachos em relação a incidência e severidade da doença inoculada através de uma escala de notas. A escala adotada variou de 1 a 6, com base na área da lesão, correspondendo aproximadamente a 2, 5, 10, 20, 30 e 50% da baga lesionada, respectivamente. Os resultados foram expressos em índice de doença, calculado através da fórmula: $ID(\%) = \{[(n_1 \times 1) + \dots + (n_6 \times 6)] \times (6 \times N)^{-1}\} \times 100$, onde $n_{1...6} = n^{\circ}$ de bagas infectadas com a respectiva nota e $N = n^{\circ}$ total de bagas inoculadas (CAMILI et al., 2010). A incidência de doenças nos cachos foi calculada fazendo-se a porcentagem de bagas com podridão natural (massa_1) em relação ao total do cacho (massa_2).

Aplicação de óleo essencial por volatilização

Cachos de uva 'Itália' inoculados também foram dispostos, individualmente, sobre bandejas e envolvidos por filme PVC (espessura nominal: $13 \mu\text{m}$, espessura determinada: $11 \mu\text{m}$, TPO_2 : $9.490 \text{ mL m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$, TPCO_2 : $72.121 \text{ mL m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$, TPVA: $403,4 \text{ g de água m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$), colocando-se na bandeja um chumaço de algodão embebido em solução de óleo essencial (limão ou capim-limão) para volatilização. O experimento consistiu em 5 tratamentos de 10 repetições cada, com um cacho de uva por parcela. Inicialmente, os cachos de uva foram inoculados, ficando 4 horas em incubação, antes dos tratamentos. Foram feitos os seguintes tratamentos: 1- Testemunha – aplicando-se água e Iharaguen-S ($0,3 \text{ mg L}^{-1}$), 2- Capim-limão 100 – aplicando-se água, Iharaguen-S e óleo de capim-limão (100 mg L^{-1}), 3- Capim-limão 250 - aplicando-se água, Iharaguen-S e óleo de capim-limão (250 mg L^{-1}), 4- Limão 100 - aplicando-se água, Iharaguen-S e óleo de limão (100 mg L^{-1}), 5- Limão 250 - aplicando-se água, Iharaguen-S e óleo de limão (250 mg L^{-1}). Os cachos foram acondicionados em caixas de papelão e armazenados em câmara a 25°C / 80%UR,

pelo período de até 8 dias. Após este período, foram feitas análises de incidência e severidade da podridão nos cachos de uva.

Aplicação de óleo essencial e armazenamento refrigerado

Os resultados dos ensaios anteriores mostraram que a aplicação de óleo de capim-limão por nebulização foi mais efetivo no controle da podridão da uva madura. Realizou-se então, outro experimento em uva 'Itália' inoculada, com os seguintes tratamentos: 1- testemunha – aplicando-se água e Iharaguen-S ($0,3 \text{ mg L}^{-1}$); 2- Capim-limão 50– aplicando-se água, Iharaguen-S e óleo de capim-limão (50 mg L^{-1}), 3- capim-limão (100 mg L^{-1}), 4- Capim-limão (250 mg L^{-1}). O delineamento foi inteiramente casualizado com 4 tratamentos, 5 repetições e um cacho de uva por parcela. O armazenamento foi realizado sob condições ambiente por 4 dias (25°C / $80\%\text{UR}$) e sob refrigeração ($1^{\circ}\text{C}/95\%\text{UR}$), pelo período de 14 dias mais 4 dias sob condições ambiente, simulando-se o processo de exportação. Foram realizadas análises fitopatológicas, físico-químicas e sensoriais nas amostras nas três épocas de armazenamento. As médias dos resultados foram submetidas à análise de variância e comparadas pelo teste de Tukey, à 5% de probabilidade pelo programa Estat.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aplicação de óleo essencial por nebulização

Analisando-se os resultados do teste de óleos essenciais em uvas por nebulização, constatou-se que o óleo de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), apresentou os melhores resultados no controle da podridão da uva madura (*C. gloeosporioides*) em uvas inoculadas, destacando-se a dose de 100 mg L^{-1} (Figura 1). Observou-se ainda que o capim-limão inibiu a ocorrência de outras podridões nas bagas (dados não apresentados). Por outro lado, o óleo de limão (*Citrus limon*) não demonstrou efeito no controle de doenças em uva pós-colheita, podendo ter causado até uma discreta fitotoxicidade (não perceptível), que acarretou o incremento do desenvolvimento de patógenos.

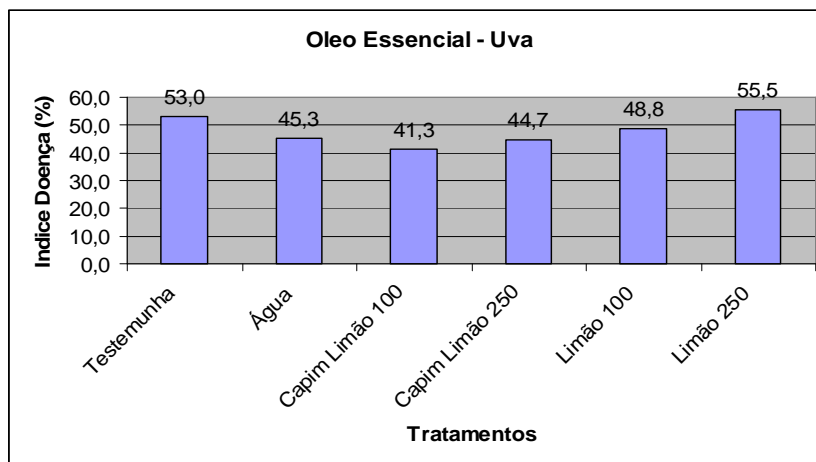


FIGURA 1. Índice de doença (%) de uva cv. Itália inoculada com *Colletotrichum gloeosporioides*, submetida a tratamentos com óleos essenciais por nebulização e armazenada por 8 dias a 25°C/80%UR.

Aplicação de óleo essencial por volatilização

Analisando-se os resultados do teste de óleos essenciais em uvas por volatilização, constatou-se que tanto óleo de capim-limão quanto o de limão, apresentaram resultados similares: ambos os óleos não demonstraram efeito no controle da doença em uva inoculada (Figura 2), bem como, promoveram maior incidência de podridões naturais nas uvas (dados não apresentados).

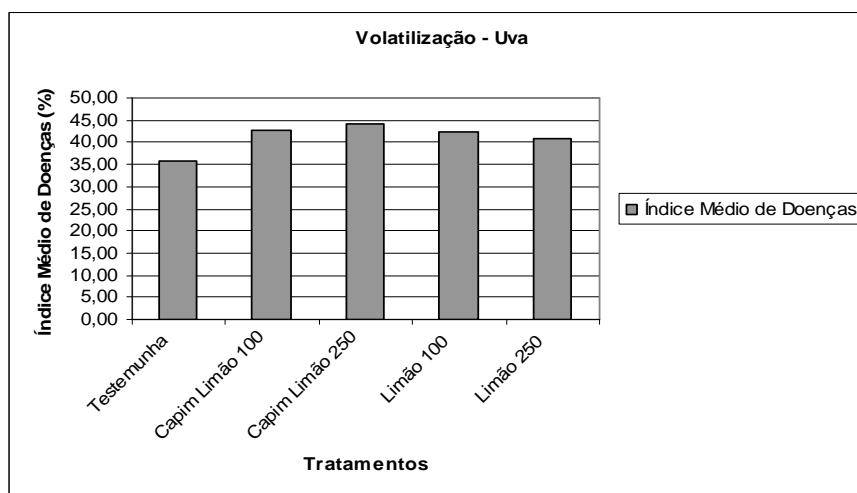


FIGURA 2. Índice de doença (%) de uva cv. Itália, inoculada com *Colletotrichum gloeosporioides*, submetida a tratamentos com óleos essenciais por volatilização em embalagem com filme PVC e armazenada por 8 dias a 25°C/80%UR.

Aplicação de óleo essencial de capim-limão por nebulização

Analisando-se os resultados do teste de óleos essenciais em uvas por nebulização e armazenamento refrigerado, constatou-se que o óleo de capim-limão nas concentrações de 50 mg L⁻¹ e 100 mg.L⁻¹ apresentou os melhores resultados no controle da podridão da uva madura em uvas inoculadas. Enquanto, a concentração de 250 mg L⁻¹ pode ter causado uma fitotoxicidade, que acarretou o incremento do desenvolvimento de patógenos nas uvas após refrigeração e condições ambiente (Figura 3).

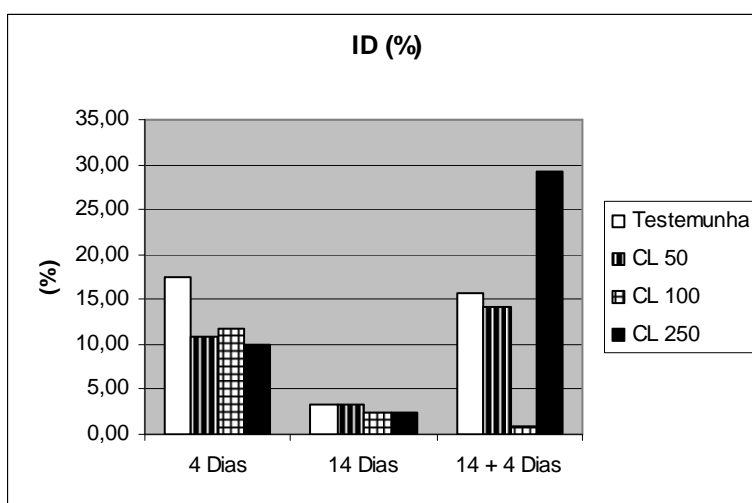


FIGURA 3. Índice de doença (%) de uva cv. Itália, inoculada com *Colletotrichum gloeosporioides*, submetida a tratamento com óleo essencial de capim-limão por nebulização e armazenada por 4 dias (25°C/80%UR), 14 dias (1°C/95%UR) e mais 4 dias sob condições ambiente.

TABELA 1. Resultados das análises físico-químicas de uva cv. Itália, submetida a tratamentos com óleos essenciais de capim-limão por nebulização e armazenada à 25°C/80%UR por 4 dias ou sob refrigeração (1°C/95%UR) por 14 dias mais 4 dias sob condições ambiente.

Tratamentos	AT (g.100g ⁻¹)	SS (°brix)	pH	Aparência da Ráquis ^y	Cor da Baga ^z L* a* b*	textura (N)	Degrana ^w (%)			
Dias	0 Dia	1,02 ^x	12,38	4,15	1	42,61	-4,01	8,792	4,53	0
4	Testemunha	0,99 a	12,2 a	3,42 a	2,6 a	42,83 a	-3,77 a	7,63 b	2,78 a	0 a
	C. Limão 50	1,10 a	11,58 a	3,42 a	3,0 a	41,44 a	-4,12 a	8,62 a	2,39 a	0,50 a
	C. Limão 100	1,00 a	12,64 a	3,44 a	3,2 a	42,32 a	-3,84 a	7,91 ab	2,74 a	0 a
	C. Limão 250	1,01 a	11,92 a	3,43 a	3,0a	42,37 a	-3,76 a	7,75 b	2,77 a	0 a
	C. V. (%)	10,32	7,86	1,68	16,95	1,87	-9,20	5,43	16,62	22,2
	Testemunha	1,14 a	11,64 a	3,36 a	1,0 a	35,98 a	-3,17 a	10,52 a	2,67 a	0,52 a
	C. Limão 50	1,08 a	11,34 a	3,44 a	1,0 a	36,37 a	-3,20 a	10,41 ab	2,28 a	0,54 a
	C. Limão 100	0,99 a	11,52 a	3,44 a	1,0 a	35,74 a	-3,24 a	10,27 ab	2,23 a	0 a
	C. Limão 250	1,01 a	11,64 a	3,43 a	1,0 a	36,35 a	-2,76 a	9,53 b	2,05 a	0 a
	CV (%)	14,75	10,38	1,58	0,00	3,92	-13,64	5,43	18,79	36,2
14	Testemunha	0,84 a	12,70 a	3,46 a	5,0 a	42,72 a	-3,10 a	7,46 b	2,82 a	0 a
	C. Limão 50	0,95 a	11,62 a	3,44 a	5,0 a	42,78 a	-3,80 a	8,36 a	3,92 a	0 a
	C. Limão 100	0,95 a	12,32 a	3,39 a	5,0 a	42,46 a	-3,70 a	8,23 ab	2,46 a	0 a
	C. Limão 250	0,94 a	12,46 a	3,41 a	5,0 a	43,46 a	-3,59 a	8,30 ab	3,03 a	0,84 a
	CV (%)	14,84	10,69	1,97	0,00	1,48	-12,66	8,75	12,28	23,11
14+ 4										

^x média de cinco repetições. Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna por época, não diferem estatisticamente entre si (Tukey $p \leq 0,05$).

^y 1 = verde, fresco, túrgido; 2 = verde opaco; 3 = verde para marrom claro; 4 = predominantemente marrom e 5 = marrom pardo e seco.

^z Em colorímetro Minolta, sistema L* a* b*, onde L* representa luminosidade (0 = preto a 100 = branco), a* e b* cromaticidade (a* = verde a a* = vermelho e b* = azul a b* = amarelo).

^w Dados originais foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$, para análise estatística.

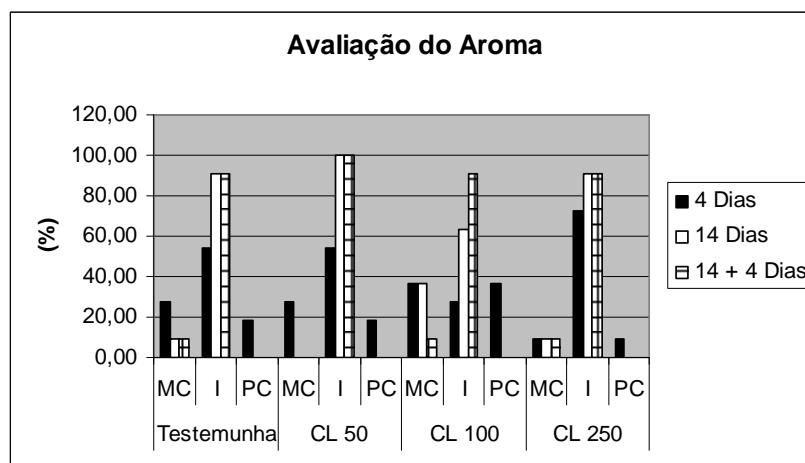


FIGURA 4. Avaliação do aroma de uva cv. Itália tratada com óleo essencial de capim-limão (0, 50, 100 e 250 mg L⁻¹), tendo como indicadores: MC = melhor que a testemunha; I = igual a testemunha e PC = pior que a testemunha. Média de 11 provadores.

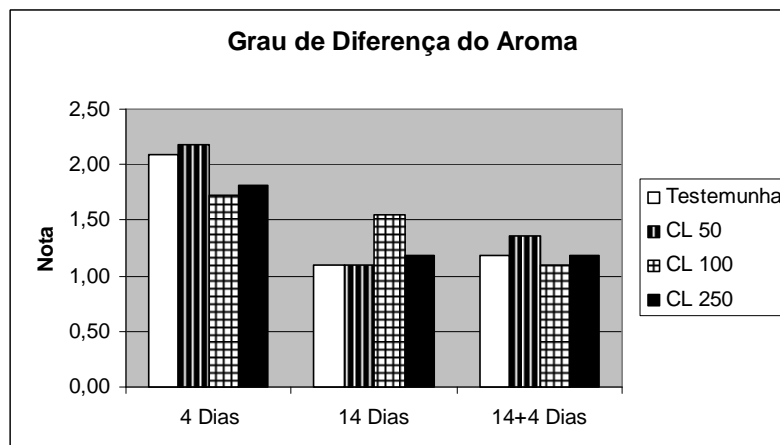


FIGURA 5. Avaliação do grau de diferença do aroma. Foram utilizadas notas de 1 a 5 sendo 1 = nenhuma diferença com a testemunha e 5 = extremama diferença. A significância do teste F da análise de variância para o grau de diferença do aroma n.s.= não significativo para todas as épocas analisadas. Foram utilizados 11 provadores.

Quanto as análises físicas e físico-químicas (Tabela 1), contata-se que os tratamentos não interferiram significativamente nas alterações de degrana, sólidos solúveis, pH e acidez titulável, sendo que a aparência da ráquis permaneceu mais verde sob refrigeração e a firmeza das bagas decresceu com o armazenamento. Quanto à cor das bagas, apenas observa-se um ligeiro amarelecimento (b^*) das uvas tratadas com óleos essenciais e armazenadas sob condições ambiente.

Em relação a análise sensorial (Figuras 4 e 5), nota-se que os provadores perceberam ligeira diferença do aroma nas uvas armazenadas por 4 dias, porém com o armazenamento prolongado, o aroma de óleo essencial ficou quase imperceptível.

Anaruma et al. (2010) testaram o uso de 28 tipos diferentes de óleos essenciais contra o *C. gloeosporioides* em maracujá (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg). De acordo com os resultados, 15 dos 28 óleos testados apresentaram atividade contra o *C. gloeosporioides*. Dentre os 15 óleos citados 4 apresentaram concentração mínima inibitória entre 0,25 e 0,3 $\mu\text{g L}^{-1}$: *Coriandrum sativum*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon flexuosus* e *Lippia alba*. O estudo concluiu ainda que o óleo de *Cymbopogon citratus* obteve o melhor resultado final contra a antracnose no maracujá. Este trabalho corrobora com os resultados observados neste estudo.

CONCLUSÃO

O óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), aplicado por nebulização, apresentou características antifúngicas contra *C. gloeosporioides* em uva cv. Itália, sem causar alterações físico-químicas e sensoriais significativas.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ/PIBIC pela bolsa concedida e à FAPESP (2011/01302-5) pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANARUMA, N.D.; SCHMIDT, F.L.; DUARTE, J.C.T.; FIGUEIRA, G.M.; DELARMELINA, C.; BENATO, E.A.; SARTORATTO, A. Control of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. in yellow passion fruit using *Cymbopogon citratus* essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.41, p.66-73, 2010.
- BENATO, E.A. Tecnologia, fisiologia e doenças pós-colheita de uvas de mesa. In.: POMMER, C.V. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco continentes, 2003. p.635-723.
- CAMILI, E.C.; BENATO, E.A.; PASCHOLATI, S.F.; CIA, P. Vaporização de ácido acético para o controle pós-colheita de *Botrytis cinerea* em uva 'Itália'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 2, p. 436-443, 2010.
- CARNELOSSI, P.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S; ITAKO, A.T.; MESQUINI, R.M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Planta Medicinais**, v. 11, n.4, p.399-406, 2009.
- CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; BENATO, E.A. Indução de resistência no manejo de doenças pós-colheita. In: RODRIGUEZ, F.; ROMEIRO, R. **Indução de resistência em plantas a patógenos**. REUNIÃO BRASILEIRA DOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A PATÓGENOS, 3., 2007. Viçosa, **Anais...**Viçosa, 2007. p. 245-280.
- JOBLING, J. **Essential oils: a new Idea for postharvest disease control**. http://www.postharvest.com.au/GFV_oils.PDF Acesso em 25 de agosto de 2009.