



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES
CLAROS**

**MÉTODOS DE APLICAÇÃO DE ÓLEOS
ESSENCIAIS NO CONTROLE DA
ANTRACNOSE EM FRUTOS DE BANANEIRA
“PRATA-ANÃ”**

MARIA LUISA MENDES RODRIGUES

2012

MARIA LUISA MENDES RODRIGUES

**USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE EM
FRUTOS DE BANANEIRA “PRATA-ANÃ”**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Montes Claros como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, área de concentração Produção Vegetal, para obtenção do título de “*Magister Science*”.

Orientador
Prof. DSc. Edson Hiydu Mizobutsi

JANAÚBA
MINAS GERAIS - BRASIL
2012

R696u Rodrigues, Maria Luisa Mendes.
Métodos de aplicação de óleos essenciais no controle da
antracnose em frutos de bananeira “Prata-anã”
[manuscrito] / Maria Luisa Mendes Rodrigues. – 2012.
86 p.

Dissertação (mestrado)-Programa de Pós-Graduação
em Produção Vegetal no Semiárido, Universidade
Estadual de Montes Claros-Janaúba, 2012.

Orientador: Profº D. Sc. Edson Hiydu Mizobutsi.

1. Antracnose. 2. Banana. 3. Óleo essencial. I.
Mizobutsi, Edson Hiydu. II. Universidade Estadual de
Montes Claros. III. Título.

CDD. 634.772

Catálogo: Biblioteca Setorial Campus de Janaúba

MARIA LUISA MENDES RODRIGUES

**USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE EM
FRUTOS DE BANANEIRA “PRATA-ANÃ”**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Montes Claros como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, área de concentração Produção Vegetal, para obtenção do título de “*Magister Science*”.

APROVADA em 27 de agosto de 2012.

Prof D.Sc. Edson Hiydu Mizobutsi
UNIMONTES (Orientador)

Profª D. Sc. Gisele Polete
Mizobutsi
UNIMONTES (Coorientadora)

Profª D. Sc Adélica Aparecida
Xavier

Profª PhD Regina Cássia Ferreira
Ribeiro
UNIMONTES

Profª D. Sc. Nilza de Lima Pereira Sales
UFMG

**JANAÚBA
MINAS GERAIS - BRASIL2012**

Ao meu filho, razão de todo meu esforço.
A minha mãe, minha maior incentivadora.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me conceder mais uma benção. Só Ele pode compreender a dimensão dessa conquista.

À Universidade Estadual de Montes Claros, por tornar possível a conclusão do mestrado.

À Capes, pela concessão da bolsa.

Ao professor Edson, pela oportunidade, credibilidade, orientação, pelo incentivo e conselhos.

Às professoras Gisele, Regina e Adelica, pela disponibilidade em ajudar sempre que necessário.

À professora Nilza, pela colaboração.

Ao Grupo Banarica, pelos frutos concedidos. Aos funcionários da Fazenda Santana, pela imensa ajuda nas colheitas dos frutos.

Ao meu filho, João Gustavo, por todas as alegrias.

Ao meu esposo, Gabriel, pelo amor, apoio e incentivo.

À minha mãe, pela força, exemplo de garra, coragem e amor incondicional. Ao meu irmão, pelo companheirismo. Meu pai, pela torcida.

Ao meu avô (sempre presente) e minha avó, pelo carinho e apoio.

Às “meninas” do laboratório de Patologia pós-colheita (Patrícia, Elma, Nayara e Babi), pela convivência, companheirismo e imprescindível ajuda nas montagens e condução dos experimentos. Em especial a Inaia e Martielle, pela amizade e conhecimentos transmitidos.

Às colegas do laboratório de Fisiologia pós-colheita, pela disponibilidade e ajuda nas avaliações do experimento

Ao amigo Leandro (Pardal), pela boa vontade em ajudar todas as vezes em que foi solicitado.

Aos funcionários da Unimontes que sempre estiveram prontos a ajudar, em especial aos motoristas Werner e Maria José.

Aos amigos de todas as horas, Cynthia, Néia, Cris, Leli, Moacir, Fernanda, Antonio Fábio, Diney, Léo, Hugo, Pardal e Bruna, por tornarem os momentos difíceis mais doces e alegres.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	i
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Importância da Cultura.....	3
2.2 <i>Colletotrichum musae</i>	4
2.2 Antracnose da banana.....	5
2.3 Controle de patógenos quiescentes.....	7
2.3.1 Controle físico	7
2.3.2 Controle Cultural.....	8
2.3.3 Controle químico.....	8
2.3.4 Controle Alternativo.....	8
2.4 Plantas medicinais	11
2.4.1 Cravo	11
2.4.2 Tomilho	12
2.4.3 Gengibre	12
2.4.4 Árvore-do-chá	13
2.6 Óleos essenciais.....	13
2.6.1 Uso de Óleos Essenciais no controle de fitopatógenos.....	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
Capítulo I.....	28
RESUMO	29
ABSTRACT	30
1 INTRODUÇÃO.....	31
2 METODOLOGIA	32
2.1 Obtenção do isolado	32
2.1.1 Obtenção dos isolados de <i>Colletotrichum musae</i>	32
2.1.2 Cultura monospórica	32
2.1.3 Preparo da suspensão de conídios	33
2.1.4 Obtenção dos óleos essenciais.....	33
2.2 Preparo da solução estoque	35
2.3 Avaliação do crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> , em diferentes concentrações de óleos essenciais	35
2.4 Avaliação da germinação de <i>Colletotrichum musae</i> em diferentes concentrações de óleos essenciais	36
2.5 Esporulação	37

3- Experimento <i>in vivo</i>	37
3.1 Determinação da concentração de óleos essenciais aplicados em pós-colheita para o manejo da antracnose em frutos inoculados e não inoculados com <i>C. musae</i>	37
3.1.1 Frutos inoculados	38
3.1.2 Frutos não inoculados.....	38
3.2 Características avaliadas.....	39
3.2.1 Incidência	39
3.2.2 Severidade	39
3.2.3 Análise Estatística	39
4- RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1 Efeito dos óleos essenciais de cravo, árvore-do-chá, tomilho e gengibre em diferentes concentrações sobre o crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i>	41
3.2- Efeitos dos óleos essenciais de cravo, árvore-do-chá, tomilho e gengibre em diferentes concentrações sobre o desenvolvimento da antracnose em frutos de bananeira Prata-anã	45
4 CONCLUSÕES	48
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
Capítulo 2	51
RESUMO	52
ABSTRACT	54
1 INTRODUÇÃO.....	56
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	57
2.3 Avaliação do crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> , em diferentes concentrações de óleos essenciais	57
2.5.2 Avaliação da germinação de <i>Colletotrichum musae</i> , em diferentes concentrações de óleos essenciais	58
2.6 Esporulação	58
2.1 Determinação da concentração de óleos essenciais aplicados em pós-colheita para o manejo da antracnose no método de fumigação	59
2.1.2 Frutos inoculados	59
2.1.3 Frutos não inoculados.....	59
2.3 Características avaliadas.....	60
2.3.1 Incidência	60
2.3.2 Severidade	60
2.3.3 Análise estatística	61

2.4 - Avaliação das características físicas e químicas dos frutos de bananeira 'Prata-Anã' tratados com óleos essenciais de diferentes espécies de plantas.....	62
O experimento para avaliação das características físicas e químicas dos frutos de bananeira 'Prata-Anã' foi montado conforme o item 2.1, utilizando-se apenas a concentração de 320 µL.....	62
2.4.1 Perda de Massa Fresca dos Frutos.....	62
2.4.2 Firmeza.....	62
2.4.3 Sólidos Solúveis.....	62
2.4.4 Acidez Titulável.....	63
2.4.5 pH.....	63
2.4.6 Coloração do Pericarpo.....	63
3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
3.1- Experimento <i>in vivo</i>	68
3.2 Pós-colheita.....	72
CONCLUSÕES.....	82
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83

RESUMO GERAL

RODRIGUES, Maria Luisa Mendes. **Uso de óleos essenciais no controle da antracnose em frutos de bananeira “Prata-anã”**. 2012. 86 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal no Semiárido)-Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.¹

Para se verificar os efeitos *in vitro* e *in vivo* dos óleos essenciais de cravo, tomilho, gengibre e árvore-do-chá no desenvolvimento de *Colletotrichum musae*, associados a duas formas de aplicação, uma de contato e outra por fumigação, e posteriormente avaliar as características físicas e químicas dos frutos, desenvolveram-se dois experimentos. No primeiro, objetivou-se avaliar o efeito dos óleos essenciais sobre o desenvolvimento de *Colletotrichum musae in vitro e in vivo* pelo método de aplicação por contato. Foram utilizadas soluções de quatro óleos essenciais das espécies de cravo (*Eugenia caryophyllus*), árvore-do-chá (*Melaleuca alternifolia*), tomilho (*Thymus vulgaris*), gengibre (*Zingiber officinale*), em quatro concentrações: 2, 4, 6 e 8 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ que foram adicionadas aos meios de cultura. Adotou-se como testemunha o meio de cultura apenas. As variáveis avaliadas foram germinação, crescimento micelial e produção de conídios. Para o experimento *in vivo* os frutos foram imersos em soluções contendo os diferentes óleos essenciais nas concentrações de 2, 4, 6 e 8 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$, a testemunha consistiu na imersão apenas em água sem o óleo. A cada 3 dias foi avaliado incidência e severidade da antracnose. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado em um esquema fatorial 4x4+1. As médias foram submetidas à análise estatística não paramétrica Kruskal-Wallis. A concentração de 6 $\mu\text{L}/\text{mL}$ do óleo de cravo é a mais eficiente em controlar o crescimento micelial, esporulação e germinação de *C. musae*. No experimento *in vivo*, o tratamento por imersão dos frutos de bananeira Prata-anã em solução de óleos essenciais não é recomendado por causar fitotoxidez. O segundo experimento visou a determinar a melhor concentração e óleo essencial para controlar o desenvolvimento do *C. musae in vitro e in vivo* e posteriormente avaliar as características físicas e químicas dos frutos tratados com óleos essenciais pelo método de fumigação. Para realizar esse método, alíquotas de óleo essencial foram adicionadas em papel-filtro colados na tampa de cada placa de Petri nas concentrações de 2, 4, 6 e 8 μL . As variáveis avaliadas foram germinação, crescimento micelial e produção de conídios. Para o experimento *in vivo* os frutos foram embalados em sacos plásticos sobre uma bandeja de

¹ **Comitê de Orientação:** Prof. D. Sc Edson Hiydu Mizobutsi – UNIMONTES (Orientador)

polietileno expandido juntamente com pedaços de papel-filtro medindo 3 cm² contendo alíquotas dos óleos essenciais nas concentrações de 80, 160, 240 e 320 µL.mL⁻¹, as testemunhas consistiram na adição de 80 µL de água destilada no papel-filtro e no tratamento com o fungicida Imazalil na concentração de 2 mL/L. A cada 3 dias avaliaram-se incidência e severidade da antracnose. Para avaliar as características físicas e químicas dos frutos foi realizado um experimento aplicando os óleos essenciais na concentração de 320 µL por fumigação. Os experimentos foram em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial de 4x4+2. As médias foram submetidas à análise estatística não paramétrica Kruskal-Wallis. Os óleos de árvore-do-chá e gengibre controlaram a incidência e a severidade da antracnose nos frutos. As características pós-colheita de perda de massa fresca e coloração do pericarpo foram mantidas pelos óleos de gengibre e tomilho.

Palavras-Chave: Antracnose, Banana, Óleo essencial.

GENERAL ABSTRACT

RODRIGUES, Maria Luisa Mendes. **Use of essential oils in the control of anthracnose in “Prata-anã” banana fruits.** 2012. 86 p. Dissertation (Master in Plant Production in the semi-arid)-Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.²

To verify the effects *in vitro* and *in vivo* of the essential oils of clove, thyme, ginger and tea tree oil in the development of *Colletotrichum musae*, associates to two application ways, one by contact and another by fumigation, and later to evaluate the physical-chemical characteristics of the fruits, two experiments were carried out. In the first one, the objective was to evaluate the effect of the essential oils on the development of *Colletotrichum musae in vitro* and *in vivo* by the application method for contact. Solutions of four essential oils of the species clove (*Eugenia caryophyllus*), tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*), thyme (*Thymus vulgaris*), ginger (*Zingiber officinale*) were used, in four concentrations: 2, 4, 6 and 8 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ that were added to the culture media. It was adopted as control only the culture medium. The appraised variables were germination, mycelia growth and conidia production. For the experiment *in vivo* the fruits were immersed in solutions containing the different essential oils in the concentrations of 2, 4, 6 and 8 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$, the control consisted of the immersion just in water without the oil. Every 3 days it was evaluated incidence and severity of the anthracnose. The experiments were carried out in an entirely randomized design in a factorial scheme 4x4+1. The averages were submitted to Kruskal-Wallis no parametric statistical analysis. The concentration of 6 $\mu\text{L}/\text{mL}$ of clove oil is the most efficient in controlling the mycelia growth, sporulation and germination of *C. musae*. In the experiment *in vivo*, the treatment by immersion of Prata-anã banana fruits in solution of essential oils is not recommended since causing phytotoxicity. The second experiment aimed to determine the best concentration and essential oil to control the development of *C. musae in vitro* and *in vivo* and later to evaluate the physical-chemical characteristics of the fruits treated with essential oils by the fumigation method. To accomplish that method, dosages of essential oil were added in filter paper glued in the cover of each Petri plate at concentrations of 2, 4, 6 and 8 μL . The appraised variables were germination, mycelia growth and conidia production. For the experiment *in vivo* the fruits were wrapped in plastic sacks on a tray of expanded polyethylene together with pieces of filter paper measuring 3 cm^2 containing dosages of the essential oils in the concentrations of 80, 160, 240 and

² **Guidance Committee:** Prof. D. Sc Edson Hiydu Mizobutsi – UNIMONTES (Adviser)

320 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$, the control consisted of the addition of 80 μL of distilled water on the filter paper and in the treatment with the Imazalil fungicide in the concentration of 2 mL/L. Every 3 days incidence and severity of the anthracnose was evaluated. To evaluate the physical-chemical characteristics of the fruits an experiment it was accomplished applying the essential oils in the concentration of 320 μL by fumigation. The experiments were in entirely randomized designs in factorial scheme $4 \times 4 + 2$. The averages were submitted to Kruskal-Wallis non parametric statistical analysis. The oils of tea tree oil and ginger controlled the incidence and the severity of the anthracnose in the fruits. The post-harvest characteristics of loss of fresh mass and coloration of the pericarp were maintained by the ginger and thyme oils.

Keywords: Anthracnose, Banana, Essential oil.

1 INTRODUÇÃO

A bananicultura está amplamente distribuída no Brasil. A região norte de Minas Gerais ocupa posição de destaque na fruticultura regional abrangendo todas as classes de produtores, pequenos, médios e grandes, apresentando a maior parte da área plantada com a cultura da banana principalmente com a variedade Prata-Anã.

Na região, alguns problemas causados por fitopatógenos acometem a cultura, dentre elas a antracnose cujo patógeno *Colletotrichum musae* provoca grandes perdas após a colheita, podendo infectar o fruto ainda imaturo.

A doença apresenta sintomas em frutos verdes: manchas marrom-escuras com halo esbranquiçado e nos frutos maduros ocorre a formação de lesões escuras e deprimidas de formato irregular. Com a maturação dos frutos, há a formação de acérvulos e massa de esporos de coloração salmão (VENTURA E HINZ, 2002). Os frutos atacados têm amadurecimento acelerado sendo responsável por perdas significativas na cadeia de produção.

Dentre os métodos de controle da antracnose, a quimioterapia com a aplicação de fungicidas é o mais utilizado. Esse método apresenta bons resultados, entretanto causa prejuízos aos aplicadores e aos consumidores, uma vez que podem deixar resíduos na polpa dos frutos. Outra desvantagem é a seleção de raças do patógeno resistentes às moléculas fungicidas. Devido a esses fatores, cada vez mais o mercado consumidor da fruta *in natura* torna-se exigente quanto aos aspectos sanitários e qualitativos, tornando necessária a busca de formas de controle de doenças menos agressivas ao homem e ao meio ambiente.

Nesse contexto, o efeito de óleos essenciais de espécies medicinais tem sido alvo de muitos estudos a fim de detectar substâncias existentes nos metabólitos secundários, com efeito fungitóxico ao desenvolvimento de

fitopatógenos. A identificação de tais metabólitos tem mostrado potencial de controle em outros patossistemas como *Cymbopogon citratus*, *Lippia sidoides* e *Ocimum gratissimum* x antracnose do maracujá amarelo (AQUINO, 2011); *Melaleuca alternifolia* x *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Alternaria alternata*.

A identificação de extratos com atividade antifúngica na interação banana x *C. musae* pode direcionar estabelecimento de medidas que possam reduzir a intensidade de antracnose em pós-colheita.

Sendo assim, o objetivo geral do experimento foi avaliar o efeito de diferentes métodos de aplicação e concentrações de óleos essenciais de diferentes plantas no desenvolvimento de *Colletotrichum musae*. Além disso, objetivou-se avaliar a qualidade dos frutos submetidos ao tratamento com óleos essenciais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância da Cultura

A banana, fruta consumida em todas as regiões do mundo, é a fruta símbolo dos países tropicais. Além do sabor, são vários os atrativos nutricionais de estímulo ao seu consumo, é rica em vitaminas A e C, além de fibras e potássio. O Brasil se apresenta como o quinto maior produtor mundial da cultura, perdendo apenas para Índia, Filipinas, China e Equador. Em 2009, a área colhida foi de aproximadamente 479.614 mil ha e a produção de 6.783.480 milhões de toneladas (FAO, 2011), posicionando a banana como a segunda fruta mais cultivada no País, atrás apenas da laranja (SENA, 2011).

Na região do norte de Minas Gerais, a cultura da banana ocupa o primeiro lugar em área de produção quando comparada a outras frutas, sendo 9.431,16 hectares de área em produção dividida entre as cidades de Janaúba, Jaíba, Espinosa, Itacarambi e Januária, que respondem pela produção de 181.919.75 toneladas da fruta que sai da região e é comercializada em todo o país (ABANORTE, 2011).

O volume de exportação no ano de 2010 foi de 780.413.735 kg (IBRAF, 2010). Em relação aos outros países destaca-se como o terceiro maior produtor de frutas, com 42 milhões de toneladas, dos quais 28% são para exportação (BRAZILIANFRUIT, 2012). Esses dados mostram que o volume de exportação ainda é pequeno principalmente devido ao elevado volume de perdas, que correspondem a 30-40% da produção (IBRAF, 2005). Dentre as doenças que acometem a cultura, a antracnose se destaca como a de maior importância após a colheita dos frutos, prejudicando a comercialização.

Na tentativa de reduzir as podridões de pós-colheita, várias técnicas têm sido adotadas com a finalidade de minimizar as perdas provocadas pelos

patógenos causadores de doenças. Dentre elas, o controle químico (inibidores de amadurecimento, fungicidas sistêmicos e protetores), o controle biológico (antagonistas), o controle físico (refrigeração, o tratamento térmico, a radiação, a atmosfera controlada e modificada) e a indução de resistência (elicitores bióticos e abióticos), entretanto a eficácia dessas medidas de controle pode variar conforme a espécie ou a cultivar, a maturação fisiológica e as características bioquímicas do tecido da fruta (BARKAI-GOLAN, 2001).

Dentre os métodos de controle existentes, o controle químico é o mais utilizado na pós-colheita. O Brasil ocupa posição de destaque no consumo de defensivos agrícolas, finalizando no ano de 2011 com a comercialização de R\$ 14,1 bilhões em produtos, 16,3% mais do que em 2010 (SINDAG, 2012).

Em decorrência dos prejuízos que os defensivos vêm causando ao homem e ao meio ambiente, torna-se imprescindível buscar medidas alternativas de controle, como o uso de produtos naturais, os quais devem ser eficientes e de baixo impacto ambiental (LIMA, 2007).

A produção de alimentos saudáveis, sem resíduos de agroquímicos, com menor impacto ambiental, de maneira econômica e socialmente sustentável, tem sido o desejo de muitos agricultores. Entretanto, ainda existem vários empecilhos técnicos nessa produção, o que tem dificultado a expansão da área e de culturas específicas e tornado o manejo fitossanitário alvo de investigação, principalmente no que se refere aos métodos alternativos de controle (HOSTETTMANN, *et al* 2003.).

2.2 Colletotrichum musae

Colletotrichum musae (Berk & Curt.) von Arx. (Teleomorfo: *Glomerella musarum* Petch) é um patógeno causador de antracnose em frutos de banana (*Musa spp*) (COUTO e MENEZES, 2004).

O gênero *Colletotrichum* foi estabelecido por Corda, em 1831, sendo caracterizado por frutificações setosas, denominadas acérvulos, nas quais conídios hialinos são produzidos em massa alaranjada ou creme. Os conídios produzidos nos acérvulos estão envolvidos por uma matriz gelatinosa constituída de polissacarídeos e proteínas solúveis em água. Essa matriz, provavelmente, protege os conídios da dissecação, aumentando a eficiência de germinação e penetração no tecido hospedeiro (MENEZES, 2006).

Em condições favoráveis, os conídios germinam na superfície de frutos imaturos, dentro de 6 a 8 horas, o que ocorre somente na presença de água livre ou em elevada umidade relativa (>90%). Na extremidade do tubo germinativo do conídio há formação de um apressório, estrutura esta que pode também ser produzida na extremidade de hifas do micélio. Em geral, os apressórios são resistentes às condições adversas do ambiente, atuando como órgão de sobrevivência. No processo de infecção, o apressório adere à superfície do hospedeiro por meio de uma mucilagem hemicelulósica, emitindo hifas de penetração e colonização do tecido, fato já observado por Menezes e Hanlin (1996), em *C. gloeosporioides*.

A temperatura ótima para o crescimento micelial de *C. musae* está entre 27 e 30 °C enquanto que para *C. gloeosporioides* está entre 20 e 25 °C (MAIA *et al.*, 2011).

2.2 Antracnose da banana

Muitas doenças de fruteiras podem incidir sobre diferentes partes das plantas no campo, outras incidem sobre frutos em condições de pós-colheita. Após a maturação, os frutos não têm importância para as plantas, sendo a decomposição por microrganismos um processo normal e em muitos casos necessário para a liberação e germinação das sementes. Dessa forma, as plantas

não tiveram que investir muito na defesa de frutos nos estágios finais da maturação, fato que torna ainda mais difícil a adoção de medidas que visam a reduzir as perdas ocasionadas por patógenos em pós-colheita (LIMA e ASSUNÇÃO, 2007).

As doenças pós-colheita, como a antracnose, podem iniciar no campo, durante a ontogenia do fruto, ou surgirem depois da colheita, com a maturação fisiológica (OLIVEIRA *et al.* 2006). As infecções quiescentes podem começar em qualquer estágio de desenvolvimento do fruto na planta, ocorrendo a inibição do patógeno em decorrência de condições fisiológicas como presença de taninos na casca verde dos frutos impostas pelo hospedeiro, até que o estágio de maturação do fruto tenha sido alcançado e/ou tenha-se iniciado a respiração climatérica. O mecanismo de quiescência de fungos em frutos pode variar conforme a combinação patógeno-hospedeiro. A quiescência do fungo pode ocorrer na germinação do esporo, no alongamento do tubo germinativo, na formação do apressório e na penetração ou subsequente colonização (PRUSKY, 1996). Tal mecanismo mantém o nível baixo de metabolismo, entretanto, pode ativar fatores de patogenicidade que resultam em parasitismo ativo nos tecidos do hospedeiro (BATISTA e BARBOSA, 2010).

Esporos de fungos que causam podridão em frutos, como *Colletotrichum* spp., são disseminados por água de chuva ou de irrigação para frutos imaturos, nos quais germinam em poucas horas e formam apressório. Do apressório surgem hifas de infecção, que, por força mecânica e ação da cutinase, penetram na cutícula e nas células da epiderme. O crescimento posterior do patógeno pode ser contido pela resistência dos tecidos imaturos do hospedeiro. Entretanto, a maioria dos apressórios não germina imediatamente, mas permanece aderida ao hospedeiro, funcionando como forma quiescente do patógeno (ZAMBOLIM, *et al.* 2002).

A ativação da infecção quiescente envolve uma série de eventos coordenados. Essa ativação pode ocorrer pela quebra de defesa do hospedeiro e indiretamente pela detoxificação de agentes antifúngicos presentes no hospedeiro (PRUSKY e LICHTER, 2007). Pode resultar não apenas na redução de indução ou barreiras pré-formadas do hospedeiro, mas também pela produção e sinais específicos do hospedeiro, como o etileno que ativa genes iniciadores da germinação do apressório e fatores de patogenicidade (PRUSKY, 1996).

2.3 Controle de patógenos quiescentes

A resistência de frutos imaturos à colonização pelos patógenos pode estar baseada em fatores como: presença de compostos tóxicos (como fenóis e taninos), substâncias constitutivas, complexas e inadequadas à nutrição dos patógenos, incapacidade do patógeno em degradar as substâncias pécticas da parede celular dos frutos imaturos, e produção de fitoalexinas por frutos imaturos na pós-infecção (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

2.3.1 Controle físico

Os métodos físicos podem agir 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 (BENATO, 1999). Os tratamentos físicos incluem o uso de altas e baixas temperaturas para reduzir o crescimento dos patógenos (CHITARRA e CHITARRA, 2005). Nesta modalidade de controle são utilizados vários agentes físicos para reduzir o inóculo ou o desenvolvimento das doenças. Os principais são: temperatura, radiação, ventilação e luz (GHINI e BETTIOL, 1995).

2.3.2 Controle Cultural

No controle das doenças em frutos e hortaliças, na maioria das vezes, a melhor opção para aumentar a vida em pós-colheita de produtos perecíveis é a utilização das práticas culturais, que devem começar antes da colheita (VENTURA e COSTA, 2006).

A aplicação do controle cultural se baseia no fato de que o objetivo é antecipar-se a qualquer fitomoléstia que venha a ocorrer, ou seja, procurar monitorar o ambiente e buscar alternativas como: supressão do aumento e/ou a destruição do inóculo existente; escape das culturas ao ataque potencial do patógeno; regulação do crescimento da planta direcionado à menor suscetibilidade (TORRES, 2010).

2.3.3 Controle químico

Fungicidas são os principais produtos utilizados no controle de doenças pós-colheita. São aplicados de forma preventiva, antes da colheita para controlar doenças quiescentes, protegendo os frutos em sua fase suscetível, e de forma erradicante, eliminando o inóculo; ou protetora, protegendo os ferimentos na pós-colheita, para controlar as doenças ocasionadas por patógenos que infectam o fruto através de ferimentos ocasionados durante a colheita e beneficiamento (AMORIM e MARTINS, 2006).

2.3.4 Controle Alternativo

O cenário mercadológico internacional de frutas e hortaliças valoriza cada vez mais a qualidade e respeito ao meio ambiente. Assim, a preocupação mundial com relação à poluição ambiental e aos riscos à saúde promovidos pelos agrotóxicos, somado à resistência de patógenos a fungicidas e à retirada de

alguns produtos do mercado, têm levado ao aumento das pesquisas envolvendo a utilização de agentes alternativos, potenciais indutores de resistência, para o controle de doenças em pós-colheita (CIA *et al.* , 2007).

Dessa forma, a procura por novos agentes antimicrobianos, a partir de plantas, é intensa por causa da crescente resistência dos microrganismos patogênicos, frente aos produtos sintéticos. Trabalhos desenvolvidos com extratos brutos ou óleos essenciais, obtidos a partir de plantas medicinais têm indicado o potencial dos mesmos no controle de fitopatógenos (CUNICO *et al.*, 2003) Uma planta medicinal pode ser definida como qualquer vegetal que produza, em quantidade considerável substâncias biologicamente ativas utilizadas direta ou indiretamente como medicamento (CASTRO *et al.*, 2004).

Essas plantas possuem compostos secundários, compostos não vitais às plantas, mas com função de proteção contra pragas e doenças e atração de polinizadores, que tanto podem ter ação fungitóxicas (ação antimicrobiana direta) como eliciadora, ativando mecanismos de defesa nas plantas (ação antimicrobiana indireta) (STANGARLIN *et al.*, 1999).

A exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes nas tinturas ou em óleos essenciais de plantas podem representar, ao lado da indução de resistência, mais uma forma potencial de controle de doenças em plantas cultivadas. Compostos secundários presentes em plantas medicinais podem desempenhar funções importantes em interações planta-patógeno, através de ação antimicrobiana direta ou ativando mecanismos de defesa de outras plantas que venham a ser tratadas com esses compostos (SCHWAN-ESTRADA, 2003).

A utilização das propriedades terapêuticas das plantas medicinais é uma prática milenar encontrada nos tratados de fitoterapia das grandes civilizações, muitas delas já extintas, como também nas tribos indígenas e povos de todos os continentes, principalmente dos índios brasileiros que, com frequência, são

abordados por pesquisadores estrangeiros ávidos por descobrirem substâncias naturais abundantes em nossa flora tropical que sejam capazes de serem transformadas em medicamentos. A flora brasileira é rica em espécies com princípios ativos de importância terapêutica, com potencialidades não apenas de utilização na medicina natural como também na agricultura, no controle integrado de pragas e doenças de plantas cultivadas (CARVALHO *et al.*, 2009).

Alguns autores iniciaram pesquisas com a finalidade de identificar compostos existentes nas plantas capazes de controlar o desenvolvimento de fitopatógenos.

A quitosana tem sido utilizada no controle de vários fitopatógenos. A ação do produto sobre o patógeno pode ser de forma direta ou através da indução de resistência. Em experimento com uvas, Maia (2010) observou que a utilização de quitosana na concentração de 160 mg L⁻¹ reduziu a severidade do mildio em 70,2 % e 79,1 % nas cultivares Merlot e Cabernet Sauvignon, respectivamente.

A quitosana pode ter efeito na indução de resistência como foi verificado por Aguiar (2011), que em experimento utilizando quitosana em variedades de banana verificou que quando aplicada nos frutos antes da inoculação de *Colletotrichum musae* os frutos apresentam as características físicas e químicas alteradas, resultando em atraso no amadurecimento, e para a variedade Caipira observou-se menor incidência de doença.

Nascimento *et al.* (2008), trabalhando com mamão, verificaram que os resultados obtidos demonstraram que extratos de angico e alho proporcionaram um menor crescimento micelial, *in vitro*, e o Bion® (acibenzolar-S-methyl-ASM)) manteve um eficiente controle da podridão peduncular em frutos de mamão. Nas mudas, o efeito do alho, angico e Bion® diferiram significativamente dos demais, sendo que o Bion® apresentou melhor controle da severidade da antracnose.

Scolfaro (2009) constatou que em frutos de goiaba o tratamento hidrotérmico, a 50 °C por 10 min, controla a antracnose em goiabas, armazenadas por oito dias a 25 °C, não causando o escurecimento dos frutos. Em outro tratamento utilizando etanol, na concentração de 50%, aplicado via imersão dos frutos por 2 min, verificou redução na incidência e na severidade da antracnose em goiabas até quatro dias a 25 °C sem alterar os atributos de qualidade dos frutos, ao utilizar ácido acético na concentração de 500 µL L⁻¹, aplicado por imersão durante 2 min, observou-se uma redução na severidade da antracnose em goiabas.

2.4 Plantas medicinais

2.4.1 Cravo

O craveiro-da-índia *Eugenia caryophyllus*, pertencente à família Mirtaceae é uma árvore perene de porte ereto, formato cilíndrico, de 12 a 15 metros de altura e diâmetro de copa em torno de 6 metros. Seu cultivo se adapta melhor em regiões de clima tropical úmido (LORENZI E MATOS, 2002).

No Brasil é produzido na região sul da Bahia. A floração se inicia a partir do 5º ou 6º ano de plantio estabilizando-se a partir do 12º ano com produção média de 10 kg de cravo seco por planta. O principal produto do craveiro da índia é o botão floral colhido antes da antese, o qual é vendido após a secagem. O óleo essencial, extraído das diversas partes da planta (flores, talos, folhas) contém 84,4% de eugenol, o qual é utilizado na farmácia, perfumaria e produtos dentifrícos (SACRAMENTO, s.d.)

2.4.2 Tomilho

O tomilho *Thymus vulgaris* pertence à família Lamiaceae, é um subarbusto perene, ereto, ramificado, muito aromático, mede de 20 a 30 cm de altura. É originado da região Mediterrânea, e no Brasil é mais cultivado no sul e Sudeste, suas folhas e ramos novos são de sabor levemente picante e amargo, é amplamente utilizado na culinária como condimento, na indústria de perfumes como aromatizante e na medicina popular atua como antisséptico e antifúngico (LORENZI E MATOS, 2002).

2.4.3 Gengibre

O gengibre *Zingiber officinale* pertence à família Zingiberaceae, originária da ilha de Java, da Índia e da China. Erva rizomatosa, ereta, mede cerca de 50 cm de altura. É originária da Ásia e atualmente é cultivada no Brasil, seus rizomas têm uso na culinária, na medicina popular e é uma planta rica em citral, cineol, borneol e sesquiterpenos (zinginereno e bisaboleno). O óleo essencial extraído do rizoma fresco tem atividade antimicrobiana (LORENZI E MATOS, 2002).

A partir do rizoma do gengibre são extraídos dois produtos importantes, as oleoresinas e o óleo essencial. As oleoresinas são extraídas a partir do pó do rizoma, com solventes do tipo etanol acetona e tricloetano, e apresentam-se na forma de um líquido viscoso de coloração castanho-escura, contendo diversas substâncias arrastadas pelos solventes, além de óleo essencial e ácidos graxos. O óleo essencial é extraído por arraste a vapor d'água (BIASI E DESCHAMPS, 2009).

2.4.4 Árvore-do-chá

A espécie *Melaleuca alternifolia* pertence à família Mirtaceae, ocorre naturalmente na Austrália, onde se concentram os principais produtores, que dominam, de certa forma, o mercado e as tecnologias de produção, sendo ela o principal fornecedor mundial desse óleo (aproximadamente 400 t/ano). Têm-se relatos de que a China também produz o óleo, porém em escala não significativa perante o mercado mundial. O consumo desse óleo está disperso no mundo inteiro pelas indústrias (farmacêuticas, de cosméticos e de limpeza, dentre outras), sendo os principais centros consumidores América do Norte e Europa (CASTRO *et al.*, 2005).

O óleo essencial apresenta compostos majoritários, o terpinen-4-ol (46.38%), p-cimeno (16.52%), γ -terpineno (9,74%), α -terpineol (4,35%) e 1,8-cineol (3,72%). Geralmente altas concentrações do princípio ativo terpinen-4-ol do óleo essencial são desejadas (BIASI e DESCHAMPS, 2009).

2.6 Óleos essenciais

Óleos essenciais são produtos aromáticos do metabolismo secundário de plantas, normalmente produzidos por células secretoras ou grupos de células, sendo encontrados em diversas partes do vegetal, como folhas e talos. São comumente concentrados nas folhas, casca ou frutos, e frequentemente apresentam composição diferente (SCHERER, 2009).

São extraídos de plantas através da técnica de arraste a vapor, na grande maioria das vezes, e também pela prensagem do pericarpo de frutos cítricos, que no Brasil dominam o mercado de exportação. São compostos principalmente de mono e sesquiterpenos e de fenilpropanoides, metabólitos que conferem suas características organolépticas. Flores, folhas, cascas, rizomas e frutos são matérias-primas para sua produção, a exemplo dos óleos essenciais de rosas,

eucalipto, canela, gengibre e laranja, respectivamente. Possuem grande aplicação na perfumaria, cosmética, alimentos e como coadjuvantes em medicamentos. São empregados principalmente como aromas, fragrâncias, fixadores de fragrâncias, em composições farmacêuticas e orais e comercializados na sua forma bruta ou beneficiada, fornecendo substâncias purificadas como o limoneno, citral, citronelal, eugenol, mentol e safrol (BIZZO *et al.*, 2009).

Segundo Martins *et al.* (2006), vários fatores podem influenciar na produção dos óleos essenciais. Dentre eles estão os genéticos, os ambientais (temperatura, luz, água, solo, altitude, latitude, etc.) e os fatores fitotécnicos (época e forma de colheita, espaçamento, transporte, secagem, armazenamento, etc). Dentre os fatores ambientais, vários estudos mostram a influência da fertilidade do solo na produção de metabólitos secundários, porém os resultados são contraditórios (CASTRO *et al.*, 2004). Quanto ao efeito da luz solar na produção de metabólitos secundários, diversos trabalhos mostraram que a maior produção sob altos níveis de radiação solar pode ser mais bem entendida, considerando-se que as reações biossintéticas dependem de suprimento de esqueletos carbônicos, realizados por meio do processo fotossintético, e de compostos energéticos (ATP, NADPH e acetil-SCoA), que participam da regulação dessas reações (TAIZ e ZAIGER, 2004).

2.6.1 Uso de Óleos Essenciais no controle de fitopatógenos

A exploração da atividade biológica dos metabólitos secundários dos extratos brutos e dos óleos essenciais de plantas surge como uma forma potencial de controle alternativo de doenças das plantas cultivadas. Vários extratos brutos e óleos essenciais de plantas já foram testados sobre fungos fitopatogênicos (TAKATSUKA *et al.*, 2003; BASTOS e ALBUQUERQUE, 2004; BALBI-PEÑA *et al.*, 2006; PEREIRA *et al.*, 2006; SOUZA JUNIOR *et*

al, 2009). Os resultados alcançados nessa linha de pesquisa têm-se mostrado promissores para uma utilização prática no controle de fitopatógenos em diversas culturas (FRANCO e BETTIOL, 2000; BENATO *et al.*, 2002; CARRÉ *et al.*, 2002; MOREIRA *et al.*, 2002).

O óleo essencial de *Piper aduncum* foi testado por Bastos e Albuquerque (2004), para o controle em pós-colheita de antracnose em frutos de bananeira Prata-anã. Os autores verificaram que o óleo se mostrou eficiente tanto na inibição do crescimento micelial e na germinação de conídios de *C. musae* quanto no controle da podridão dos frutos, reduzindo a incidência e a severidade da doença. A maior atividade antifúngica de *P. aduncum* foi encontrada na concentração de 150 µg/ ml controlando 100% das duas características avaliadas.

Em outro trabalho com alface e repolho, Costa *et al.* (2008) utilizaram diferentes concentrações de óleo de citronela a fim de controlar o desenvolvimento da bactéria fitopatogênica *Erwinia carotovora*. Os autores observaram que os resultados obtidos utilizando o óleo essencial foram superiores aos obtidos ao utilizar o antibiótico tetraciclina. Foi verificado também que as melhores concentrações foram 1%, 2%, 4% e 8%.

Em experimento realizado com soja, Medice *et al.*, (2007) testaram o efeito de óleos essenciais de diferentes espécies vegetais: *Corymbia citriodora* (eucalipto citriodora), *Cymbopogon nardus* (citronela), *Azadirachta indica* (nim) e *T. vulgaris* L (tomilho) sobre a germinação dos urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*. Os óleos essenciais apresentaram efeito fungistático direto. Nas plantas tratadas com óleo de tomilho os urediniósporos se apresentavam murchos e em menor número, bem como as urédias também eram menores.

Como verificado por Zambonelli *et al.*, (1996) com outros fitopatógenos, o óleo de tomilho foi capaz de causar degeneração das hifas e extravasamento do citoplasma celular. Tal dano pode ter ocorrido com os urediniósporos neste

trabalho, tornando-os inviáveis para a germinação, visto que tem sido comprovado que estes são muito sensíveis. Em uma segunda parte do experimento realizado *in vivo* verificou-se a redução da severidade da doença nas plantas tratadas com os óleos, o que pode ser explicado parcialmente pela presença de urédias de menores tamanho, que irão produzir menos urediniósporos, reduzindo conseqüentemente a taxa de progresso da doença.

Segundo Teuscher (1990), a exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleos essenciais de plantas podem se constituir, ao lado da indução de resistência, em mais uma forma potencial de controle alternativo de doenças em plantas cultivadas.

Carnelossi *et al.*, (2009) verificaram que os tratamentos com os óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*, *Eucalipto citriodora*, *Mentha arvensis* e *Artemísia draculuns* inibiram o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. O óleo de *C. citratus* foi o mais eficiente, inibindo até 100% o crescimento micelial e esporulação. Os óleos essenciais de plantas medicinais têm apresentado efeito fungicida tanto na esporulação quanto na geminação de conídios de diferentes fitopatógenos.

Souza Júnior *et al.*, (2009) constataram que os óleos essenciais de alecrim, alfavaca, capim-santo, cidrão e goiaba inibiram em 100% a germinação dos esporos de *C. gloeosporioides* e conseqüentemente, o crescimento micelial do fungo, comprovando-se, portanto, o efeito fungicida e não somente fungistático dos óleos essenciais. Os autores relatam que esses resultados podem ter sido influenciados pela presença de vários compostos com ação antimicrobiana. As folhas de alfavaca-cravo apresentam 3,6% de óleo essencial, sendo que 73,3% são eugenol, 12,1% de 1,8 cineol, 2,3% de β -cariofileno, 2,1% de (Z)-ocimeno (LORENZI, 2002). O óleo de alecrim-pimenta possui como principal componente o timol (60%), que tem conhecida ação bactericida e antimicótica (GOODMAN e GILMAN, 1978). O óleo essencial presente nas

folhas de goiabeira é rico em bisaboleno e outros sesquiterpenos, além de acetais dietoximetano e dietoxietano que dão o aroma aos frutos (LORENZI, 2002). O óleo essencial de cidrão contém geraniol, citral, mirceno, dentre outros (MARTINS *et al.*, 2002).

Pessoa *et al.* (1996), utilizando o óleo essencial de alecrim-pimenta a 10%, observaram inibição do crescimento micelial dos fungos *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Rhizopus* sp. em testes *in vitro*. Em outro trabalho, Vivas *et al.* (2006) constataram que o efeito do óleo essencial de capim-santo promoveu inibição de 100% do crescimento micelial do fungo *Colletotrichum acutatum*, nas concentrações superiores a 100µL/mL.

A atividade antifúngica dos óleos de *Cinnamomum zeylanicum*, *Cymbopogon citratus*, *Syzygium aromaticum*, *Eucaliptus citriodora*, *Cymbopogon martini* sobre de *Alternaria solani* em tomateiro foi avaliada por Abreu (2006). O autor observou a ação dos óleos essenciais na inibição do patógeno sendo detectada já na concentração de 500 µl/ml, com o *C. Martini*. Na concentração de 750 µL/mL, os óleos de *C. martini* e *E. citriodora* superaram em 52% os óleos de *C. zeylanicum*, *C. citratus* e *S. aromaticum*. Para concentração de 5000 µL/mL, *C. martini* e *E. citriodora* promoveram a inibição total da *A. solani* nas 42 folhas, superando os demais óleos. Avaliando-se os folíolos doentes verificou-se que à medida que se aumentou as concentrações, houve tendência de diminuição da incidência da doença.

Martins (2010) analisou o efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *M. alternifolia* sobre o crescimento micelial *in vitro* dos fungos fitopatogênicos: *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Alternaria alternata*. O autor verificou que houve inibição do desenvolvimento dos fungos fitopatogênicos testados. O óleo essencial reduziu significativamente o

crescimento micelial de todos os fungos testados. Observou-se que quanto maior a concentração avaliada, maior o controle do patógeno.

Alves *et al.* (2002) e Alves *et al.* (2003) relataram a eficiência dos monoterpenos citral, citronelal e dos óleos essenciais das plantas *C. citratus*, *C. nardus* e *E. citriodora* no controle, *in vitro*, da germinação de conídios e do crescimento micelial de *C.musae*.

O óleo da casca e folha da canela (*Cinnamomum zeylanicum*) apresentou efeito no controle de *C.musae*. O principal constituinte das folhas da canela é o eugenol e o das cascas é o cinamaldeído, substâncias que podem exercer atividades antimicrobianas. O óleo de cravo-da-índia (*S. aromaticum*) também apresentou propriedades fungitóxicas contra *C. musae* inibindo em até 100% o crescimento micelial do fungo (RANASINGHE *et al.*, 2002), e conforme os autores, o eugenol também presente no cravo-da-india pode ter sido o componente tóxico tanto do extrato aquoso quanto do óleo.

O óleo essencial de *C. citratus* que apresenta citral em sua composição química, na concentração de $6\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ e os óleos de *Lippia sidoides* e *Ocimum gratissimum* constituídos de timol e eugenol respectivamente, em maior percentagem em sua composição química, na concentração de $8\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ são tão eficientes no controle pós-colheita de *C. gloeosporioides* quanto o fungicida tebuconazol (AQUINO, 2011).

Existem evidências suficientes de que a utilização de extratos vegetais e óleos essenciais possam atuar no controle de doenças originárias de infecções quiescentes, bem como contribuir para que os frutos adquiram maior tolerância a microrganismos patogênicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABANORTE- Associação Central dos Fruticultores do Norte de Minas. **Área fruticultura. Tonelada fruticultura**. 2011. Disponível em: www.abanorte.com.br. Acesso em: 10 junho de 2012

ABREU, C. L. M. **Controle de Alternaria solani em tomateiro (Lycopersicon esculentum) com óleos essenciais**. 2006. 71 f. Tese de Doutorado. Programa de Pós-graduação em Agronomia (Horticultura), Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2006.

AGUIAR, R. M. **Efeito da quitosana sobre a antracnose e características físicas e químicas de frutos de cultivares de bananeiras**. 2011. 84 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal)-Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido. Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, 2011.

ALVES, E. S. S. *et al.* Eficiência de óleos essenciais no controle *in vitro* da germinação de conídios e do crescimento micelial de *Colletotrichum musae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, p.75, 2002.

ALVES, E. S. S. *et al.* Avaliação de óleos essenciais na inibição do crescimento de fungos de fruteiras. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 343, 2003.

AMORIM, L.; MARTINS, M. C. Controle químico. In: OLIVEIRA, S. M. A. *et al.* (Org.). **Patologia Pós-colheita**. Frutas, Olerícolas e Ornamentais Tropicais. 1 ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. v. 1. 855 p.

AQUINO, C. F. **Ação de óleos essenciais sobre Colletotrichum gloeosporioides (Penz) do maracujazeiro-amarelo**. 2011. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias Área de concentração em Agroecologia) Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, MG. 2011.

BALBI-PEÑA, M. I. *et al.* Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e *curcumina* – I. Avaliação *in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.1, p.10-14, 2006.

BARKAI-GOLAN, R. **Postharvest diseases of fruits and vegetables – development and control**. Amsterdam: Elsevier Science B.V., 2001. 418 p.

BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29 p.555-557. out. 2004.

BATISTA, D. C.; & BARBOSA, M. A. **Doenças da Mangueira**. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/CPATSA-2009-09/39780/1/OPB>> Acesso em: 10 outubro 2010.

BENATO, E. A. Controle de doenças pós-colheita em frutas tropicais. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 25, p. 90-93, 1999.

BENATO, E. A. *et al.* Avaliação de fungicidas e produtos alternativos no controle de podridões pós-colheita em maracujá-amarelo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 28, p. 299-304, 2002.

BIASI, L. A.; DESCHAMPS, C. **Plantas aromáticas do cultivo a produção de óleo essencial**. 1 ed. Curitiba: Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, 2009. 160 p.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BRAZILIANFRUIT, 2012. Disponível em: <<http://www.brazilianfruit.org/newbrazilianfruit.asp>>. Acesso em: 10 novembro 2012.

CARNELOSSI, P. R. *et al.* Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.11, n.4, p. 399-406, 2009.

CARRÉ, V. *et al.* Fungitoxicidade de quitosana e extrato de *Artemisia camphorata* a *Colletotrichum musae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 291, 2002.

CARVALHO, R. A. *et al.*; Extratos de Plantas Mediciniais como Estratégia para o Controle de Doenças Fúngicas do Inhame (*Dioscorea* sp.) no Nordeste. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, mar./abr. 2009.

CASTRO, H. G. *et al.* **Contribuição ao estudo das plantas medicinais metabólitos secundários**. 2. ed. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2004. p. 99.

CASTRO C. DE. *et al.* Análise econômica do cultivo e extração do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 29, n. 2, p. 241-249, 2005.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA, 1990. 293 p.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2 ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.

CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; BENATO, E. A. Indução de resistência no manejo de doenças pós-colheita. In: RODRIGUES, F. A.; ROMEIRO, R. S. (Org.). **Indução de Resistência em Plantas a Patógenos**. 1 ed. Viçosa: UFV, 2007. p. 245-268.

COSTA, C. M. G. R. *et al.* Óleo essencial de citronela no controle da bactéria fitopatogênica *Erwinia carotovora*. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 2, n. 2, p.11-14, 2008.

COUTO, E. F.; MENEZES, M. Caracterização fisiomorfológica de isolados de *Colletotrichum musae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 406-412, 2004.

CUNICO, M.M. *et al.* Estudo da atividade antifúngica de *Ottonia martiana* Miq., *Piperaceae*: um teste *in vivo*. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 4, n. 2, p. 77-82, 2003.

FAO- FAOSTAT- **Database results**. 2011. Disponível em :
<<http://www.fao.org.br>> . Acesso em: 24 maio 2011.

FRANCO, D. A.; BETTIOL, W. Controle de *Penicillium digitatum* em pós-colheita de citros com produtos alternativos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, p. 602-606, 2000.

GHINI, R., BETTIOL, W. Diagnose. In: KIMATI, H. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. Controle cultural. 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 786-803.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1978. p. 883-884.

HOSTETTMANN, K. *et al.* **Princípios ativos de plantas superiores**. São Carlos: EdUFScar, 2003. p. 9. (Série de textos da Escola de Verão em Química, v.IV)

INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. **Estatísticas**. Disponível em:
<<http://www.ibraf.or.br/x-es/f-esta.html>> Acesso em: 15 de agosto 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. **Estatísticas**. Disponível em:
<<http://www.ibraf.or.br/x-es/f-esta.html>> Acesso em: 10 de novembro 2012.

LIMA, G. S. DE A.; ASSUNÇÃO, I. P. **Mecanismos de resistência a *Colletotrichum* em fruteiras tropicais**. I Workshop Regional sobre

Colletotrichum. Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2007.

LIMA, J. de S. **Ação fungitóxica de extratos vegetais de plantas da caatinga sobre o crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae* (pat.) Griffon & maubl. Em *vitis vinifera* L.** Disponível em: <<http://connepi.ifal.edu.br/ocs/index.php/connepi/CONNEPI2010/paper/viewFile/1723/9>> Acesso em: 15 de junho 2011.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: Nativas e exóticas cultivadas.**, Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512 p.

MAIA, *et al.* Efeitos da quitosana no desenvolvimento *in vitro* de videiras cv. Merlot e no crescimento micelial do fungo *Elsinoe ampelina*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 6, p. 1425-1430, nov./dez., 2010.

MAIA, F. G. M. *et al.* Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp. isolados de mangueira com sintomas de antracnose. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 2, p. 205-210, Mar./Apr. 2011

MARTINS, J. A. S. *et al.* Avaliação do efeito do óleo de *Melaleuca alternifolia* sobre o crescimento micelial *in vitro* de fungos fitopatogênicos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 1, p. 49-51, jan./fev. 2010.

MARTINS, M. C., *et al.* Doenças das rosáceas de caroço. In: KIMATI, H. *et al.* **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas.** 4. ed. São Paulo: Ceres, 2006, v. 2, cap. 62, p. 545-557.

MEDICE, R., *et al.* Óleos essenciais no controle da Ferrugem Asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd, & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n1, p. 83-90. 2007.

MENEZES, M.; HANLIN, R.T. Morphological variability of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from avocado trees from Northeastern Brazil. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 27, n. 36, p. 228. 1996.

MENEZES, M. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, v. 3, p.170-179, 2006.

MOREIRA, L. M. *et al.* Controle em pós-colheita de *Monilia Fructicola* em pêssegos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 395-398, 2002.

NASCIMENTO, L. C.; NERY, A. R.; RODRIGUES, L. N. Controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamoeiro, utilizando extratos vegetais, indutores de resistência e fungicida. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 3, p. 313-319, 2008.

OLIVEIRA, S. M. A. *et al.* **Patologia pós-colheita – frutas, olerícolas, e ornamentais tropicais**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 855 p.

PEREIRA, M. C.; VILELA, G. R.; COSTA, L. M. A. S. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 731-733, 2006.

PESSOA, W. R. L. S.; OLIVEIRA, S. M. A. Doenças da Banana. In: OLIVEIRA *et al.*, **Patologia pós-colheita: Frutas, olerícolas e ornamentais tropicais**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p. 540-553.

PRUSKY, D. Pathogen quiescence in postharvest diseases. **Annual Review Phytopathology**, [s.l.], v. 34, p. 413-434, 1996.

PRUSKY, D.; LICHTER, A. Ativation of quiescent infections by postharvest pathogens during transition from the biotrophic to the necrotrophic stage. **Microbiological Letters**, Amsterdam, v. 268, 2007.

RANASINGHE, L. JAYAWARDENA, B. ; ABEYWICKRAMA, K. Fungicidal activity of essential oil of *Cinnamomum zeilanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) MERRET, L. M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. **Letters in Applied Microbiology**, [s.l.], v. 35, p. 208-211, 2002.

SACRAMENTO, C. K. do; Especiarias como alternativas em sistemas agroflorestais. Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) DCAA, Ilhéus, BA.

SCHERER, R. L. *et al.* Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-india, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v.11, n.4, p.442-449, 2009.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGLARIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 54- 56, 2003. (Suplemento)

SCOLFARO, F. P. **Agentes alternativos no controle pós-colheita da antracnose em goiabas ‘kumagai’**. 2009. 60 fls. Dissertação (Mestrado em Tecnologia da Produção Agrícola) Instituto Agrônômico. Campinas, 2009.

SOUZA-JUNIOR, I. T.; SALES, N. L. P. MARTINS, E. R. Efeito de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloesporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Revista Biotemas**, Florianópolis, v. 22, n. 3, p. 77-83, 2009.

SENA, J. V. C. Aspectos da produção e mercado da banana no nordeste. **Informe Rural Etene**. Julho, 2011. v. 10. Disponível em:
<http://www.bnb.gov.br/content/aplicacao/etene/etene/docs/ire_ano5_n10.pdf>
Acesso em: 16 de outubro 2011.

SINDAG. **Sindicato Nacional das Empresas de Aviação Agrícola**. Disponível em: <<http://www.sindag.org.br/web/site/xhtml/content/home/default.asp>> Acesso em: 10 de novembro 2012.

STANGARLIN, J. R. *et al.* Plantas medicinais e o controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v.11, p 16-21, 1999.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**, 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 719 p. 2004.

TAKATSUKA, F. S., *et al.* Efeito do óleo essencial de açafrão (*Curcuma longa*) sobre o desenvolvimento micelial de fungos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 36, 2003, Uberlândia. **Anais...**Uberlândia: SBF, 2003. p. 361.

TEUSCHER, E. **Pharmazeutische biologie**. Braunschweig: Vieweg, 1990.

TORRES, J. **Controle cultural. 2010. Disponível em:** <http://fitodisease.blogspot.com/2010_01_01_archive.html> Acesso em: 10 de outubro 2011.

VENTURA, J. A.; COSTA, H. Controle Cultural. In: OLIVEIRA, S. M. A. de. *et al.* (Org.). **Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais**. Brasília: Embrapa. Informações Tecnológicas, 2006, p. 145-16.

VENTURA, J. A.; HINZ, R. H. Controle das doenças da bananeira. In: ZAMBOLIN, L. *et al.* **Controle de doenças de plantas fruteiras**. Viçosa, MG: UFV, 2002. p. 839-926.

VIVAS, M., *et al.* . Inibição *in vitro* do crescimento micelial de *Colletotrichum acutatum* por extrato bruto aquoso e óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf e *Eucalyptus citriodora* Hooker. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, p. 265, 2006.

ZAMBOLIM, L. *et al* . **Controle de doenças de plantas**: Fruteiras. Viçosa: UFV, 2002. v. 2. 1313 p.

ZAMBONELLI, *et al* , A. Effects of essential oils on phytopathogenic fungi in vitro. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 144, n. 3, p. 491-494, 1996.

Capítulo I

EFEITO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO DESENVOLVIMENTO *IN VITRO* E *IN VIVO* DE *COLLETOTRICHUM MUSAE* SOB O MÉTODO DE CONTATO

RESUMO

RODRIGUES, Maria Luisa Mendes. **Efeito de óleos essenciais no desenvolvimento *in vitro* e *in vivo* de *Colletotrichum musae* sob o método de contato.** 2012. Cap. 1. p. 28-50 Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal no Semiárido)-Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.³

A antracnose da bananeira é uma doença causada por *Colletotrichum musae* que infecta os frutos ainda verdes. Os sintomas da doença surgem após o início do amadurecimento dos frutos, prejudicando a aparência e consequentemente a comercialização. Dessa forma, o trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de quatro óleos essenciais sobre o desenvolvimento de *C.musae in vitro e in vivo* associado à aplicação pelo método de contato. Foram utilizados quatro óleos essenciais das espécies cravo (*Eugenia caryophyllus*), árvore-do-chá (*Melaleuca alternifolia*), tomilho (*Thymus vulgaris*) e gengibre (*Zingiber officinale*), em quatro concentrações: 2, 4, 6 e 8 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ e a testemunha constituída apenas de meio BDA. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Uma solução contendo os óleos essenciais foi adicionada ao meio de cultura BDA. As variáveis avaliadas foram germinação, crescimento micelial e produção de conídios. Para o experimento *in vivo* os frutos foram colhidos no estágio dois de maturação e inoculados com uma suspensão de conídios de *Colletotrichum musae* na concentração de 5×10^5 conídios /mL. Para se aplicar os óleos essenciais no método de contato foi feita uma solução de 990 mL água 10 mL Tween 20 e óleo essencial nas concentrações de 2, 4, 6 e 8 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, a testemunha consistiu na imersão apenas em água sem o óleo. As avaliações foram feitas a cada 3 dias avaliando-se a incidência e severidade da antracnose. As médias foram submetidas à análise estatística não paramétrica Kruskal-Wallis. Como resultados obteve-se que a concentração de 6 $\mu\text{L/mL}$ do óleo de cravo é a mais eficiente em controlar o crescimento micelial, esporulação e germinação de *C. musae*. Os resultados do experimento *in vivo* mostram que as concentrações aplicadas causaram fitotoxidez nos frutos em todos os óleos testados inviabilizando as avaliações.

Palavras-Chave: óleos essenciais, germinação, esporulação.

³ **Comitê de Orientação:** Prof. D. Sc Edson Hiydu Mizobutsi – UNIMONTES (Orientador)

ABSTRACT

RODRIGUES, Maria Luisa Mendes. **Effect of essential oils on *in vitro* and *in vivo* growth of *Colletotrichum musae* under the contact method.** 2012. Chapter 1. p. 28-50 Dissertation (Master in Plant Production in the Semi-arid) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.⁴

The banana's anthracnose is a disease caused by *Colletotrichum musae* that infects the fruits still unripe. The symptoms of the disease appear after the beginning of the fruits ripening, harming the appearance and consequently their commercialization. In that way, this work aimed to evaluate the effect of four essential oils on *in vitro* and *in vivo* development of *C. musae* associate to application by the contact method. Four essential oils of the species clove (*Eugenia caryophyllus*), tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*), thyme (*Thymus vulgaris*) and ginger (*Zingiber officinale*) were used, in four concentrations: 2, 4, 6 and 8 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ and the control just constituted of PDA medium. The experiment was carried out in design entirely at random. A solution containing the essential oils was added to PDA medium. The appraised variables were germination, mycelia growth and conidia production. For the experiment *in vivo* the fruits were picked at the stadium two of maturation and inoculated with a suspension of conidia of *Colletotrichum musae* in the concentration of 5×10^5 conidia/mL. To apply the essential oils in the contact method it was made a solution of 990 mL water 10 mL Tween 20 and essential oil in the concentrations of 2, 4, 6 and 8 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$, the control consisted of the immersion just in water without the oil. Every 3 days the incidence and the severity of the anthracnose were evaluated. The averages were submitted to no parametric Kruscal-Wallis statistical analysis. As results, was observed that the concentration of 6 $\mu\text{L}/\text{mL}$ of clove oil is the most efficient in controlling the mycelia growth, sporulation and germination of *C. musae*. The results of the experiment *in vivo* show that the applied concentrations caused fitotoxicity in the fruits in all of the tested oils making unfeasible the evaluations.

Keywords: essential oils, germination, sporulation.

⁴ **Guidance committee:** Edson Hiydu Mizobutsi – UNIMONTES (Adviser)

1 INTRODUÇÃO

A cultura da bananeira apresenta-se como uma das culturas mais produzidas e consumidas no país. Ocupa a oitava posição no consumo das frutas in natura (IBGE, 2011). Destaca-se na região Norte de Minas Gerais onde é amplamente produzida gerando emprego para grande parte da população e desenvolvimento para a região.

A cultura é suscetível a uma doença que se apresenta como a de maior ocorrência na pós-colheita dos frutos, a qual é conhecida como antracnose da bananeira. Na sua fase de pré-colheita os sintomas não aparecem. Na fase de pós-colheita o patógeno é ativado com o amadurecimento do fruto causando lesões que desvalorizam o produto, acelerando o amadurecimento, sendo esses fatores prejudiciais a sua comercialização.

Várias formas de controlar a doença vêm sendo utilizadas. Atualmente o controle químico se apresenta como o método mais eficaz e utilizado pelos produtores, mas apresenta as desvantagens de ser nocivo ao homem e ao meio ambiente e a cultura pode se tornar resistente às moléculas fungicidas mais utilizadas. Formas alternativas de controle têm sido buscadas, uma vez que seus efeitos são menos prejudiciais ao homem e ao meio ambiente. A utilização do controle alternativo com produtos naturais tem sido alvo de muitos estudos a fim de se encontrar uma molécula, produzida através do metabolismo das plantas, capaz de controlar o desenvolvimento do patógeno.

Dessa forma, o objetivo da pesquisa foi verificar o efeito de quatro óleos essenciais nas concentrações de 2, 4, 6 e 8 $\mu\text{L}/\text{mL}$ sobre o desenvolvimento *in vitro* e *in vivo* do *Colletotrichum musae*.

2 METODOLOGIA

2.1 Obtenção do isolado

2.1.1 Obtenção dos isolados de *Colletotrichum musae*

Os isolados multispóricos de *C. musae* utilizados nos ensaios foram obtidos de frutos de bananeira "Prata-anã" exibindo sintomas de antracnose, colhidos em um plantio comercial localizado no município de Nova Porteirinha – MG. Das lesões existentes nos frutos foram retirados fragmentos de tecido da região de transição entre a parte sadia e a parte doente. Posteriormente, procedeu-se ao isolamento indireto. Os fragmentos foram desinfestados superficialmente em uma solução de hipoclorito de sódio a 1%, durante 2 minutos e, em seguida, lavados, em duas porções consecutivas, de água destilada e esterilizada. Logo após, os fragmentos foram plaqueados em meio Agar-água e incubados a 25 °C com fotoperíodo de 12 horas. Após o surgimento das primeiras hifas, estas foram transferidas para o meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) e, incubados a 25 ±2 °C, com fotoperíodo de 12 horas. A partir das culturas puras de *C. musae*, foram preparadas as monospóricas.

2.1.2 Cultura monospórica

As culturas monospóricas foram obtidas através do preparo de uma suspensão de conídios na concentração de $2,5 \times 10^5$ conídios/ mL, da cultura de *C. musae* com sete dias de idade, que foi transferida para tubos de ensaio mantidos sob agitação constante com o auxílio do aparelho vortex. Após a agitação da suspensão, transferiu-se uma alíquota de 1 mL para a placa de Petri contendo meio ágar-água (2%), a qual foi uniformemente espalhada sobre a superfície com o auxílio da alça de Drigalsk. As placas foram incubadas em

câmaras do tipo BOD durante 24 horas à temperatura de 25 ± 2 °C, sob fotoperíodo de 12 horas. Após o período de incubação, os conídios que se apresentavam germinados, ao serem visualizados com auxílio de um microscópio estereoscópico invertido, foram individualmente cortados do meio agar-água com o auxílio de um estilete e posteriormente transferidos para o centro da placa de Petri, contendo meio de BDA. Cada cultura monospórica, num total de 10 isolados, foi identificada e incubada durante sete dias, sob as mesmas condições anteriores.

2.1.3 Preparo da suspensão de conídios

A partir da cultura monospórica foi realizada a repicagem da cultura e após 7 dias foi preparada a suspensão de conídios pela adição de 70 mL de água destilada esterilizada à superfície das culturas. Após, foi feita uma raspagem com o auxílio da alça de Drigalsk e posteriormente filtrou-se a suspensão de conídios e água em dupla camada de gaze. A suspensão foi transferida para uma proveta onde o volume foi reajustado pela adição de água destilada esterilizada para 70mL. Uma gota da suspensão foi colocada em câmara de Neubauer e contada.

2.1.4 Obtenção dos óleos essenciais

Os óleos essenciais utilizados nos testes foram provenientes da empresa Ferquima Indústria e Comércio Ltda. localizada em Vargem Grande Paulista - São Paulo.

Quadro 1- Composição dos óleos essenciais utilizados no experimento.

Cravo botão <i>Eugenia caryophyllus</i>	Árvore-do-chá <i>Melaleuca alternifolia</i>	Gengibre <i>Zingiber officinale</i>	*Tomilho <i>Thymus vulgaris</i>
eugenol = 85%	α -pinene = 2,8 %	α -pineno= 2,5%	β -pineno = 1,48%
α -copaene + metthyl eugenol = 8,2%	sabinene = 0,15	camphene = 8,3%	α -pineno = 6,78%
salicylate de methyle = 0,13%	α -terpinene = 10,9%	eucaliptol + limonene = 7%	p- cimeno = 21,17%
trans- β - caryophyllene = 5,5%	para-cymene = 1,6 5%	β -phellandre = 3,5%	γ -terpineno = 7,17%
iso eugenol = 0,01%	limonene = 1,8%	α - farnense = 4,1%	timol = 55,25%
α - humulene = 0,7%	cineol = 2%	β -sesquiphellandre = 11,75%	terpine-4-ol = 0,56%
acetate d'egenyle = 9,4%	γ -terpinene= 22,7%	α - curcumene = 8,94%	eucaliptol = 0,81%
occyde de β caryophyllene = 0,32%	terpinolene = 3,3%	zingiberene = 31,2%	
α -humulenol = 0,02%	terpinene-4-ol = 41%	myrcene = 0,97%	
	α -terpineol = 4,5%	methyl heptenone = 0,53%	
		α - copaene = 0,48%	

Fontes: Ferquima Ltda. (2012)

*Jakiemiu *et al.* (2010)

2.2 Preparo da solução estoque

Para a obtenção das soluções dos óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus* (cravo), *Melaleuca alternifolia* (árvore-do-chá), *Thymus vulgaris* (tomilho), *Zingiber officinale* (gengibre), preparou-se, inicialmente, uma solução estoque, contendo 99 mL de água destilada esterilizada e 1 mL de Tween 20® (monoleato de sorbitano polioxietileno) a 1% (v/v).

Para obter a solução na concentração de $2 \mu\text{L.mL}^{-1}$, acrescentaram-se 20 μL do óleo essencial em 10 mL da solução estoque. As demais concentrações foram obtidas proporcionalmente para 4, 6 e $8 \mu\text{L.mL}^{-1}$ (AQUINO, 2011).

2.3 Avaliação do crescimento micelial de *Colletotrichum musae*, em diferentes concentrações de óleos essenciais

Em câmara de fluxo laminar, acrescentaram-se 4 mL de cada solução contendo as concentrações de cada óleo essencial em 76 mL de meio BDA fundente, em seguida verteram-se em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, resfriado até a solidificação. Posteriormente, transferiu-se um disco de 5 mm de diâmetro da cultura monospórica com oito dias para o centro de cada placa contendo as concentrações dos óleos essenciais das diferentes plantas. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial $4 \times 4 + 1$, sendo quatro concentrações (2, 4, 6 e $8 \mu\text{L.mL}^{-1}$) e quatro óleos essenciais das espécies: *Eugenia caryophyllus*, *Melaleuca alternifolia*, *Thymus vulgaris*, *Zingiber officinale* com quatro repetições, em que cada uma constituiu-se de uma placa de Petri. Adotou-se como testemunha o meio de cultura BDA apenas. As laterais das placas foram vedadas com filme plástico transparente, para evitar possíveis evaporações dos compostos e ressecamento do meio de cultura. As placas foram acondicionadas em câmara BOD a 25 °C sob fotoperíodo de 12 h. As avaliações foram realizadas por meio de medições diárias do diâmetro das colônias (média

das duas medidas diametricamente opostas), iniciando-se 24 horas após a montagem do experimento, sempre no mesmo horário e finalizando no sexto dia.

2.4 Avaliação da germinação de *Colletotrichum musae* em diferentes concentrações de óleos essenciais

Em câmara de fluxo laminar, acrescentaram-se 4 mL de cada solução contendo as concentrações de cada óleo essencial *Eugenia caryophyllus*, *Melaleuca alternifolia*, *Thymus vulgaris*, *Zingiber officinale* em 76 mL de meio Agar-água fundente, em seguida verteram-se em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, resfriado até a solidificação. Posteriormente 1 mL da suspensão de conídios na concentração de $2,5 \times 10^5$ de *C. musae* foi colocado sobre o meio ágar-água e espalhado com o auxílio da alça de Drigalsk. As placas foram levadas à câmara BOD a 25 °C sob fotoperíodo de 12 h, durante 24 horas e em seguida foram levadas à geladeira para paralisação da germinação. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 4 +1, sendo quatro concentrações (2, 4, 6 e 8 $\mu\text{L.mL}^{-1}$) e quatro óleos essenciais das espécies: com quatro repetições, em que cada repetição constituiu-se de uma placa de Petri. Adotou-se como testemunha o meio de cultura Agar-água apenas. As laterais das placas foram vedadas com filme plástico transparente para evitar possíveis evaporações dos compostos. A germinação dos conídios foi determinada no campo C e em dois campos de visão da câmara de Neubauer, analisando-se 100 conídios por campo. Considerou-se conídio germinado aquele que apresentou o comprimento do tubo germinativo maior ou igual ao diâmetro do conídio. A partir do número total de conídios contados entre germinados e não germinados, determinou-se a quantidade de conídios germinados.

2.5 Esporulação

Após o crescimento micelial ter atingido toda a placa, foram adicionados em cada placa 70 mL de água destilada esterilizada. A seguir, utilizando-se alça de Drigalski, procedeu-se à raspagem das colônias para a liberação dos conídios. Após a filtração da suspensão em dupla camada de gaze esterilizada, completou-se o volume da solução até 70 mL novamente. Foi retirada uma gota de cada suspensão colocada em câmara de Newbauer onde se realizou a contagem do número de conídios no campo C com utilização de microscópio e contador de esporos.

3- Experimento *in vivo*

3.1 Determinação da concentração de óleos essenciais aplicados em pós-colheita para o manejo da antracnose em frutos inoculados e não inoculados com *C. musae*

Cachos de banana 'Prata-Anã' foram colhidos em estádio pré-climatérico de um plantio comercial, localizado no município de Nova Porteirinha em Minas Gerais. Eles foram despencados e as pencas selecionadas, descartando-se as duas pencas superiores e inferiores dos cachos para uniformização dos frutos. As pencas foram acondicionadas em caixas plásticas e transportadas para o Laboratório de Patologia Pós-colheita da Unimontes, onde foi realizada outra seleção de acordo com a uniformidade da cor, tamanho e ausência de injúria, a fim de padronizar os frutos, os quais foram divididos em buquês de 2, em seguida lavados com água e detergente neutro e colocados para secar sobre uma bancada coberta por folhas de jornal. Foi preparada uma suspensão de conídios conforme descrito no item 2.1.3.

3.1.1 Frutos inoculados

Os buquês foram atomizados até o ponto de escorrimento com o auxílio de uma bomba de pintura contendo a suspensão de 5×10^5 esporos/mL⁻¹ de *C. musae*. Após a inoculação, os buquês foram incubados sob câmara úmida a 25 °C UR 85% por 24 horas.

3.1.2 Frutos não inoculados

Os frutos não inoculados não foram atomizados com a suspensão de conídios e permaneceram no laboratório de Patologia Pós-colheita por 24 horas.

Após esse período, os buquês foram imersos em uma solução de óleo essencial feita em um béquer com capacidade de 2 L em que foram adicionados 990 mL de água, posteriormente acrescentaram-se 20 mL do óleo essencial de cravo (*Eugenia caryophyllus*), árvore do chá (*Melaleuca alternifolia*), tomilho (*Thymus vulgaris*) e gengibre (*Zingiber officinale*) e 10 mL de Tween 20® (monoleato de sorbitano polioxietileno) a 1% (v/v), para se obter a concentração de 2 µL/ mL. As demais concentrações foram obtidas, proporcionalmente para 4, 6 e 8 µL.mL⁻¹.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, analisado em esquema fatorial (4x4) + 2, sendo quatro concentrações (80, 160, 240 e 320 µL), quatro óleos essenciais e dois tratamentos adicionais, a testemunha em que se utilizou água destilada esterilizada e o fungicida Magnate (Imazalil) na concentração de 2 ml/L .

Os frutos foram levados à câmara de refrigeração a uma temperatura de 25 °C e umidade relativa de 85% onde permaneceram por 12 dias.

3.2 Características avaliadas

3.2.1 Incidência

A intensidade da doença nos frutos foi avaliada pela incidência e severidade de antracnose. A incidência foi obtida por número de frutos afetados por repetição, sendo esses valores expressos em porcentagem por tratamento.

3.2.2 Severidade

Para a variável severidade, foi adotada a escala diagramática desenvolvida por Morais (1999).

As avaliações foram realizadas a cada três dias por um período de 12 dias.

3.2.3 Análise Estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo quatro óleos essenciais, quatro concentrações e as testemunhas totalizando 18 tratamentos constituídos de quatro repetições. Em função de todas as variáveis serem quantitativas discretas resultantes de contagens e testou-se através do procedimento GLM (General Linear Models) a aditividade através da análise de covariância dos valores preditos ao quadrado obtendo-se $P = 0,1518$; $P = 0,6688$; $P = 0,5579$. A normalidade através do procedimento univariate, com a estatística W (Shapiro Wilk) com $P = 0,0034$; $P < 0,0001$; $P < 0,0001$ e a homogeneidade de variância pelo teste de Bartlett $P = 0,0065$; $P < 0,001$ e $P < 0,0001$ para crescimento micelial, germinação e esporulação respectivamente. Uma vez confirmada a não significância destes testes, indicando que a pressuposição de aditividade do resíduo, normalidade do resíduo e

homogeneidade de variância não foram aceitas, as médias dos tratamentos foram submetidas à estatística não paramétrica Kruskal- Wallis.

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito dos óleos essenciais de cravo, árvore-do-chá, tomilho e gengibre em diferentes concentrações sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum musae*

Os resultados obtidos no experimento *in vitro* estão demonstrados na Tabela 1. O aumento das concentrações dos óleos essenciais aplicados reduz o desenvolvimento do patógeno.

TABELA 1. Crescimento micelial de *C. musae* submetido a diferentes concentrações (μL) de diferentes óleos essenciais.

Concentração $\mu\text{L}/$ mL	Cravo	Árvore- do- Chá	Tomilho	Gengibre
2	8.23 A c	8.6 A a	9.0 A b	8.7 A b
4	8.1 A c	8.6 A a	8.7 A ab	8.0 A b
6	4.7 A b *	8.2 B a	8.7 B ab	8.7 B b
8	3.0 A a *	8.7 C a	8.0 AB a	7.0 B a *
Testemunha	8.7	8.7	8.7	8.7

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Kruskal–Wallis.

* Significativo para a testemunha pelo teste de Kruskal-Wallis.

Para o crescimento micelial nos óleos de cravo, tomilho e gengibre, a concentração de 8 µL/mL inibiu o crescimento do patógeno. A inibição foi proporcional ao aumento das concentrações nesses óleos devido ao aumento dos princípios ativos como eugenol, timol e zingibereno os quais possuem ação antimicrobiana (THOMSEN *et al.* , 2010; JAKIEMIU *et al.*, 2010; SACRAMENTO, s.d.).

Resultado similar foi obtido por Gomes (2008) que, ao utilizar frutos de mamão cujo patógeno causador da antracnose é o *Colletotrichum gloeosporioides*, verificou que os óleos essenciais de cravo e tomilho mostraram-se eficientes para controlar o desenvolvimento do patógeno. Os óleos de cravo nas concentrações de 6 e 8 µL/ mL e gengibre na concentração de 8 µL/mL diferenciaram-se da testemunha, inibindo o crescimento micelial do *C. musae*.

Outro óleo essencial também capaz de inibir completamente o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* é o óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (MARQUES, 2003).

Verificando-se os resultados do óleo da árvore-do-chá, constata-se que não há diferença entre as concentrações aplicadas. No óleo de tomilho, a partir da concentração de 4 µL/mL, pode-se observar uma redução no desenvolvimento do *C. musae*, confirmando os resultados citados por Gomes (2008).

TABELA 2. Germinação de *C. musae* submetidos a diferentes concentrações (μL) de diferentes óleos essenciais

Concentração $\mu\text{L}/$ mL	Cravo	Árvore-do- Chá	Tomilho	Gengibre
2	97.8 a B	88.3 a A	88.0 a A	85.5 a A
4	85.3b B	91.0 b A	86.0 b A	46.0 a *A
6	57.0a * A	84.0b *A	85.8 b A	87.0 b B
8	0 a * A	85.8 b A	90.3 b A	86.3b B
Testemunha	99.3	99.3	99.3	99.3

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Kruskal–Wallis.

* Significativo para a testemunha pelo teste de Kruskal-Wallis.

TABELA 3. Esporulação de *C. musae* submetido a diferentes concentrações (μL) de diferentes óleos essenciais

Concentração $\mu\text{L}/$ mL	Cravo	Árvore-do- Chá	Tomilho	Gengibre
2	0 Aa *	3.3 Bb *	2.2 Aab *	3.8 Bc *
4	0 Aa *	0.8 Aab*	2.3 Bb *	1.0 Aa *
6	0.1 Aa *	0.8 Bab *	0.6 Aa *	1.6 Bb *
8	0 Aa *	0.3 Aa *	0.6 Ba *	3.4Bc *
Testemunha	4.3	4.3	4.3	4.3

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Kruskal–Wallis.

* Significativo para a testemunha pelo teste de Kruskal-Wallis.

Ao analisar a variável germinação de *C. musae* (Tabela 2), não se observou diferença entre os óleos testados na concentração de 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$. A resposta do patógeno aos tratamentos variou com a concentração aplicada. No óleo de gengibre, a concentração de 4 $\mu\text{L}/\text{mL}$ inibiu a germinação. Observa-se um decréscimo na germinação do *C. musae* a partir da concentração de 60 $\mu\text{L}/\text{mL}$ do óleo essencial de cravo. O óleo de cravo e de tomilho propiciaram maiores inibições da esporulação do patógeno em relação aos demais óleos aplicados. Outras espécies têm sido pesquisadas com a finalidade de controlar fitopatógenos, como citado por Bastos e Albuquerque (2004) que, testando o óleo essencial de *Piper aduncum*, comprovaram que o mesmo possui compostos capazes de inibir completamente a germinação dos conídios de *C. musae*.

Utilizando extratos hidroetanólico, aquoso, metanólico e hidrometanólico de *Momordica charantia*, Celoto *et al.* (2011) constataram que a inibição da germinação de *C. musae* variou de 0% no extrato hidroetanólico e chegou a 100% no extrato aquoso.

As plantas medicinais têm sido alvo de muitas pesquisas a fim de detectar a ação antimicrobiana dos compostos secundários metabolizados pelas plantas. Descobrir quais micro-organismos têm ação e qual é a melhor forma de utilizar tais compostos têm sido alvo dos pesquisadores, uma vez que eles existem sobre a forma de extrato hidroalcólico, hidroetanólico, aquoso, etanólico, metanólico e hidrometanólico, extrato bruto aquoso, extrato bruto seco e óleo essencial. Alguns autores vêm trabalhando as diversas formas de se explorar os metabólitos secundários das plantas, como por exemplo Venturoso *et al.* (2011) que, utilizando extrato bruto aquoso de cravo-da-índia, confirmaram que o desenvolvimento de *Colletotrichum sp.* foi reduzido em 100%.

Dentre os óleos essenciais aplicados, o óleo de cravo resultou no maior controle da esporulação do patógeno como verificado na Tabela 3, independente da concentração utilizada, e o tomilho na concentração de 6 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

A produção de conídios sob o efeito do óleo de gengibre iniciou seu comportamento de forma que quanto maior a concentração menos o fungo esporula, entretanto na concentração de 6 e 8 $\mu\text{L}/\text{mL}$ houve um aumento do número de esporos ao se comparar com a concentração de 4 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Esse fato ocorreu com Venturoso *et al.*, (2011) ao aplicarem extrato de jabuticaba em fungos do gênero *Aspergillus* sp., extrato de cavalinha em *Penicillium* sp., e o extrato de melão de são Caetano em fungos do gênero *Colletotrichum* sp., e verificarem o efeito contrário no controle. Esse fato pode estar associado à presença de compostos que possuem tanto atividades antifúngicas, como estimuladoras do crescimento dos patógenos. A quantidade e a longevidade destes compostos, assim como a relação existente entre estes, podem resultar, em determinados momentos, em maior ou menor inibição dos fitopatógenos.

3.2- Efeitos dos óleos essenciais de cravo, árvore-do-chá, tomilho e gengibre em diferentes concentrações sobre o desenvolvimento da antracnose em frutos de bananeira Prata-anã

Os frutos de bananeira Prata-anã submetidos aos tratamentos por imersão nas soluções contendo os óleos essenciais de cravo, tomilho e árvore-do-chá nas concentrações de 2, 4, 6 e 8 $\mu\text{L}/\text{mL}$ apresentaram fitotoxidez desde a menor concentração aplicada, (Figura 01) imediatamente após a imersão, inviabilizando as avaliações dos mesmos. Resultados similares foram obtidos por Moura (2010) que, ao aplicar óleo essencial de *Cymbopogon citratus* na concentração de 0,1% em frutos de maracujá-amarelo, verificou fitotoxidez nos mesmos.

Em experimento com laranja-pera, Mattos (2010) constatou que os óleos de citronela, patchouli, manjerição, alfavaca-cravo, menta, alecrim, alecrim-pimenta, nim, alho, copaíba, limão Tahiti, capim-limão, eucalipto e gengibre causaram fitotoxidez nos frutos embora tenham controlado a incidência e

severidade do bolor verde causado por *Penicillium digitatum*. Os frutos tratados com o óleo de gengibre apresentaram os sintomas de fitotoxidez após 24 horas da aplicação do tratamento.



FIGURA 1. Frutos submetidos à aplicação dos óleos de tomilho (1), gengibre (2), de árvore-do-chá (3) e cravo (4).

4 CONCLUSÕES

A concentração de 6 $\mu\text{L}/\text{mL}$ do óleo de cravo é a mais eficiente em controlar o crescimento micelial, esporulação e germinação de *C. musae*.

O tratamento por imersão dos frutos de bananeira Prata-anã em solução de óleos essenciais não é recomendado por causar fitotoxidez nos frutos tratados.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AQUINO, C. F. **Ação de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) do maracujazeiro-amarelo**. 2011. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias)- Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, MG. 2011.

BASTOS, C. N. e ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 555-557, Out. 2004.

THOMSEN, N.A., HAMMER, K.A., RILEY, T.V. 2010, '**Tea-Tree Oil - A Naturally Occurring Biocide**', *Microbiology Australia*, 31, 4, pp. 182-184

FERQUIMA Ltda. Indústria e comércio. Certificado de Análise Química da composição de óleos essenciais. **Universidade Federal de Minas Gerais**. Departamento de Química. 2012.

GOMES, L. I. S.; **Métodos de inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides* e efeito de óleos essenciais no controle da antracnose em frutos de mamoeiro**. 2008. 54 p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Lavras, 2008.

IBGE- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Sistema IBGE de Recuperação Automática**. SIDRA. Brasília: IBGE, 2011. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agri/default.asp>> Acesso em: 15 abril 2011.

JAKIEMIU, E. A. R. *et al.* Estudo da composição e do rendimento do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 683-688, jul./set. 2010.

MARQUES, S. S. Uso de óleos essenciais no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose em frutos do mamoeiro. ***Papaya Brasil***. 2003.

MATTOS, L. P. V. **Controle de *Guignardia citricarpa* e *Penicillium digitatum* em laranja com óleos essenciais e agentes de biocontrole**. 2010. 94 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2010.

MORAES, W. S. **Integração de métodos de controle de podridão em pós-colheita da banana 'Prata Anã' (AAB)**. 1999. 84p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 1999.

MOURA, G.S. **Conservação pós-colheita e controle da antracnose em frutos de maracujá-amarelo por derivados de capim-limão**. 2010. P. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Estadual de Maringá Maringá, PR, 2010.

SACRAMENTO, C. K. do. Especiarias como alternativas em sistemas agroflorestais. Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) DCAA, Ilhéus, BA.

THOMSEN, N. A.; HAMMER, K. A.; RILEY, T. V. Tea-tree oil – a naturally occurring biocide. ***Microbiology Australia***, [S.L], November 2010.

VENTUROSO, L. R. *et al.* Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. ***Summa Phytopathologica***, Botucatu, v. 37, n.1, p.18-23, 2011.

Capítulo 2

EFEITO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO DESENVOLVIMENTO *IN VITRO* E *IN VIVO* DE *COLLETOTRICHUM MUSAE* SOB O MÉTODO DE FUMIGAÇÃO

RESUMO

RODRIGUES, Maria Luisa Mendes. **Efeito de óleos essenciais no desenvolvimento *in vitro* e *in vivo* de *Colletotrichum musae* sob o método de fumigação.** 2012. Cap. 2. p. 51-86 Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal no Semiárido)-Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.⁵

Este experimento teve como objetivo determinar a melhor concentração e o óleo essencial *in vitro* e *in vivo* pelo método de aplicação por fumigação para controlar a antracnose em frutos de bananeira “Prata-anã” e posteriormente avaliar as suas características físicas e químicas. Foram utilizados quatro óleos essenciais das espécies cravo (*Eugenia caryophyllus*), árvore-do-chá (*Melaleuca alternifolia*), tomilho (*Thymus vulgaris*) e gengibre (*Zingiber officinale*), em quatro concentrações: 2, 4, 6 e 8 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ e a testemunha constituída apenas de meio de cultura. O experimento foi conduzido seguindo um esquema fatorial $4 \times 4 + 1$. Aliquotas de óleo essencial foram adicionadas em papel filtro colados na tampa de cada placa de Petri nas concentrações de 2, 4, 6 e 8 μL . As variáveis avaliadas foram germinação, crescimento micelial e produção de conídios. Para o experimento *in vivo* os frutos foram colhidos no estágio dois de maturação e inoculados com uma suspensão de conídios de *Colletotrichum musae* na concentração de 5×10^5 conídios /mL. Buquês de dois frutos foram embalados em sacos plásticos sobre uma bandeja de poliestireno expandido juntamente com pedaços de papel filtro medindo 3 cm^2 contendo alíquotas dos óleos essenciais nas concentrações de 80, 160, 240 e 320 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. As testemunhas consistiram na adição de 80 μL de água destilada no papel filtro e no tratamento com o fungicida Imazalil na concentração de 2 mL/ L, em seguida, os sacos foram fechados e levados à câmara frigorífica a 25 °C e 85% de umidade relativa. Após 24 horas os sacos plásticos foram retirados e os frutos permaneceram na câmara até o fim do experimento. As avaliações foram feitas a cada 3 dias avaliando-se a incidência e severidade da antracnose. Para avaliar as características físicas e químicas dos frutos foi realizado um experimento aplicando os óleos essenciais na concentração de 320 μL utilizando-se o método de fumigação. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado seguindo um esquema fatorial de $4 \times 4 + 2$. As médias foram submetidas à análise estatística não paramétrica Kruskal-Wallis. Não se verificou diferença estatística entre os óleos de cravo e tomilho aplicados no

⁵ **Comitê de Orientação:** Prof. D. Sc Edson Hiydu Mizobutsi – UNIMONTES (Orientador)

controle da incidência e severidade dos frutos. Entre frutos inoculados e não inoculados o óleo de árvore-do-chá e gengibre controlaram a incidência e a severidade da antracnose nos frutos. As características pós-colheita de perda de massa fresca e coloração do pericarpo foram mantidas pelos óleos de gengibre e tomilho.

Palavras- chave: banana, antracnose, controle alternativo, óleos essenciais.

ABSTRACT

RODRIGUES, Maria Luisa Mendes. **Effect of essential oils on *in vitro* and *in vivo* growth of *Colletotrichum musae* under the fumigation method.** 2012. Chapter 2. p. 51-86 Dissertation (Master in Plant Production in the Semi-arid) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.⁶

The experiment aimed to determine the best concentration and the oil essential *in vitro* and *in vivo* by the application method for fumigation to control the anthracnose in fruits of "Prata-anã" banana tree and later to evaluate their physical-chemical characteristics. Four essential oils of the species clove (*Eugenia caryophyllus*), tea tree (*Melaleuca alternifolia*), thyme (*Thymus vulgaris*) and ginger (*Zingiber officinale*) were used, in four concentrations: 2, 4, 6 and 8 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ and the control just constituted of culture medium. The experiment was carried out in a factorial scheme $4 \times 4 + 1$. Dosages of essential oil were added on filter paper glued in the cover of each Petri plate in the concentrations of 2, 4, 6 and 8 μL . The appraised variables were germination, mycelia growth and conidia production. For the experiment *in vivo* the fruits were picked at the stadium two of maturation and inoculated with a suspension of conidia of *Colletotrichum musae* in the concentration of 5×10^5 conidia /mL. Bouquets of two fruits were wrapped in plastic sacks on a tray of polystyrene expanded together with pieces of filter paper measuring 3 cm^2 containing dosages of the essential oils in the concentrations of 80, 160, 240 and 320 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$. The control consisted of the addition of 80 μL of distilled water in the filter paper and in the treatment with the Imazalil fungicide in the concentration of 2 mL/L, soon afterwards, the sacks were closed and taken the refrigerating chamber to 25 °C and 85% of relative humidity. After 24 hours the plastic sacks were retired and the fruits stayed in the camera until the end of the experiment. Every 3 days the incidence and severity of the anthracnose were evaluated. To evaluate the physical-chemical characteristics of the fruits, an experiment it was accomplished applying the essential oils in the concentration of 320 μL by the fumigation method. The experiment was carried out in an entirely randomized design following a factorial scheme $4 \times 4 + 2$. The averages were submitted to no parametric Kruskal-Wallis statistical analysis. Statistical difference was not verified between the clove oils and thyme applied in the control of the incidence and severity of the fruits. Among inoculated fruits and no inoculated, the oil of tea tree and ginger controlled the incidence and the severity of the anthracnose

⁶ **Guidance committee:** Edson Hiydu Mizobutsi – UNIMONTES (Adviser)

in the fruits. The post-harvest characteristics of loss of fresh mass and coloration of the pericarp were maintained by the ginger and thyme oils.

Keywords: banana, anthracnose, alternative control, essential oils.

1 INTRODUÇÃO

A antracnose da bananeira destaca-se como a doença de maior importância na fase de pós-colheita dos frutos, sendo responsável por perdas significativas e inviabilizando-os para a comercialização.

Para controlar a doença, utiliza-se o controle químico com a aplicação de fungicidas, os quais são os principais produtos utilizados no controle de doenças pós-colheita. Eles são aplicados de forma preventiva, antes da colheita para controlar as doenças quiescentes. Apresentam duas formas de atuação no controle da doença, protetora e erradicante, protegendo os frutos em sua fase suscetível, eliminando o inóculo ou protegendo-os nos ferimentos na pós-colheita. A aplicação de produtos químicos apresenta como desvantagem prejuízos aos aplicadores e aos consumidores, uma vez que alguns deixam resíduos na polpa dos frutos. Coelho (2007) encontrou resíduos de fungicidas tanto na casca como na polpa das bananas. Esses fatores tornam a busca por métodos de controle eficazes e menos agressivos ao homem e ao meio ambiente cada vez mais necessária.

A biodiversidade da flora das regiões do país é rica em espécies vegetais que apresentam substâncias naturais cujos princípios ativos fitossanitários são ainda desconhecidos, e atualmente são alvo de estudos para descoberta de compostos presentes nos metabólitos secundários que apresentem atividade de inibição do crescimento e desenvolvimento de micro-organismos patogênicos às plantas. As aplicações dos óleos essenciais apresentam grande probabilidade de inibir o desenvolvimento do patógeno *Colletotrichum musae*.

Dessa forma, o objetivo da pesquisa foi estudar o efeito dos óleos essenciais de cravo, tomilho, árvore-do-chá e gengibre *in vitro* e *in vivo* no controle da antracnose no método de fumigação associado aos efeitos dos óleos essenciais sobre as características físicas e químicas dos frutos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.3 Avaliação do crescimento micelial de *Colletotrichum musae*, em diferentes concentrações de óleos essenciais

O meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar) foi vertido em placas de 9 cm de diâmetro, em cada tampa da placa de Petri foram colados, utilizando fita dupla face autoclavada, pedaços de papel filtro de 1 cm² que receberam a concentração de óleo essencial aplicadas com o auxílio da pipeta automática: 2, 4, 6 e 8 µL dos óleos de cravo (*Eugenia caryophyllus*), árvore-do-chá (*Melaleuca alternifolia*), tomilho (*Thymus vulgaris*) e gengibre (*Zingiber officinale*). Posteriormente transferiu-se um disco de 5 mm de diâmetro da cultura monospórica com oito dias para o centro de cada placa contendo as concentrações dos óleos essenciais das diferentes plantas. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x4+1, sendo quatro concentrações (2, 4, 6 e 8 µL.mL⁻¹) e quatro óleos essenciais das espécies: *Eugenia caryophyllus*, *Melaleuca alternifolia*, *Thymus vulgaris*, *Zingiber officinale* com quatro repetições, sendo cada repetição constituída de uma placa de Petri. Adotou-se como testemunha o meio de cultura BDA apenas. As laterais das placas foram vedadas com filme plástico transparente para evitar possíveis evaporações dos compostos e ressecamento do meio de cultura. As placas foram acondicionadas em câmara BOD a 25 °C sob fotoperíodo de 12 h. As avaliações foram realizadas por meio de medições diárias do diâmetro das colônias (média das duas medidas diametricamente opostas), iniciando-se 24 horas após a montagem do experimento, sempre no mesmo horário e finalizando no sexto dia.

2.5.2 Avaliação da germinação de *Colletotrichum musae*, em diferentes concentrações de óleos essenciais

O meio de cultura Agar-água foi vertido em placas de 9 cm de diâmetro. Em cada tampa da placa de Petri foram colados, utilizando fita dupla face autoclavada, pedaços de papel filtro de 1 cm² que receberam a concentração de óleo essencial aplicada com o auxílio da pipeta automática: 2, 4, 6 e 8 µL dos óleos de cravo (*Eugenia caryophyllus*), árvore-do-chá (*Melaleuca alternifolia*), tomilho (*Thymus vulgaris*) e gengibre (*Zingiber officinale*). Posteriormente 1 mL da suspensão de conídios na concentração de $2,5 \times 10^5$ de *C. musae* foi colocado sobre o meio ágar-água e espalhado com o auxílio da alça de Drigalsk. As placas foram levadas à câmara BOD a 25 °C sob fotoperíodo de 12 h, durante 24 horas, em seguida foram levadas à geladeira para paralisação da germinação. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 4 + 1, sendo quatro concentrações (2, 4, 6 e 8 µL.mL⁻¹) e quatro óleos essenciais das espécies: com quatro repetições, em que cada repetição se constituiu de uma placa de Petri. Adotou-se como testemunha o meio de cultura agar-água apenas. As laterais das placas foram vedadas com filme plástico transparente, para evitar possíveis evaporações dos compostos.

A germinação foi avaliada da mesma forma descrita no item 2.4.

2.6 Esporulação

Após o crescimento micelial ter atingido toda a placa, foram adicionados em cada placa 70 mL de água destilada esterilizada. A seguir, utilizando-se alça de Drigalski, procedeu-se à raspagem das colônias, para a liberação dos conídios. Após a filtragem da suspensão em dupla camada de gaze esterilizada, completou-se o volume da solução até 70 mL novamente. Foi retirada uma gota de cada suspensão colocada em câmara de Neubauer onde se realizou a

contagem do número de conídios no campo C com utilização de microscópio e contador de esporos.

2.1 Determinação da concentração de óleos essenciais aplicados em pós-colheita para o manejo da antracnose no método de fumigação

Cachos de banana 'Prata-Anã' foram colhidos em estádio pré-climatérico de um plantio comercial, localizado no município de Nova Porteirinha em Minas Gerais. Estes foram despencados, as pencas selecionadas, descartando as duas pencas superiores e inferiores dos cachos para uniformização dos frutos. As pencas foram acondicionadas em caixas plásticas e transportadas para o Laboratório de Patologia Pós-colheita da Unimontes, onde foi realizada outra seleção de acordo com a uniformidade da cor, tamanho e ausência de injúria, a fim de padronizar os frutos. Estes foram divididos em buquês de 2 frutos que foram lavados com água e detergente neutro e colocados para secar sobre uma bancada coberta por folhas de jornal. Foi preparada uma suspensão de conídios conforme descrito no item 2.3.1.

2.1.2 Frutos inoculados

Os buquês foram atomizados até o ponto de escorrimento com o auxílio de uma bomba de pintura contendo a suspensão de 5×10^5 esporos/mL⁻¹ de *C. musae*. Após a inoculação, os buquês foram incubados sob câmara úmida a 25 °C UR 85% por 24 horas.

2.1.3 Frutos não inoculados

Os frutos não inoculados não foram atomizados com a suspensão de conídios, permanecendo no laboratório de Patologia Pós-colheita por 24 horas.

Em seguida levados à câmara de refrigeração a uma temperatura de 25 °C e umidade relativa de 85% onde permaneceram por 12 dias.

Decorridos esse período, os buquês foram transferidos para bandejas de poliestireno expandido de 21cm x 14 cm x 18mm, acondicionadas em um saco plástico com capacidade para 3 kg em que se adicionou um recipiente plástico contendo um quadrado de papel filtro medindo 3 cm² onde se adicionaram alíquotas dos óleos essenciais de cravo (*Eugenia caryophyllus*), árvore-do-chá (*Melaleuca alternifolia*), tomilho (*Thymus vulgaris*) e gengibre (*Zingiber officinale*) nas concentrações de 80, 160, 240 e 320 µL e posteriormente foram fechadas através de selador (marca R. Baião).

Os frutos foram levados à câmara de refrigeração a uma temperatura de 25 °C e umidade relativa de 85%.

2.3 Características avaliadas

2.3.1 Incidência

A intensidade da doença nos frutos foi avaliada pela incidência e severidade de antracnose. A incidência foi obtida por número de frutos afetados por repetição, sendo esses valores expressos em porcentagem por tratamento.

2.3.2 Severidade

Para a variável severidade foi adotada a escala diagramática desenvolvida por Morais (1999). As avaliações foram realizadas a cada três dias por um período de 12 dias.

2.3.3 Análise estatística

No experimento *in vitro* o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo quatro óleos essenciais, quatro concentrações e a testemunha $(4 \times 4) + 1$ totalizando 17 tratamentos constituídos de quatro repetições. O experimento *in vivo* foi analisado em esquema fatorial $(4 \times 4) + 2$, sendo quatro concentrações (80, 160, 240 e 320 μL), quatro óleos essenciais e dois tratamentos adicionais, a testemunha em que se utilizou água destilada esterilizada e o fungicida Magnate (Imazalil) na concentração de 2 ml/L .

Em função de todas as variáveis serem quantitativas discretas resultantes de contagens e testou-se através do procedimento GLM (General Linear Models) a aditividade através da análise de covariância dos valores preditos ao quadrado obtendo-se $P = 0,1355$; $P = 4,78$; $P = 20,06$; a normalidade através do procedimento univariate, com a estatística W (Shapiro Wilk) com $P = 0,0001$; $P < 0,0003$; $P < 0,0001$ e a homogeneidade de variância pelo teste de Bartlett $P = 0,0377$; $P < 0,001$ e $P < 0,0001$ para crescimento micelial, germinação e esporulação respectivamente. Para o experimento *in vivo* a aditividade, homogeneidade e normalidade obtiveram-se $P = 148,37$; $P < 0,0001$ e $P < 0,0001$ respectivamente para a incidência. A severidade obteve-se aditividade $P = 305,83$, homogeneidade $P = 0,9994$ e normalidade $P < 0,0001$. Uma vez confirmada a não significância destes testes, indicando que a pressuposição de aditividade do resíduo, normalidade do resíduo e homogeneidade de variância não foram aceitas, as médias dos tratamentos foram submetidas a estatística não paramétrica Kruskal- Wallis. Os dados obtidos no experimento de pós-colheita foram avaliados de duas formas: a característica de coloração do pericarpo aplicou-se Kruskal- Wallis onde obteve-se aditividade $P = 0,07$, homogeneidade $P = 0,995$ e normalidade $P = 0,0149$. Nas demais características os dados foram submetidos ao teste de Scott-Knott e Dunnett a 5% de significância.

2.4 - Avaliação das características físicas e químicas dos frutos de bananeira ‘Prata-Anã’ tratados com óleos essenciais de diferentes espécies de plantas

O experimento para avaliação das características físicas e químicas dos frutos de bananeira ‘Prata-Anã’ foi montado conforme o item 2.1, utilizando-se apenas a concentração de 320 µL.

2.4.1 Perda de Massa Fresca dos Frutos

Os frutos foram pesados no dia zero (montagem do experimento) e logo após serem retirados da câmara fria e a 25 °C (dia da avaliação) no ponto de consumo (nota 6 da escala de cor). Os resultados são expressos em percentagem de perda de massa fresca ao longo do armazenamento, sendo:

$$PPF = 100 - [(PF \times 100)/PI], \text{ onde:}$$

PPF, perda de massa fresca (%);

PF, massa final (g);

PI, massa inicial (g)

2.4.2 Firmeza

Foi utilizado um texturômetro da marca Brookfield modelo CT3 10KG . A firmeza foi medida na região mediana do fruto, sendo determinada pela força de penetração, medida em Newton (N), necessária para que a ponteira de 2,5 cm de comprimento e 4 mm de diâmetro penetre na polpa do fruto.

2.4.3 Sólidos Solúveis

A determinação dos sólidos solúveis foi feita por refratometria, utilizando-se um refratômetro de bancada da marca ATAGO, modelo N1, com leitura na faixa de 0 a 95° Brix, após extrair suco da polpa da região central de cada fruto. O resultado está expresso em °Brix.

2.4.4 Acidez Titulável

A acidez titulável determinada segundo técnica recomendada pela AOAC (1992), titulando-se, sob agitação, suco do conjunto de frutos da repetição, após extrair, triturar e homogeneizar 10 g da polpa da região central de cada fruto em 90 mL de água destilada, com NaOH 0,1N, usando-se 3 gotas de fenolftaleína 1% como indicador. O resultado está expresso como eq. mg ácido málico/100mL de suco.

2.4.5 pH

Foi realizada a determinação do pH utilizando-se 10 g de polpa do conjunto de frutos da repetição triturada e homogeneizada com 90 mL de água destilada. A leitura foi feita utilizando-se peagômetro Digital da marca DIGIMED, modelo DM20.

2.4.6 Coloração do Pericarpo

Esta análise foi feita visualmente, utilizando-se a escala de Loesecke (1980), (1) totalmente verde (2) verde com traços amarelos, (3) mais verdes que amarelo (4), mais amarelo que verde (5) amarelo com pontas verdes, (6) totalmente amarelo, (7) amarelo com leves manchas marrons (WILLS *et al.*, 1998).

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstrados na tabela 01, 02 e 03 revelam que não houve diferenças significativas ao aumentar as concentrações dos óleos essenciais de cravo, árvore-do-chá, e tomilho. Para o óleo de gengibre, tanto a germinação quanto a esporulação seguem uma tendência dos resultados. Ao aumentar a concentração dos óleos essenciais, ocorre uma redução da produção de conídios e germinação de *C. musae*. Verifica-se que o controle se deu pelo tratamento em que se aplicaram 8 μ L do óleo essencial. Pode-se citar, como exemplo, Aquino (2011) que, ao aplicar óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* e *Lippia sidoides* em *Colletotrichum gloeosporioides*, observou que as maiores inibições ocorrem ao aplicar a maior concentração dos óleos essenciais (7 μ L/mL).

TABELA 1. Crescimento micelial de *C. musae* submetido a diferentes concentrações (μ L) de diferentes óleos essenciais.

Concentração μ L/ mL	Cravo	Árvore- do-chá	Tomilho	Gengibre
2	0,0 Aa *	2,1 Ba*	0,0 Aa*	8,0 Ca
4	0,0 Aa*	2,5 Ba*	0,0 Aa*	7,0 Ca*
6	0,0 Aa*	2,1 Ba*	0,0 Aa*	6,8 Ca*
8	0,0 Aa*	2,3 Ba*	0,0 Aa*	7,7 Ca*
Testemunha	8,7	8,7	8,7	8,7

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Kruskal–Wallis.

* Significativo para a testemunha pelo teste de Kruskal-Wallis.

Entre os óleos essenciais aplicados destacam-se os de cravo e tomilho inibindo totalmente o desenvolvimento do *C. musae*, seguidos pela árvore-do-chá. Bakkali *et al.* (2008) afirmam que os óleos essenciais apresentam em sua composição substâncias extremamente voláteis, capazes de inibir o desenvolvimento do fungo justificando os bons resultados no controle *in vitro* do *C. musae*.

Semelhante aos resultados obtidos neste experimento, foi evidenciado por Costa *et al.* (2011) que, ao aplicar óleo essencial de cravo nos fitopatógenos *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* e *Macrophomina phaseolina*, constataram alterações nas hifas como: a presença de vacúolos e desorganização dos conteúdos celulares bem como diminuição na nitidez da parede celular, intensa fragmentação das hifas e redução na turgência destas, provocando a degeneração celular., Isso justifica a inibição do crescimento micelial, germinação e esporulação em alguns tratamentos.

TABELA 2. Germinação de conídios de *C. musae* submetidos a diferentes concentrações (μL) de diferentes óleos essenciais.

Concentração $\mu\text{L}/$ mL	Cravo	Árvore-do- chá	Tomilho	Gengibre
2	6,3 Aa	6,8 Aa	0,0 Aa	89,5 Bb
4	4,5 Aa	0,3 Aa	1,0 Aa	89,0 Bb
6	10,5 Ba	0,5Aa	0,3 Aa	84,0 Cab
8	1,8Aa	0,0Aa	0,3Aa	78,8 Ba
Testemunha	66,5	66,5	66,5	66,5

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Kruskal–Wallis.

* Significativo para a testemunha pelo teste de Kruskal-Wallis.

TABELA 3. Esporulação de conídios de *C. musae* submetidos a diferentes concentrações (μL) de diferentes óleos essenciais.

Concentração $\mu\text{L}/$ mL	Cravo	Árvore- do- chá	Tomilho	Gengibre
2	0,0 Aa*	63,2 Ba	0,0 Aa*	4,0Ab*
4	0,0Aa*	5,6 Ba*	0,0Aa*	3,0 ABb*
6	0,0 Aa*	14,8 Ba*	0,0 Aa*	3,6 Bb*
8	0,0Aa*	14,6 Ba*	0,0 Aa*	1,7 Ba*
Testemunha	52,8	52,8	52,8	52,8

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Kruskal–Wallis.

* Significativo para a testemunha pelo teste de Kruskal- Wallis.

Os óleos da árvore-do-chá e tomilho proporcionaram uma maior inibição da germinação do fungo em todas as concentrações aplicadas desde a menor 2 μL até a maior 8 μL .

Testando o óleo essencial de *Piper aduncum*, Bastos e Albuquerque (2004) comprovaram que ele possui compostos capazes de inibir completamente a germinação dos conídios de *C. musae*.

Analisando outros métodos de aplicação e outros produtos que podem ser aplicados com o objetivo de controlar fitopatógenos, Camili *et al.* (2010) utilizaram vapor de ácido acético para controlar *Botrytis cinerea* e verificaram que a germinação foi totalmente inibida. Os óleos de alecrim-pimenta, alfavaca-cravo, capim-santo, cidrão e goiabeira foram capazes de inibir completamente a germinação de *Colletotrichum gloeosporioides* comprovando o efeito fungistático dos óleos essenciais (SOUZA JR *et al.*, 2009). Utilizando extratos hidroetanólico, aquoso, metanólico e hidrometanólico de *Momordica charantia*, Celoto *et al.* (2011) constataram que a inibição da germinação de *C. musae* variou de 0 % no extrato hidroetanólico e chegou a 100% no extrato aquoso.

Observa-se que nos quatro óleos utilizados (cravo, árvore-do-chá, tomilho e gengibre) a esporulação está vinculada ao crescimento micelial. A tendência dos resultados obtidos em uma característica avaliada se repete na outra. Associando ao crescimento micelial, os óleos de cravo e tomilho foram os tratamentos que resultaram em uma maior inibição do desenvolvimento do fungo, impossibilitando também que ele chegasse até a reprodução. No botão floral da planta de cravo existe uma elevada concentração de eugenol (85%), que pode ser atribuído a essa substância o controle no desenvolvimento de microorganismos (FERQUIMA, 2012). O óleo de tomilho desempenhou inibição semelhante à de cravo. Foram identificados 33 compostos no óleo essencial de tomilho, sendo majoritários o timol, o *p*-cimeno e o γ -terpineno cujos componentes possuem atividades antimicrobianas (JAKIEMIU *et al.* 2010).

3.1- Experimento *in vivo*

As tabelas 01 e 02 demonstram que, independente do óleo essencial aplicado e das concentrações utilizadas, não houve diferença nas características avaliadas de incidência e severidade dos frutos com e sem inoculação com conídios de *C. musae*. Tal comportamento foi confirmado por Gomes (2008) observando em seu experimento que também não houve diferença estatística no desenvolvimento (cm) das lesões de antracnose causada por com *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de mamão tratados com os óleos de cravo, capim-limão e tomilho em diferentes concentrações. Contrariando os resultados, Bastos e Albuquerque (2004) verificaram que com o aumento da concentração do óleo essencial de *Piper aduncum* a incidência e a severidade de antracnose em frutos de banana reduziam, chegando a equiparar-se ao fungicida benomil a 1%.

Os resultados obtidos *in vitro* contradizem os obtidos neste experimento, visto que os óleos de cravo e tomilho controlaram o desenvolvimento do patógeno. Isso pode ter ocorrido pelo ambiente onde o fungo se encontrava estar totalmente controlado, já no experimento *in vivo* o fungo estava se desenvolvendo sobre os frutos os quais apresentavam o processo normal de amadurecimento. Após a colheita, suas células continuam a produzir enzimas e outras substâncias de estruturas moleculares elaboradas, como parte essencial do processo de manutenção das funções vitais (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

Os óleos essenciais de tomilho na concentração de 80 µL, gengibre nas concentrações de 80 e 320 µL e árvore-do-chá na concentração de 80 µL (Tabela 4) diferiram das testemunhas controlando a incidência e severidade da antracnose nos frutos inoculados. Thomsen *et al.* (2010) comprovaram que o óleo essencial da árvore-do-chá apresenta como principal componente o terpinen-4-ol que é o componente responsável pelo seu efeito antisséptico e

biocida, o que justifica os resultados mostrando que este óleo também possui efeito fungicida.

TABELA 4. Frutos de bananeira Prata-anã inoculados com conídios de *C. musae* submetidos a diferentes concentrações de óleos essenciais.

Espécies	Concentração (μ L)	Incidência de antracnose	
		Incidência	Severidade
Cravo	80	97,6 a	75 a
	160	97,6 a	75 a
	240	89,9 a	75 a
	320	93,5a	75 a
Gengibre	80	63,9 a*	75 a
	160	114,0 a**	75 a
	240	83,0 a	75 a
	320	60,8 a*	75 a
Árvore-do-chá	80	29,1a **	57,0 a** *
		*	75,0 a
	160	96,1 a	75,0 a
	240	75,6 a	75,0 a
	320	99,5 a	
Tomilho	80	106,9 a**	75 a
	160	111,3 a**	75 a
	240	65,6 a	75 a
	320	63,2 a	75 a
Testemunha (1)		114,0	75 a
Magnate® (2)		66,1	75 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruscal-Wallis.

* Significativo para a testemunha 1 pelo teste de Kruscal-Wallis.

** Significativo para a testemunha 2 pelo teste de Kruscal-Wallis.

TABELA 5. Frutos de bananeira Prata-anã sem inoculação com conídios de *C. musae* submetidos a diferentes concentrações de óleos essenciais.

Espécies	Concentração (μ L)	Incidência de antracnose	
		Incidência	Severidade
Cravo	80	94,3 a	75,0 a
	160	30,1 a	75,0 a
	240	77 a	75,0 a
	320	67,1 a	75,0 a
Gengibre	80	50,9 a	75,0 a
	160	35,6 a	39,0 a** *
	240	76,1 a	75,0 a
	320	46,0 a	75,0 a
Árvore-do-chá	80	49,6a	75,0a
			57,0a ***
	160	36,9 a	57,0a ***
	240	68,4a	75,0a
	320	35,9a	
Tomilho	80	74,8 a	75 a
	160	47,9 a	75 a
	240	72,5 a	75 a
	320	86,1 a	75 a
Testemunha (1)		76,1	75 a
Magnate® (2)		57,0	75 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal–Wallis.

* Significativo para a testemunha 1 pelo teste de Kruskal-Wallis.

** Significativo para a testemunha 2 pelo teste de Kruskal-Wallis.

A tabela 05 demonstra que não houve diferença entre os óleos essenciais utilizados e as concentrações aplicadas; entretanto, nas concentrações de 160 μL do óleo de gengibre e de 160 e 240 μL do óleo de árvore-do-chá inibiu-se o desenvolvimento da antracnose dos frutos. O fungicida Magnate mostrou-se ineficiente para controlar a severidade da antracnose nos frutos. Outras espécies de plantas têm sido estudadas com a finalidade de controlar fitopatógenos. Camargo (2007) testou óleos essenciais de hortelã, erva-doce, pega-pega e onze horas para controlar a severidade de *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp. e *Fusarium* sp. em sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (timbaúva) e constatou que os óleos essenciais das espécies utilizadas controlou totalmente a severidade desses fungos. Para *Colletotrichum musae* em banana, o melhor resultado entre os óleos e as concentrações utilizadas para os frutos inoculados foi o óleo essencial de gengibre nas concentrações de 20 e 80 μL , seguido do óleo de tomilho nas concentrações de 20, 40 e 60 μL . O gengibre apresenta em sua composição alto teor de hidrocarbonetos sesquiterpenos, incluindo β -sesquiphellandrene (27,16%), cariofileno (15,29%) e zingibereno (13,97%), com capacidade antioxidante e antimicrobiana (El-Baroty *et al.* (2010).

3.2 Pós-colheita

A tabela 06 demonstra que não houve diferença entre os óleos essenciais aplicados para esta característica nos frutos inoculados. A coloração do pericarpo dos frutos no ponto de comercialização é classificada dentro da nota 2 da escala desenvolvida por Wills (1998) o que significa frutos ainda imaturos, com amadurecimento ocorre também o amarelecimento dos frutos. Observa-se que os óleos de tomilho e gengibre conservaram a coloração dos frutos não inoculados. Esse resultado favorece a comercialização, uma vez que uma das exigências do patógeno é que as características dos frutos sejam de frutos

maduros como: aumento no teor de açúcares, redução na quantidade de compostos tóxicos existentes na casca verde dos frutos. Como o potencial de síntese de enzimas do micro-organismo é maior ao se colonizar tecido maduro (CHITARRA e CHITARRA, 2005), o surgimento da doença é atrasado.

Negreiros (2010), aplicando extrato cítrico, quitosana, óleo de alho, óleo de nim, óleo de pimenta longa e de cravo-da-índia, conclui que aos 18 dias de armazenamento não houve diferença entre os tratamentos utilizados na manutenção da cor da casca de frutos de banana Prata inoculados com *C. musae*.

TABELA 6. Coloração do pericarpo de frutos de bananeira Prata-anã com e sem inoculação de conídios de *C. musae* submetidos a diferentes óleos essenciais.

Concentração	Coloração	
	Inoculado	Não inoculado
Cravo	9,8 Aa*	12 Ab*
Árvore do chá	7,2 Aa*	10 Ab*
Tomilho	7,2 Aa*	8 Aab*
Gengibre	9,8 Ba*	4 Aa*
Testemunha	6,3	6,3

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Kruscal–Wallis.

* Significativo para a testemunha pelo teste de Kruscal-Wallis.

TABELA 7. Comprimento de frutos de bananeira Prata-anã com e sem inoculação de conídios de *C. musae* submetidos a diferentes óleos essenciais.

Concentração	Comprimento	
	Inoculado	Não inoculado
Cravo	149,3 aA	146,6 aA
Árvore do chá	147,1 aA*	138,8 bB
Tomilho	154,1 aA	146,1 aA*
Gengibre	148,0 aA	151,4 aA
Testemunha	141,5	137,75

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula, na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

* Significativo para a testemunha pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Em relação ao comprimento os frutos, não houve diferença entre os óleos utilizados apenas no tratamento com o óleo da árvore-do-chá (Tabela 7). Nos frutos inoculados, o comprimento mostrou-se maior que nos não inoculados. O diâmetro dos frutos também não apresentou diferença entre os tratamentos (Tabela 8).

TABELA 08. Diâmetro de frutos de bananeira Prata-anã com e sem inoculação de conídios de *C. musae* submetidos a diferentes óleos essenciais.

Concentração	Diâmetro	
	Inoculado	Não inoculado
Cravo	37,8 aA	40,0 aA
Árvore do chá	36,8 aA	36,4 aA
Tomilho	39,6 aA	38,8 aA
Gengibre	38,6 aA	37,4 aA
Testemunha	37,4	37,9

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula, na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

* Significativo para a testemunha pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

TABELA 9. Perda de massa fresca de frutos de bananeira Prata-anã com e sem inoculação de conídios de *C. musae* submetidos a diferentes óleos essenciais.

Concentração	Perda massa fresca	
	Inoculado	Não inoculado
Cravo	21,4 Ab	19,6 Bb*
Árvore-do-chá	19,4 Ba*	16,0 Aa*
Tomilho	22,5 Bb	17,5 Ab*
Gengibre	22,5 Bb	18,9 Ab*
Testemunha	23,2	25,4

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula, na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

* Significativo para a testemunha pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

O óleo de tomilho mostrou-se mais eficiente em evitar a perda de massa fresca dos frutos tanto inoculados como nos não inoculados (Tabela 9). Cruz (2006), ao aplicar óleos essenciais de *Citrus siensis* var. pera, *Cymbopogon citratus* e de *Eucalyptus citriodora*, em manga var. Tommy Atkins, constatou que a perda de massa fresca dos frutos foi reduzida.

De acordo com as tabelas 10 e 12, as variáveis sólidos solúveis, pH e AT obtiveram comportamentos diferentes em relação à inoculação do patógeno nos frutos.

TABELA 10. Teor de sólidos solúveis totais de frutos de bananeira Prata-anã com e sem inoculação de conídios de *C. musae* submetidos a diferentes óleos essenciais.

Concentração	Brix	
	Inoculado	Não inoculado
Cravo	24,1Aa	24,5 Aa
Árvore-do-chá	24,4 Aa	24,4 Aa
Tomilho	24,2 Ba	25,9 Aa
Gengibre	25,2 Ba	26,6 Aa
Testemunha	24,0	25,7

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula, na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

* Significativo para a testemunha pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

TABELA 11. Acidez total titulável de frutos de bananeira Prata-anã com e sem inoculação de conídios de *C. musae* submetidos a diferentes óleos essenciais.

Concentração	ATT	
	Inoculado	Não inoculado
Cravo	6,3 Aa	7,9 Ba
Árvore-do-chá	6,6 Aa	7,4 Aa
Tomilho	7,0 Aa	7,8 Aa
Gengibre	7,3 Aa	8,9 BA
Testemunha	6,19	7,9

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula, na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

* Significativo para a testemunha pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

TABELA 12. pH de frutos de bananeira Prata-anã com e sem inoculação de conídios de *C. musae* submetidos a diferentes óleos essenciais.

Concentração	pH	
	Inoculado	Não inoculado
Cravo	4,5 Aa	4,3 Ba
Árvore do chá	4,4 Aa	4,3 Aa
Tomilho	4,4 Aa	4,3 Aa
Gengibre	4,3 Aa	4,0 Ba
Testemunha	4,31	4,12

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula, na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

* Significativo para a testemunha pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Tabela 13- Firmeza de frutos de bananeira Prata-anã com inoculação de conídios de *C. musae* submetidas a diferentes óleos essenciais.

Concentração	Firmeza	
	Inoculado	Não inoculado
Cravo	2,2 Aa	4,0 Ba
Árvore do chá	2,4 Aa	3,1 Aa
Tomilho	2,6 Aa	2,7 Aa
Gengibre	2,6 Aa	3,0 Aa
Testemunha	3,6	3,7

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula, na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

* Significativo para a testemunha pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

Os teores de SS, ATT, pH e firmeza não apresentaram diferença estatística entre os óleos aplicados (Tabelas 10, 11 e 12), assim como verificado por Solino *et al.* (2012) em frutos de maracujá-amarelo em que se aplicou óleo de nim, copaíba, soja, vinho de jatobá.

Os frutos não inoculados apresentaram valores de SS maiores que os inoculados. Em relação à ATT, o resultado foi o inverso, sendo maiores os valores nos frutos não inoculados. Solino *et al.* (2012), estudando frutos de maracujá-amarelo submetidos a diferentes produtos naturais para se controlar a antracnose, afirma que o óleo de soja controlou melhor o amadurecimento dos frutos, uma vez que neste tratamento os frutos mostram resultados de acidez maiores.

No pH observam-se menores valores nos frutos não inoculados. Verifica-se que o pH aumenta com a redução da acidez (CHITARRA e CHITARRA, 2005). Resultados semelhantes foram obtidos por Carnelossi *et al.* (2009) que, trabalhando com mamão utilizando óleos essenciais de *Eucalypto citriodora*, *Cymbopogon citratus* e biomassa cítrica (Ecolife®), constataram que o pH nos frutos com inoculação, assim como nesta pesquisa, apresentaram maiores valores.

Esses fatos se devem a severidade da doença nos frutos ser diferente quanto à inoculação. Uma vez inoculado o patógeno, é confirmada a presença de antracnose nos frutos o que altera sua constituição, pois o amadurecimento é acelerado com o aumento da produção de etileno. Com o avanço da maturação dos frutos, os sintomas da doença podem atingir a polpa afetando diretamente suas características físicas e químicas (PESSOA e OLIVEIRA, 2006).

Muitos trabalhos utilizando controle alternativo pelo uso de óleos essenciais e extratos de plantas em doenças de pós-colheita não têm detectado efeitos nas características físicas e químicas dos frutos. Maqbool *et al.* (2010), utilizando óleo essencial de canela em frutos de banana não observaram

diferenças na perda de massa, acidez, sólidos solúveis e firmeza dos frutos. Em contrapartida, Carnelossi *et al.* (2009), ao aplicarem óleo essencial de *Eucalypto citriodora* e a biomassa cítrica (Ecolife®) em frutos de mamão, constataram que o teor de sólidos solúveis e pH foram melhores do que os da testemunha.

4 - CONCLUSÕES

Os óleo de árvore-do-chá e de gengibre controlaram a incidência e a severidade da antracnose nos frutos inoculados e não inoculados.

As características pós-colheita de perda de massa fresca e coloração do pericarpo foram mantidas pelos óleos de gengibre e de tomilho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, L. ; MARTINS, M. C. Controle químico. In: Oliveira, S. M. A. *et al.* (Org.). **Patologia Pós-colheita. Frutas, Olerícolas e Ornamentais Tropicais**. 1 ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. v. 1.

AQUINO, C. F. **Ação de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) do maracujazeiro-amarelo**. 2011. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias).- Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, MG. 2011.

A.O.A.C. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 11 ed. Washington: AOAC, 1992. 1115 p.

BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**. 2008. 446–475.

BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 555-557, out. 2004.

CAMARGO, R. F de. **Tratamento alternativo na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de espécies florestais**. 2007. 75 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, 2007.

CAMILI, E. C. *et al.* 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, Jun./2010.

CARNELOSSI, P. R. *et al.* Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 399-406, 2009.

CHITARRA e CHITARRA. **Pós-colheita de frutos e hortaliças**: Fisiologia e manuseio. 2 ed. Lavras: UFLA, 2005.785 p.

COELHO, A. F. S. **Avaliação da qualidade após a colheita da banana “prata anã” submetida a tratamentos químicos e armazenada sob refrigeração**. 2007. 117 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas, 2007.

COSTA, A. R.T. *et al.* Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.13, n. 2, p. 240-245, 2011.

CRUZ, M. J. S. da. **Ação de compostos bioativos na conservação pós-colheita de manga Tommy Atkins (*Mangifera indica* L.)**. 2006. 67 f. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.

EL-BAROTY, G. S.; *et al.* Characterization of antioxidant and antimicrobial compounds of cinnamon and ginger essential oils. **African Journal of Biochemistry Research**, v. 4, n. 6, p. 167-174, Disponível em: <<http://www.academicjournals.org/ajbr/pdf/pdf2010/jun/el-baroty%20et%20al.pdf>>. Acesso em: 15 de março de 2012.

FERQUIMA Ltda. Indústria e comércio. Certificado de Análise Química da composição de óleos essenciais. **Universidade Federal de Minas Gerais**. Departamento de Química. 2012.

JAKIEMIU, E. A. R. *et al.* Estudo da composição e do rendimento do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 683-688, jul./set. 2010.

MAQBOOL, M., A. ALI AND P.G. ALDERSON. Effect of cinnamon oil on incidence of anthracnose disease and postharvest quality of bananas during storage. **International Journal of Agriculture and Biology**, [s.l.] v. 12, p. 516–520, 2010.

MORAES, W. S. **Integração de métodos de controle de podridão em pós-colheita da banana ‘Prata-Anã’ (AAB)**. 1999. 84 p. Dissertação (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 1999.

NEGREIROS, R. J. Z. **Controle de antracnose na pós-colheita de bananas Prata e Nanicão com produtos alternativos aos agrotóxicos convencionais**. 2010. 55 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Viçosa. UFV. Viçosa- MG, 2010. PESSOA, W. R. L. S.; OLIVEIRA, S. M. A. Doenças da Banana. In: OLIVEIRA *et al.* **Patologia pós-colheita: Frutas, olerícolas e ornamentais tropicais**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p. 540-553.

SOUZA-JUNIOR, *et al.* Efeito de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloesporioides*, isolado do maracujazeiro-amarelo. **Revista Biotemas**, v. 22, n. 3, p. 77-83, 2009.

SOLINO, A. J. S. da; . Severidade da antracnose e qualidade dos frutos de maracujá-amarelo tratados com produtos naturais em pós-colheita. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 34, n. 1, p. 057-066, mar. 2012.

THOMSEN, N.A., HAMMER, K.A., RILEY, T.V. 2010, '**Tea-Tree Oil - A Naturally Occurring Biocide**', *Microbiology Australia*, 31, 4, pp. 182-184

WILLS, R. H. *et al.* **Postharvest**: an introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables & ornamentals. Sydney: [s.n.], 1998.