



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

EFICIÊNCIA DE EXTRATO PIROLENHOSO NO CONTROLE DE PATÓGENOS DE PÓS-COLHEITA EM FRUTOS CÍTRICOS

Gilmar da Silveira **Sousa Junior**^{1a}; Katia Cristina **Kupper**^{1b}

¹ Instituto Agrônômico (IAC), Centro de Citricultura Sylvio Moreira

Nº 13145

RESUMO - As doenças de pós-colheita representam um sério problema à citricultura, uma vez que, comprometem a qualidade e a produção dos frutos. Dentre tais doenças, destaca-se o bolor verde causado por *Penicillium digitatum*. Esse fungo é responsável por grandes perdas do produto na fase de comercialização, sendo muitas vezes um fator limitante na produção dos frutos cítricos. Com o aumento no consumo de alimentos isentos de agrotóxicos, devido a uma maior preocupação do consumidor com a qualidade de vida, produtores têm buscado novas alternativas de controle de doenças e, dentre estas, encontra-se a utilização de extratos vegetais. Portanto, este trabalho teve por objetivo testar o efeito de diferentes concentrações (0,0; 1,0; 2,5; 5,0; 10,0; 12,5; 15,0; 17,5; 20,0%) de extrato pirolenhoso na germinação de esporos, no crescimento micelial e no desenvolvimento *in vivo* de *P. digitatum* focando o controle da doença. Os resultados obtidos neste trabalho mostraram que é viável a utilização do extrato pirolenhoso, em concentrações acima de 17,5%, para o controle do bolor verde quando se faz o tratamento de forma curativa, porém, tal produto não controlou a doença de forma preventiva.

Palavras-chaves: *Penicillium digitatum*, controle alternativo, bolor verde.

^a Bolsista CNPq: Graduação em Agroecologia, Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Agrárias gilmar.ssjr@hotmail.com, ^b Orientadora, Pesquisadora, katia@centrodecitricultura.br.



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

ABSTRACT- *The postharvest diseases pose a serious problem to the citrus industry, since compromise the quality and production of fruits. Among such disease, there is the green mold (*Penicillium digitatum*), responsible for major losses in the product marketing stage, often a limiting factor in the production of citrus fruits. With the increase in the consumption of food without pesticides, due to increased consumer concern over the quality of life, producers are looking for new alternatives for disease control and, among these is the use of plant extracts. Therefore, this study aimed to test the effect of different concentrations (0.0, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 12.5, 15.0, 17.5, 20.0%) of extract pirolenhoso in the germination and growth micelial of *Penicillium* and for control of disease. The results showed that it is feasible to use of the pirolenhoso extract at concentrations above 17.5% in the curative control of green mold, however, this product did not control the disease in the preventive way.*

Key-words: *Penicillium digitatum*, alternative control, green mold.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de laranja, respondendo por cerca de 30% da produção da fruta, 50% da produção de suco, com participação de 85% do suco comercializado internacionalmente (Neves et al., 2010). A produção brasileira em 2011 foi de aproximadamente 19 mil toneladas, sendo que cultura está assentada em uma área aproximada de 795 mil hectares, dos quais 74% encontram-se localizados na região sudeste do país (Agrianual, 2012).

Não obstante a importância econômica e social que representa a citricultura para o país, este setor enfrenta vários problemas de natureza fitossanitária. Dentre tais problemas, destacam-se as doenças de pós-colheita. As doenças que ocorrem na fase de pós-colheita normalmente são iniciadas no campo e se desenvolvem durante a colheita, transporte, embalagem e armazenamento.

Dentre as doenças de pós-colheita, destaca-se o bolor verde dos frutos cítricos, causado por *Penicillium digitatum*. Tal patógeno diminui a qualidade e a quantidade dos frutos de citros, bem como prejudica os valores nutricionais e de mercado.

Os tratamentos químicos são os mais utilizados em pré e pós-colheita. No Brasil, os fungicidas do grupo dos benzimidazóis são os mais utilizados e estes possuem várias restrições de



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013 13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

uso, como, por exemplo, o de selecionar linhagens resistentes do patógeno a esses produtos (Franco & Bettiol, 1999).

Neste contexto, de maneira a ampliar os resultados obtidos com metodologias menos agressivas ao meio ambiente, o uso de produtos a base de extrato vegetal se apresenta como uma alternativa de controle promissora de doenças que ocorrem na pós-colheita de citros.

No processo da carbonização da madeira, obtém-se, como produto principal, o carvão vegetal. Os gases liberados neste processo, normalmente são desperdiçados na atmosfera, constituindo-se em poluentes (Porto, 2007).

O Brasil é o maior produtor de carvão vegetal do mundo, porém, poucos ou a grande maioria das carbonizações são efetuados sem a recuperação dos gases. Com a condensação e recuperação desses gases voláteis obtém-se além do carvão vegetal, o extrato pirolenhoso (líquido, ácido, licor pirolenhoso ou vinagre da madeira) e alcatrão. No Japão, a prática da utilização desses produtos na agricultura é conhecida há muito tempo (Porto, 2007). Porém, ainda são escassas as informações científicas quanto à sua eficácia no solo, nas plantas e no combate às pragas, bem como, as concentrações ideais a serem utilizadas. Os trabalhos desenvolvidos por Miyazaka et al. (2000), Zanetti et al. (2003) e Alves (2006) vêm contribuir com informações importantes quanto à utilização do extrato pirolenhoso.

Diante do exposto, este trabalho teve por objetivo avaliar *in vitro* e *in vivo* a eficiência do extrato pirolenhoso em diferentes concentrações no controle de *Penicillium digitatum*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Efeito do extrato pirolenhoso, em diferentes concentrações, na germinação de esporos de *P. digitatum*

Para avaliação do efeito do extrato pirolenhoso na germinação de conídios de *P. digitatum*, alíquotas de 10 µL do extrato pirolenhoso, nas concentrações de 0; 1,0; 2,5; 5,0; 10,0; 12,5; 15,0; 17,5 e 20,0% e da suspensão de conídios de *P. digitatum* (1×10^4 conídios/ml) foram depositadas, simultaneamente, em áreas demarcadas de lâminas previamente preparadas contendo meio ágar-água. Para a testemunha, alíquotas de água destilada e esterilizada foram depositadas no lugar do extrato.



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013 13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

Após a montagem das lâminas, as mesmas foram colocadas no interior de placas de Petri esterilizadas, contendo algodão estéril embebido em água destilada e esterilizada, a fim de manter a umidade. As culturas foram incubadas em estufa para BOD a 25°C, durante 14 horas. Ao término deste período, procedeu-se a avaliação, através da contagem de conídios germinados e não germinados, num total de 100 conídios avaliados ao acaso. Foi considerado germinado o conídio cujo tamanho do tubo germinativo encontrava-se maior ou igual ao tamanho do conídio. Antes da avaliação, em cada lâmina foram adicionados 10 µl de uma solução contendo azul láctico, com a finalidade de impedir o desenvolvimento do fungo. Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.2. Efeito do extrato pirolenhoso, em diferentes concentrações, no crescimento micelial de *P. digitatum*.

O extrato pirolenhoso foi adicionado ao meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) nas seguintes concentrações: 0; 1,0; 2,5; 5,0; 10,0; 12,5; 15,0; 17,5 e 20,0% e vertido para placas de Petri. Após a solidificação do meio, discos de 05 mm de diâmetro foram retirados de colônias ativas de *P. digitatum* e depositados no centro das placas. As culturas foram incubadas em estufa B.O.D a 25°C ± 1°C, fotoperíodo 12/12h. O controle correspondeu ao crescimento do *P. digitatum* em meio BDA sem a adição do extrato pirolenhoso. A avaliação se deu por meio da medição do diâmetro da colônia do fungo em dois sentidos perpendiculares, após sete dias de incubação das culturas. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições. Os dados obtidos foram analisados em análise de variância ANOVA e a comparação das médias foi feita pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.3. Efeito de diferentes concentrações de extrato pirolenhoso no controle do bolor verde em frutos de Laranja Lima

Para realização deste estudo foi utilizado o isolado de *P. digitatum* pertencente à coleção de microrganismos do Laboratório de Fitopatologia e Controle Biológico do Centro de Citricultura “Sylvio Moreira”/IAC – Cordeirópolis/SP.

Frutos de laranja Lima foram esterilizados superficialmente com hipoclorito de sódio a 2% e, feridos em dois pontos equidistantes, na região equatorial dos frutos, com agulhas esterilizadas a uma profundidade de 03 mm. Em seguida, os frutos foram inoculados com o fitopatógeno (1 x 10⁴ conídios/ml), 24h antes e 24h depois da realização dos tratamentos com extrato pirolenhoso.



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013

13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

Os tratamentos corresponderam à imersão dos frutos por 5 minutos nas diferentes concentrações do extrato pirolenhoso (10; 12,5; 15; 17,5 e 20%). Como tratamento químico utilizou-se o fungicida Imazalil, na dose recomendada pelo comerciante para o controle da doença e, como tratamento testemunha, utilizou-se frutos tratados somente com água destilada e esterilizada.

Após a inoculação e realização dos tratamentos, os frutos foram armazenados por 7 dias, em condição ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 2$ e com 90% de umidade relativa (UR)). A severidade da doença foi avaliada no, 5º, 6º e 7º dia após a inoculação. A incidência foi avaliada pela porcentagem de frutos doentes observados no último dia de avaliação.

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, sendo cada tratamento composto por 4 repetições com 20 frutos por repetição. Para analisar o efeito dos tratamentos sobre o tamanho médio das lesões ocasionadas pelo fitopatógeno, foi realizada a área abaixo da curva da doença. Os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA) usando o software de estatística ASSISTAT 7.6 e a comparação das médias foi realizada pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Efeito do extrato pirolenhoso, em diferentes concentrações, na germinação de *P. digitatum*.

Todas as concentrações de extrato pirolenhoso testadas foram capazes de inibir a germinação dos conídios do patógeno, diferindo estatisticamente, pelo teste de Tuckey a 5%. Mesmo para a menor dose aplicada (1%), a germinação de conídios apresentou valores de inibições acima de 70%. Concentrações acima de 12,5% do produto proporcionaram valores de inibições de germinação de conídios acima de 96% (Figura 1).

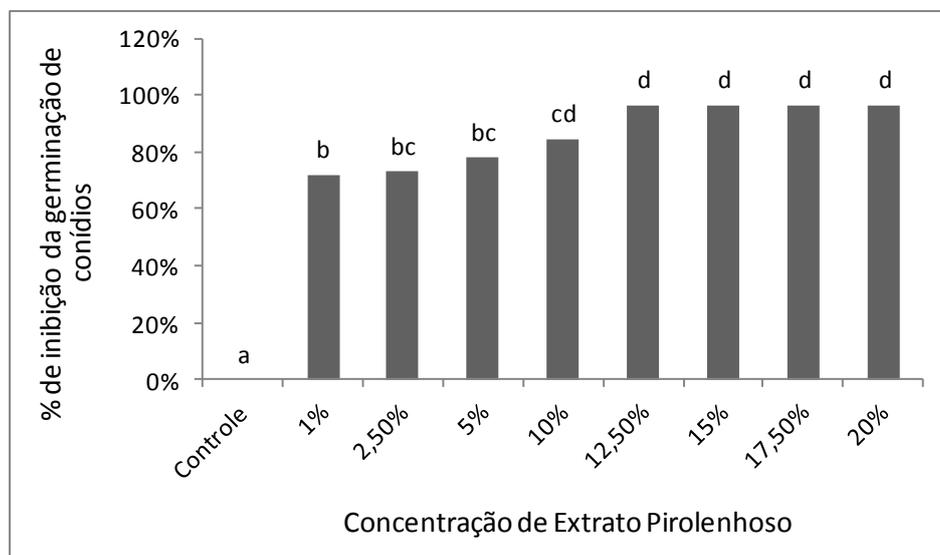


Figura 1: Efeito de diferentes concentrações do extrato pirolenhoso na inibição da germinação de conídios de *Penicillium digitatum*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.2. Efeito do extrato pirolenhoso, em diferentes concentrações, no crescimento micelial de *Penicillium digitatum*

Assim como para o ensaio de germinação de esporos, os efeitos de inibição no crescimento micelial do patógeno foram observados mesmo nas menores doses aplicadas, de 1% a 5%. Sobretudo, os melhores resultados foram observados para doses acima de 10%, tendo as concentrações a partir de 12,5% promovido inibição total no crescimento micelial de *P. digitatum* (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito de diferentes concentrações do extrato pirolenhoso no crescimento micelial de *Penicillium digitatum*.

Concentração de Extrato Pirolenhoso	Diâmetro de colônia (cm)	Porcentagem de inibição em relação à testemunha
0,00	6.33750 a ⁽¹⁾	-
1,00	3.68750 b	41,79%
2,50	3.80000 b	40,00%
5,00	3.87500 b	38,95%
10,00	1.46250 c	76,97%
12,50	0.50000 c	100,00%
15,00	0.50000 c	100,00%
17,50	0.50000 c	100,00%
20,00	0.50000 c	100,00%

⁽¹⁾Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

3.3. Efeito de diferentes concentrações de extrato pirolenhoso no controle do bolor verde em frutos de laranja Lima

Os dados de incidência e severidade mostraram que quando frutos de laranja Lima foram tratados preventivamente com as diferentes concentrações de extrato pirolenhoso para controle do bolor verde (Figura 2), o extrato favoreceu o desenvolvimento da doença. Os frutos tratados com imazalil, foram os que apresentaram melhor resultado. Para o tratamento curativo os melhores resultados foram observados nas concentrações de 17,5 e 20% que não diferiram estatisticamente do tratamento químico. Apesar da elevada dose aplicada, esse resultado demonstra a eficácia do produto e aponta para seu potencial no controle de bolor verde. Abre-se assim um campo de investigação para aplicação deste produto no manejo fitossanitário.

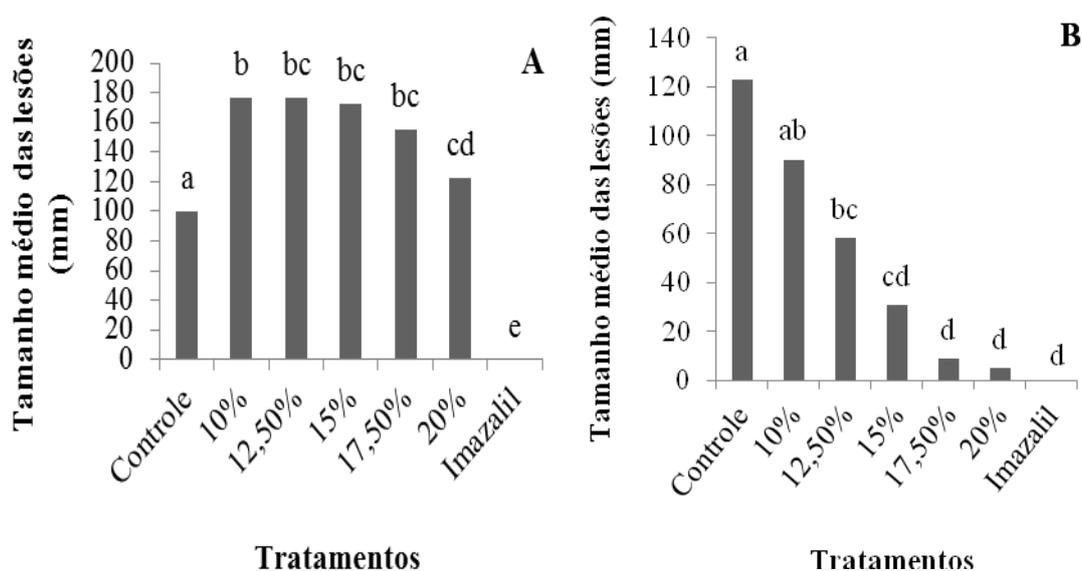


Figura 2. Tamanho médio de lesões causadas por *Penicillium digitatum*, após tratamento preventivo (A) e tratamento curativo (B) com diferentes concentrações do extrato pirolenhoso, sob condições de armazenamento a 25°C e 90% de UR, por 7 dias. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013 13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

4. CONCLUSÕES

- ✓ O extrato pirolenhoso não controla a doença de forma preventiva;
- ✓ É viável a utilização de extrato pirolenhoso em concentrações acima de 17,5% para o controle do bolor verde de forma curativa;
- ✓ O extrato apresentou características fungistáticas, inibindo 100% do crescimento micelial e quase totalmente a germinação de esporos de *P. digitatum*, para doses acima de 12,5%.

5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ – PIBITI, pela bolsa concedida e ao Centro APTA Citros “Sylvio Moreira” – IAC, pela oportunidade de estágio.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agriannual: **Anuário da Agricultura Brasileira**, 2012. São Paulo: FNP, 255-268.

Alves, M. **Impacto da utilização de fino de carvão e extrato pirolenhoso na agricultura**. 2006. 43 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal.

Franco, D.A.S., Bettioli, W. Controle do Bolor Verde em Pós-Colheita de Citros com Produtos Alternativos. In: AMBROSIANO, E. (Coord.) **Agricultura Ecológica**. Guaíba: Agropecuária. 1999, p. 121-130.

Miyasaka, S. et al. **Técnicas de produção e uso de fino de carvão e licor pirolenhoso**. In: Encontro de processos de proteção de plantas – controle ecológico de pragas e doenças, 1., 2001, Botucatu. Resumos... Botucatu; AgroEcológica, 2001. p. 161-176.

Neves, M.F., Trombin, V.G., Milan, P., Lopes, F.F., Cressoni, F., Kalaki, R. (coordenador). **O retrato da citricultura brasileira**. Elaboração: Markestrat, Centro de Pesquisa e Projetos em Marketing e Estratégia, Ribeirão Preto, p.137, 2010.

Porto, R.T. et al. 2007. **Efeito da aplicação do extrato pirolenhoso na germinação e no desenvolvimento de mudas de Pinus elliottii var. elliottii**. IF Sér. Reg., São Paulo, n. 31, p. 15-19.

Zanetti, M. et al., 2003. Uso de subprodutos de carvão vegetal na formação do porta-enxerto limoeiro cravo em ambiente protegido. Rev. **Bras. Frutic. Jaboticabal**, n. 3, v. 25, p. 1-8.