

## Efeito de óleos essenciais de *Citrus* spp. no controle pós-colheita da antracnose em banana e pimentão

Gabriela Silva Moura<sup>1</sup>, Daniele Carla Scheffer<sup>2</sup>, Gilmar Franzener<sup>3</sup> e Jonas Marcelo Jaski<sup>4</sup>

**Resumo:** Observam-se cada vez mais pesquisas propondo a utilização de métodos alternativos de controle de patógenos pós-colheita envolvendo a utilização de extratos vegetais, uso de biofungicidas e óleos essenciais. Neste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do óleo essencial (OE) de laranja doce (*Citrus vulgaris*) e limão siciliano (*Citrus limon*) no controle da antracnose em frutos de banana e pimentão. Avaliou-se *in vitro* o crescimento micelial e a esporulação dos patógenos nas concentrações de 0,05%; 0,25%; 0,5%; 1%, tendo água destilada como testemunha. Para a contagem de esporos germinados utilizou-se os seguintes tratamentos: 0,1%; 0,5%; 1%, 2% e água como testemunha. *In vivo* avaliou-se o efeito curativo e preventivo dos OE de *C. vulgaris* e *C. limon* no controle da antracnose em frutos de banana e pimentão nas concentrações de 0,05 e 0,1% tendo água como controle. Os óleos essenciais apresentaram atividade inibitória direta sobre *Colletotrichum musae* e *Colletotrichum gloeosporioides* sobretudo nas maiores concentrações, com destaque para OE de *C. limon* que na concentração de 1% inibiu totalmente o crescimento micelial e a germinação de esporos dos patógenos. No teste *in vivo*, não houve diferença entre os tratamentos quando aplicados preventivamente, mas o OE de *C. vulgaris* a 0,05 e 0,1%, bem como OE de *C. limon* a 0,1% reduziram o tamanho de lesões da doença quando aplicados de forma curativa. Estes resultados demonstram que mais estudos devem ser realizados mostrando o potencial dos óleos essenciais como uma alternativa promissora para o manejo de doenças pós-colheita em frutos.

**Palavras-chave:** fungos, *Colletotrichum* spp., controle alternativo.

## Effect of essential oils of *Citrus* spp. in the post-harvest control of anthracnose in banana and pepper

**Abstract:** Research has been carried out proposing the use of alternative methods of controlling post-harvest pathogens involving the use of plant extracts, the use of biofungicides and essential oils. In this context, this work had as objective evaluate the effect of essential oil (OE) of sweet orange (*Citrus vulgaris*) and Sicilian lemon (*Citrus limon*) on the control of anthracnose in banana and pepper fruits. *In vitro* mycelial growth and pathogen sporulation were evaluated in concentrations of 0.05%; 0.25%; 0.5%; 1%, having distilled water as a control. For germinated spore counting the following treatments was used: 0.1%; 0.5%; 1%, 2% and water as a control. *In vivo*, the curative and preventive effect of OE of *C. vulgaris* and *C. limon* on the control of anthracnose in banana and pepper fruits at concentrations of 0.05 and 0.1% was evaluated. The essential oils showed direct inhibitory activity on *Colletotrichum musae* and *Colletotrichum gloeosporioides*, especially in the highest concentrations, with emphasis on *C. limon* OE, which at 1% concentration totally inhibited

<sup>1</sup>Bióloga. Pós-doutoranda em Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável (PNPD-CAPES), UFFS. bismoura@hotmail.com

<sup>2</sup>Graduanda em Agronomia. (UFFS). dannielescheffer@gmail.com

<sup>3</sup>Engenheiro Agrônomo. Doutor em Agronomia (UEM). Professor da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), PR. gilmar.franzener@uffs.edu.br

<sup>4</sup>Engenheiro Agrônomo. Mestrando em Agronomia. (UEM). jonasmjaski@hotmail.com

mycelial growth and spore germination of the pathogens. In the in vivo test, there was no difference between treatments when pre-emptively applied, but 0.05 and 0.1% *C. vulgaris* OE as well as 0.1% *C. limon* OE reduced the lesion size of disease when applied curatively. These results demonstrate that further studies should be carried out showing the potential of essential oils as a promising alternative for the management of post-harvest diseases in fruits.

**Key words:** fungus, *Colletotrichum* spp., alternative control.

### Introdução

A antracnose é uma das doenças de ocorrência mais comum em todo mundo, especialmente em frutos pós-colheita, ocasionando grandes perdas econômicas em várias culturas (SARKAR, 2016). Várias são as espécies do gênero *Colletotrichum* spp. que causam a antracnose, considerada uma das doenças mais severas e economicamente prejudicial por ocorrer numa variedade de hospedeiros incluindo árvores, gramíneas (FREEMAN *et al.*, 1998), cereais, leguminosas, plantas medicinais e plantas economicamente importantes como banana, manga, abacate, maracujá, pimentão, mamão, goiaba, morango, café, castanha de caju, citros, maçã entre outros (SARKAR, 2016).

Em frutos de banana, a antracnose causada por *Colletotrichum musae* (Berk. e Curt) Arx. é considerada uma das mais importantes doenças da bananeira em nível mundial e um dos maiores problemas para a produção de banana (THANGAMANI *et al.*, 2011). Esta doença pode envolver diversas espécies, dentre elas *Colletotrichum gloeosporioides* que tem sido relatada associada com antracnose em banana (WIJESUNDERA, 1994; DUDUK, IVANOVIC, DUDUK, 2009) mas, o organismo mais comumente associado na cultura da banana é o *C. musae* (GREENE; GOOS, 1963, GRIFFEE; BURDEN, 1976, FINLAY; BROWN, 1993).

Já em frutos de pimentão, a antracnose é causada por um complexo de espécies do gênero *Colletotrichum* (THAN *et al.*, 2008). Estudos realizados no Brasil por Tozze JR (2007) revelaram que as espécies *Colletotrichum acutatum*, *C. gloeosporioides*, *Colletotrichum coccodes*, *Colletotrichum boninense* e *Colletotrichum capsici* estão associadas com a antracnose no pimentão, com a espécie *C. acutatum* representando mais de 70% dos casos de ocorrência no país.

Em geral, a infecção do patógeno nos frutos desenvolve durante o desenvolvimento da cultura no campo (LOPES; ÁVILA, 2003) mas, o patógeno permanece em repouso até que os frutos amadurecem, ocorrendo assim, a manifestação dos sintomas típicos da doença durante o armazenamento e comercialização (PRUSKY; PLUMBLEY, 1992). Os sintomas da doença

são caracterizados por lesões circulares de diâmetro variável, deprimidas e de coloração escura com presença de uma massa alaranjada de esporos (TOZZE JR *et al.*, 2006; LATIFFAH *et al.*, 2009).

O desenvolvimento progressivo de lesões sobre os frutos de banana e pimentão é favorecido por altas temperaturas e umidade, com ótimo crescimento micelial, esporulação e germinação de conídios de *C. musae*, na faixa de 27-30 °C (GOOS; TSCHIRSCH, 1962), e para *C. gloeosporioides* as condições ideais para a esporulação em cultivo *in vitro* foram 30°C de temperatura sob 16 horas de iluminação (YOON; PARK, 2001), respectivamente. Para outras espécies de *Colletotrichum*, a faixa ótima pode variar de 20-30°C (COUTO; MENEZES, 2004).

Para o controle desta doença, o método mais utilizado tem sido os fungicidas sintéticos. Entretanto, esse método pode causar danos à saúde dos aplicadores e consumidores, uma vez que deixa resíduos nos frutos. Além disso, a adoção contínua do controle químico tem favorecido o desenvolvimento de patógenos resistentes aos produtos, contaminação de alimentos e animais (GHINI; KIMATI, 2000).

Segundo Pereira *et al.* (2011), inexistem variedades de pimentão comercial ou híbrido que apresentem resistência à antracnose. Neste sentido, há uma necessidade para a investigação de novas alternativas sustentáveis no controle da doença, principalmente durante o armazenamento pós-colheita e manuseio dos frutos (IDRIS *et al.*, 2015).

Entre as várias alternativas, os óleos essenciais têm chamado atenção dos pesquisadores, por apresentarem um papel importante na proteção das plantas, ação antibacteriana, antiviral, antifúngica, inseticida e efeito repelente em herbívoros (MARJANLO *et al.*, 2009). Os óleos essenciais de citros têm sido explorados recentemente como alternativas viáveis na substituição de conservantes ou desinfetantes químicos (ASHOK KUMAR *et al.*, 2011), na indústria de alimentos, cosméticos (antioxidante), de produtos de limpeza e na indústria farmacêutica (anti-inflamatórios e antimicrobianos) (PATIL *et al.*, 2009; CHOI *et al.*, 2000; FISHER; PHILLIPS, 2008).

No entanto, poucos são os estudos sobre as características antimicrobianas dos óleos essenciais de espécies do gênero *Citrus* sobre fitopatógenos (TAO *et al.*, 2014; VIUDA-MARTOS *et al.*, 2008). Neste contexto, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito do óleo essencial de laranja doce (*Citrus vulgaris*) e limão siciliano (*Citrus limon*) no controle da antracnose em frutos de banana cv. Caturra (*Musa sp.*) e pimentão (*Capsicum annuum* L.).

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido no laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal da Fronteira Sul no Campus Laranjeiras do Sul – PR, cujas coordenadas geográficas da região são 25°26'42'' de latitude Sul e 52°26'29'' longitude Oeste, 900 m de altitude, no período de março de 2016.

No experimento *in vitro* avaliou-se o efeito dos óleos essenciais (OEs) de laranja doce (*Citrus vulgaris*) e limão siciliano (*Citrus limon*) na inibição do crescimento micelial e esporulação dos patógenos *C. musae* e *C. gloeosporioides* nas concentrações de 0,05%; 0,25%; 0,5%; 1%, tendo água destilada como testemunha. No ensaio de germinação de conídios de *C. gloeosporioides* e *C. musae*, alíquotas de 10 µL de suspensão de conídios ( $2 \times 10^5$  esporos mL<sup>-1</sup>), respectivamente e 50 µL de cada um dos tratamentos de *C. vulgaris* e *C. limon* nas concentrações de 0,1%; 0,5%; 1%, 2% foram colocadas em pocinhos de placa de ELISA e incubadas em escuro a 25° C por 9 horas quando a germinação foi paralisada com 20 µL do corante azul algodão + lactofenol. Posteriormente, avaliou-se a porcentagem de germinação de esporos através da contagem de 100 esporos por repetição determinando-se a porcentagem de esporos germinados. A contagem foi realizada ao microscópio óptico com auxílio de régua ocular.

Para o ensaio de crescimento micelial, os tratamentos de óleo essencial de *C. vulgaris* e *C. limon* foram incorporados em meio BDA fundente e vertidos em placas de Petri. Duas horas após, um disco de 7 mm de diâmetro, contendo micélio de cada patógeno, *C. gloeosporioides* e *C. musae* com sete dias de idade, foram repicados para o centro de cada placa, essas foram mantidas a 25 °C em escuro. Meio contendo apenas BDA foi utilizado como testemunha.

As avaliações foram realizadas através das medições diárias do diâmetro das colônias, iniciadas 48 horas após a instalação do experimento e perduraram até o momento em que as colônias cobriram 2/3 da superfície do meio de cultura. Foi calculada a porcentagem de inibição do crescimento micelial através da equação:  $PIC = (DT - DTOE) / DT * 100$  proposta por Garcia *et al.* (2012) com modificações, onde DT é o diâmetro da testemunha e DTOE é o diâmetro do tratamento com óleo essencial. Ao final deste período avaliou-se a esporulação do fungo, realizando-se a contagem dos esporos em câmara de Neubauer ao microscópio óptico, determinando-se o número de esporos/cm<sup>2</sup> de colônia.

No experimento *in vivo* avaliou-se o efeito curativo e preventivo dos OEs de *C. vulgaris* e *C. limon* no controle da antracnose em frutos de banana e pimentão nas concentrações de

0,05 e 0,1% tendo água como controle. Os frutos foram adquiridos no comércio local da cidade de Laranjeiras do Sul-PR. Inicialmente os frutos de banana cv. Caturra (*Musa* sp.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.) foram submetidos ao processo de desinfestação superficial com hipoclorito de sódio (NaClO) 0,5% por três minutos, lavados com água destilada e após secos em condições ambiente. Em seguida, foram realizados 7 furos com agulha histológica de 1 mm de diâmetro e 4 mm de profundidade em 3 regiões distintas (efeito curativo).

Por meio de uma pipeta automática foi depositado 15 µL da suspensão de esporos na concentração de  $1 \times 10^6$  conídios/mL de *C. gloeosporioides* em cada região nos frutos de pimentão e  $2 \times 10^5$  conídios/mL de *C. musae* em cada região nos frutos de banana. Os frutos inoculados foram acondicionados em câmara úmida por 24 horas. Após esse período, os frutos foram submetidos aos tratamentos por 1 minuto: OE de *C. vulgaris* 0,05%; *C. vulgaris* 0,1%, controle (água); OE de *C. limon* 0,05%, *C. limon* 0,1%, controle (água). Para cada tratamento foi adicionado 0,1% de Tween-20.

Para avaliação do efeito preventivo, após a desinfestação, os frutos foram imersos nos tratamentos descritos acima por 1 minuto. Após 24 horas, foram realizados 7 furos com agulha histológica de 1 mm de diâmetro e 4 mm de profundidade em 3 regiões distintas. Em seguida, com auxílio de uma pipeta automática foi depositado 15 µL da suspensão de esporos na concentração de  $1 \times 10^6$  conídios/mL de *C. gloeosporioides* em cada região nos frutos de pimentão e  $2 \times 10^5$  conídios/mL de *C. musae* em cada região nos frutos de banana.

Os frutos inoculados foram acondicionados em câmara úmida por 24 horas. Os frutos foram colocados em bandejas plásticas onde permaneceram por dez dias sob condições ambiente, com monitoramento da temperatura e da umidade relativa ( $26 \pm 2$  °C e UR  $90 \pm 5\%$ ). As avaliações foram iniciadas a partir do terceiro dia após a implantação do experimento por meio de medições da área de lesão com um paquímetro digital durante seis dias.

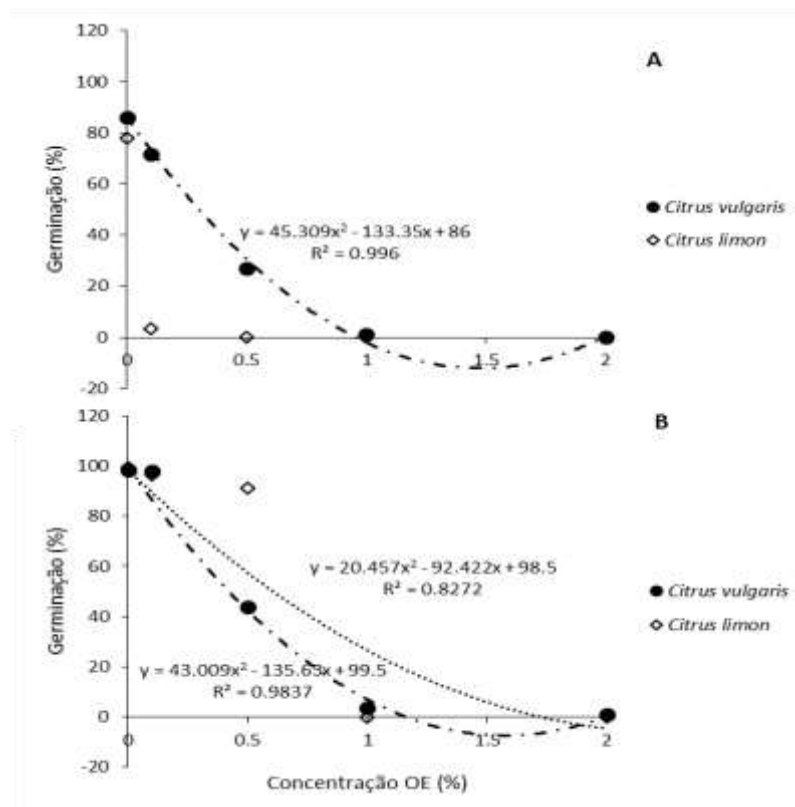
Os ensaios foram conduzidos em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e estudo da regressão para as concentrações dos derivados. Os dados foram submetidos ao teste de agrupamento Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade de erro. As análises foram realizadas utilizando o software estatístico SISVAR. (FERREIRA, 2011).

### **Resultados e Discussão**

Os resultados obtidos demonstraram atividade inibitória direta dos óleos essenciais (OEs) sobre *C. musae* e *C. gloeosporioides*, sobretudo nas maiores concentrações. Na

concentração de 1 e 2%, os OEs inibiram totalmente a germinação dos esporos dos dois patógenos. OE de *C. limon* foi eficiente já em baixas concentrações de 0,1% sobre a germinação de *C. gloeosporioides*, inibindo totalmente a germinação com o aumento da concentração de OE (Figura 1). Para o OE de *C. vulgaris* observa-se também que com o aumento da concentração houve inibição da germinação dos esporos sobre os dois patógenos. No entanto, verifica-se no gráfico que o OE de *C. vulgaris* na concentração de 0,1% não foi expressivo na inibição da germinação de conídios do patógeno *C. musae*.

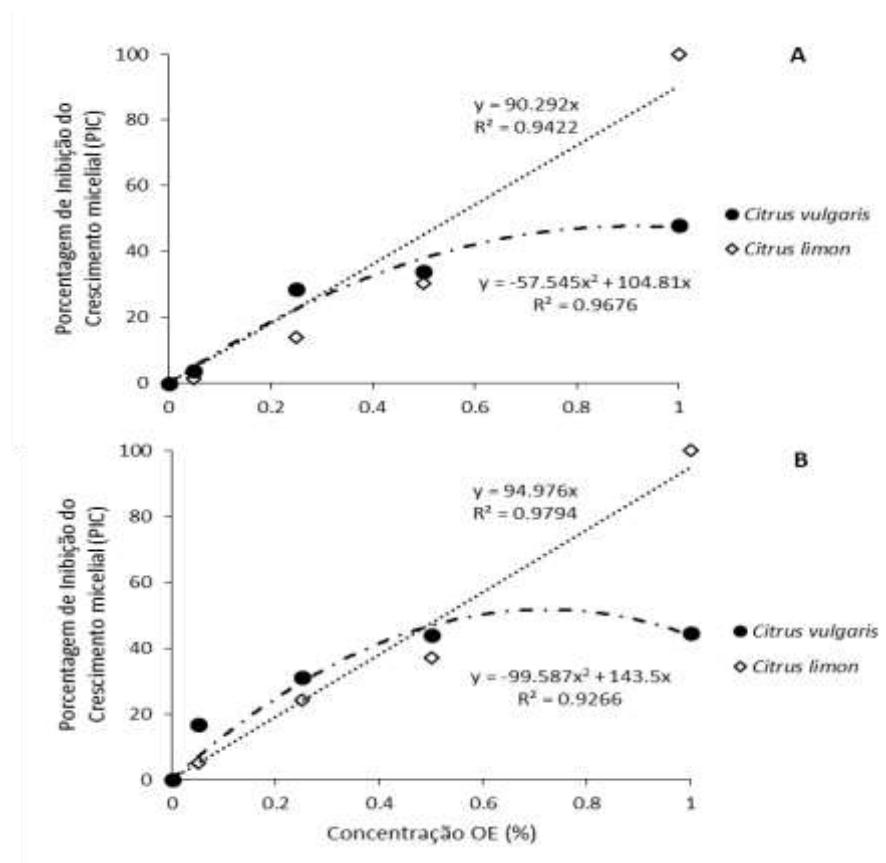
**Figura 1** - Porcentagem de germinação de conídios de *Colletotrichum gloeosporioides* (A) e *Colletotrichum musae* (B) sob diferentes concentrações (0,0%; 0,1%; 0,5%; 1%, 2%) de óleo essencial de *Citrus vulgaris* e *Citrus limon*.



O óleo essencial de *C. limon* na concentração de 1% inibiu 100% o crescimento micelial dos dois patógenos testados, o que pode ser observado na Figura 2. A curva de tendência para OE de *C. limon* é linear, mostrando que com o aumento da concentração de OE, ocorre aumento da porcentagem de inibição do crescimento micelial dos dois patógenos, chegando a 100% na concentração de 1%. Estes resultados estão em concordância com os resultados obtidos no ensaio da germinação do presente trabalho em que os óleos de *C. limon* e *C. vulgaris* na concentração de 1% inibiu totalmente a germinação dos patógenos.

O OE de *C. vulgaris* também afetou o crescimento micelial dos dois patógenos de forma semelhante, porém a curva de tendência foi quadrática, sendo o ponto de máxima inibição foi de 0,91% de óleo essencial para *C. gloeosporioides* e 0,72% de para *C. musae* (Figura 2).

**Figura 2** - Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de *Colletotrichum gloeosporioides* (A) e *Colletotrichum musae* (B) sob diferentes concentrações (0,0%, 0,05%; 0,25%; 0,5%; 1%) de óleo essencial de *Citrus vulagris* e *Citrus limon*.



Os resultados obtidos neste experimento corroboram com os obtidos por Viuda-Martos *et al.* (2008) observando atividade antifúngica dos óleos essenciais de limão (*Citrus aurantifolia* e *Citrus limonia*), laranja (*C. sinensis*), toranja (*Citrus medica*) e tangerina (*Citrus reticulata*) sobre fungos associados à deterioração de alimentos. Os mesmos autores, observaram que o óleo essencial da casca de laranja foi o que apresentou maior inibição do crescimento micelial do fungo *Aspergillus niger*, ao passo que para os patógenos *Aspergillus flavus* e *Penicillium chrysogenum*, os óleos essenciais das cascas de tangerina e toranja foram mais eficazes, respectivamente.

A pesquisa realizada por Sharma e Tripathi (2006a) corroboram com o presente trabalho verificando a atividade antifúngico das espécies do gênero *Citrus*. Esses autores

verificaram que o óleo essencial da casca de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck sobre *Aspergillus niger* promoveu a inibição total do crescimento micelial do fungo, na concentração de 3  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , após 7 dias de incubação.

A ação do OE de *Citrus limon* pode estar relacionada com a presença do seu componente majoritário limoneno, pois segundo Sharma e Tripathi (2006b) definiram a necessidade de no mínimo 400  $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$  de limoneno para ocorrer a completa inibição da germinação de esporos de *Penicillium expansum*, porém o resultado da aplicação do OE de *Citrus limon* pode não afetar a inibição de demais patógenos, pois outros estudos demonstraram que muitos microrganismos são resistentes a concentrações acima de 2% de limoneno, inclusive fungos e leveduras (BICAS; PASTORE, 2007).

Tao *et al.*, (2014) verificaram o efeito antimicrobiano do óleo essencial de *Citrus reticulata* sobre o crescimento micelial de *Penicillium italicum* e *Penicillium digitatum*, com inibição total de crescimento 100% nas maiores doses de óleo essencial (2.500  $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$  e 40.000  $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectivamente). Van Hung, Chi e Phi (2013) testaram uma série de óleos essenciais de diferentes espécies cítricas (*Citrus sinensis*, *C. reticulata*, *C. aurantifolia* e *C. grandis*) e observaram uma inibição que variou de 35 a 53% sobre o crescimento de *Penicillium expansum*.

Nas concentrações de 0,05% e 0,25% para as espécies cítricas testadas *C. limon* e *C. vulgaris* não houve resultados expressivos na inibição do crescimento micelial para os dois patógenos avaliados. Chutia *et al.* (2009) obtiveram resultados diferentes do presente trabalho em que já na concentração de 0,1% do óleo essencial de *Citrus reticulata*, verificaram expressiva inibição do crescimento micelial de 84%; 80%; 93,25%; 42%; e 54% para os diversos patógenos *Alternaria alternata*, *Rhizoctonia solani*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum* e *Helminthosporium oryzae*, respectivamente. Os mesmos autores, observaram inibição do total do crescimento micelial para os patógenos *A. alternata*, *R. solani* e *C. lunata* na concentração de 0,2% do óleo essencial de *C. reticulata*. Os autores também concluíram que, o ensaio da atividade volátil do óleo essencial de *C. reticulata* foi mais eficiente do que o ensaio de crescimento micelial, em inibir completamente o crescimento do patógeno *F. oxysporum*, cepa mais resistente entre os fungos testados, na concentração de 0,2% do óleo essencial de *C. reticulata*.

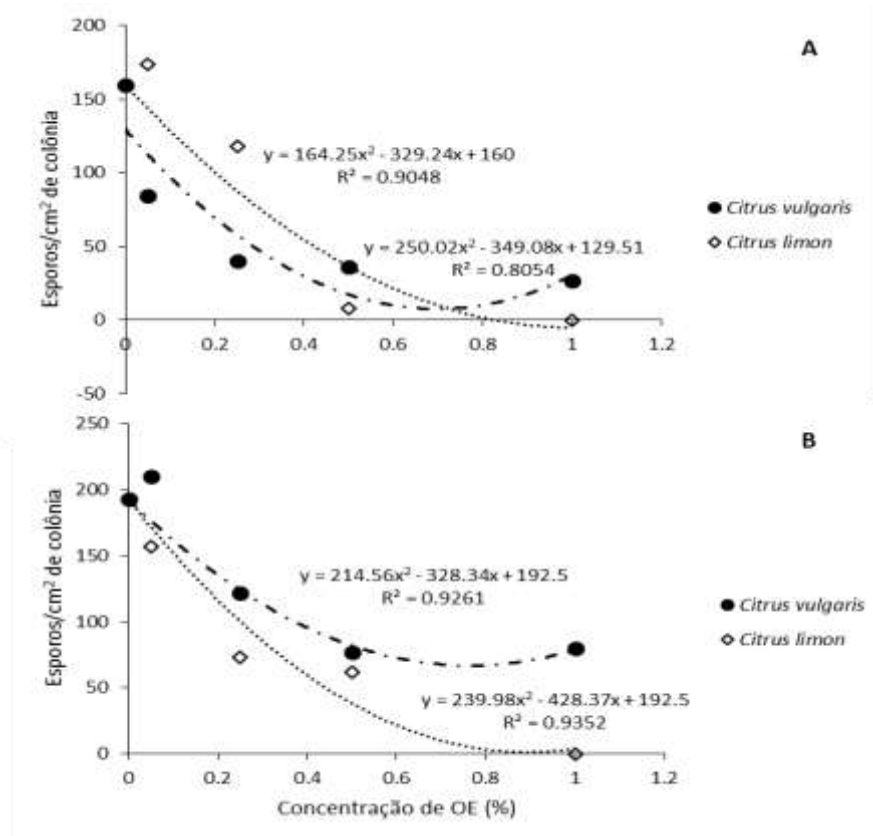
Gomes *et al.* (2011) avaliaram a atividade fungitóxica “in vitro” do óleo essencial de cascas de *Citrus sinensis* (laranja pêra) na concentração de 2000  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , observando efeito



inibitório sob o crescimento micelial dos fitopatógenos *Fusarium oxysporum* e *Alternaria alternata* de 60% e 51%, respectivamente.

O número de esporos/cm<sup>2</sup> de colônia foi avaliado após o crescimento micelial, observou-se que com o aumento da concentração do OE das duas espécies de citros, houve diminuição no número de esporos nas placas (Figura 3). Sendo que *C. limon* na concentração de 1% inibiu totalmente a formação de esporos para os dois patógenos. Quando utilizado OE de *C. vulgaris* o ponto de mínima no gráfico foi na concentração de OE 0,70% (7,66 esporos/cm<sup>2</sup> de colônia) para o fungo *C. gloeosporioides* e na concentração de OE 0,76% (66,89 esporos/cm<sup>2</sup> de colônia) para *C. musae*.

**Figura 3** - Número de esporos/cm<sup>2</sup> de colônia de *Colletotrichum gloeosporioides* (A) e *Colletotrichum musae* (B) sob diferentes concentrações (0,0%; 0,05%; 0,25%; 0,5%; 1%) de óleo essencial de *Citrus vulgaris* e *Citrus limon*.



Scariot (2013) avaliou o efeito antifúngico dos óleos essenciais (OE's) de *Mentha arvensis*, *Citrus limon*, *Zingiber officinalis* e *Thymus vulgaris* na dose de 20 µL na inibição total da germinação de esporos dos fungos *Botrytis cinera* e *Rhizopus stolonifer*.

Flaishman e Kolattukudy (1994) relatam que, em alguns fungos patogênicos a germinação de conídios pode ser estimulada pela combinação de certos constituintes do óleo essencial. Isso se deve ao mecanismo desenvolvido por alguns fungos patogênicos que utilizam os metabólitos secundários como um sinal para iniciar a germinação, formação de apressórios e infecção.

No teste *in vivo*, não houve diferença entre os tratamentos quando aplicados preventivamente para OE de *C. limon* quanto para o OE de *C. vulgaris*, mas, quando aplicados de forma curativa o OE de *C. vulgaris* a 0,05 e 0,1%, bem como OE de *C. limon* a 0,1% reduziram o tamanho de lesões da antracnose nos frutos de banana em relação a testemunha (Tabela 1). Para a antracnose do pimentão, não houve diferenças significativas entre os tratamentos, tanto na forma curativa quanto preventiva.

**Tabela 1** - Área de lesão causada pelos fungos *Colletotrichum musae*, em banana e *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimentão, tratados de forma curativa (A) e preventiva (B) com diferentes concentrações de óleo essencial de *Citrus vulgaris* e *Citrus limon*

Tratamento	Área de lesão (cm <sup>2</sup> )	
	<i>C. musae</i>	<i>C. gloeosporioides</i>
A.Testemunha*	1,79 a	1,93 a
A.OE <i>C. vulgaris</i> 0,05%	1,55 b	1,90 a
A.OE <i>C. vulgaris</i> 0,1%	1,55 b	1,66 a
A.OE <i>C. limon</i> 0,05%	1,72 a	1,83 a
A.OE <i>C. limon</i> 0,1%	1,59 b	1,95 a
B.Testemunha	1,58 b	2,04 a
B.OE <i>C. vulgaris</i> 0,05%	1,45 b	1,84 a
B.OE <i>C. vulgaris</i> 0,1%	1,37 b	1,80 a
B.OE <i>C. limon</i> 0,05%	1,51 b	1,86 a
B.OE <i>C. limon</i> 0,1%	1,37 b	1,80 a
CV (%)	8,77	16,46

Médias de quatro repetições com seis frutos de cada cultura por repetição seguidas por letras minúsculas distintas na coluna diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott. \* Nos tratamentos controles foi aplicado água destilada.

Resultado semelhante ao presente trabalho foi evidenciado por Toffano *et al.* (2012), que avaliaram o efeito de diferentes extratos aquosos entre eles do flavedo de *Citrus aurantifolia* cv. tahiti e albedo de *Citrus sinensis* cv. valência no controle pós-colheita do bolor verde e da antracnose em frutos de laranjeira cv. Valência. Os autores observaram que o efeito preventivo e\ou protetor dos extratos utilizados não inibiram o aparecimento dos sintomas das doenças que se iniciaram três dias após a inoculação dos patógenos *Penicillium*

*digitatum*, agente causal do bolor verde e o *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose.

Por outro lado, Toffano *et al.* (2012) observaram baixa inibição no aparecimento de frutos doentes e no número de frutos com esporulação dos patógenos quando os frutos foram submetidos ao efeito curativo, ou seja, inoculados e em seguida tratados.

A ação curativa dos OE's testados sobre os fungos inoculados segundo Kumar *et al.* (2007), pode ser devido a hidrofobicidade dos OE's e de seus constituintes que são capazes de interagir com a camada lipídica das membranas celulares, causando alterações em suas estruturas e as tornando menos seletivas, podendo ocasionar o extravasamento de íons e outros constituintes celulares. Na ação preventiva essa interação não se deu provavelmente em função de volatilidade do OE ter ocorrido no período de 24 horas, período em que os patógenos foram inoculados nos frutos.

Estudos realizados por Caccioni *et al.* (1998), com óleos essenciais de *Citrus sinensis*, *Citrus aurantium*, *Citrus deliciosa*, *Citrus paradisi*, *Citrus limon* e híbridos *Citrange* no controle dos fungos de pós-colheita *Penicillium italicum* e *P. digitatum*, mostraram que existem respostas variáveis entre os óleos dessas espécies, sendo que os de citrange e o de limão, foram os que apresentaram maior eficiência.

Estudo realizado por Scariot (2013), avaliando o efeito volátil de diferentes OE's para controle dos fungos causadores de doenças na pós-colheita de morango, verificaram que a adição do OE de *Citrus limon* na dose de 20 µL, em discos de papel filtro fixado na tampa do recipiente onde estavam acondicionados os pseudofrutos de morango, controlou 100% do fungo *B. cinerea*. Já para o patógeno *R. stolonifer* obtiveram um controle do fungo de 91,7%.

Sharma e Tripathi (2006b) estudando 10 agentes patogênicos pós-colheita observaram que o óleo essencial das cascas de *C. sinensis* apresentou um amplo espectro de ação contra todos os micro-organismos testados, obtendo uma concentração mínima inibitória de 400 a 500 µg.mL<sup>-1</sup>.

A composição e quantidade dos óleos essenciais podem influenciar em relação aos mecanismos de ação sobre os patógenos. Segundo Omidbeygi *et al.* (2007), os constituintes dos óleos essenciais interagem com enzimas e proteínas da membrana dos microrganismos, produzindo um fluxo de prótons para o exterior da célula, ocasionando alterações nessas e, conseqüentemente, a sua morte. Os óleos essenciais estão sendo relatados na literatura possuindo atividade fungicida contra certas doenças pós-colheita de frutas tropicais e

legumes, tendo a vantagem de serem mais seguros para o ambiente do que os produtos sintéticos (MAQBOOL, ALI, ALDERSON, 2010).

Neste contexto, destacamos a importância de pesquisas que avaliam o efeito antifúngico de produtos naturais, tais como os óleos essenciais de espécies cítricas, pois vale ressaltar conforme assinalaram Fisher e Phillips (2008), é que óleos essenciais de espécies de *Citrus* são “Geralmente Reconhecidos Como Seguros” (GRAS, da sigla em inglês) pela Food and Drug Administration (FDA) como aditivos alimentares, o que possibilita seu uso em diversas matrizes alimentares.

### Conclusões

Os óleos essenciais apresentaram atividade inibitória direta sobre *C. musae* e *C. gloeosporioides*, sobretudo nas maiores concentrações.

No teste *in vivo*, houve redução no tamanho das lesões da antracnose em frutos de banana, quando os OE's de *C. vulgaris* e *C. limon* foram aplicados de forma curativa, demonstrando uma ação fungitóxica sobre o patógeno.

Para a antracnose do pimentão, os óleos essenciais não tiveram efeito significativo na redução da severidade da antracnose, tanto na forma curativa quanto preventiva.

Assim, destaca-se a importância da realização de mais estudos mostrando o potencial dos óleos essenciais como uma alternativa promissora para o manejo de doenças pós-colheita em frutos.

### Referências

ASHOK KUMAR, K.; NARAYANI, M.; SUBANTHINI, A.; JAYAKUMAR, M. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of citrus fruit peels – utilization of fruit waste. **International Journal of Engineering Science and Technology - IJEST**, Singapore, v. 3, n. 6, p. 5414-21, jun. 2011.

BICAS, J.L.; PASTORE, G.M. Isolation and screening of d-limoneneresistant microorganisms. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38 p. 563-567, 2007.

CACCIONI, D.R.L.; GUIZZARDI, M.; BIONDI, D.M.; RENDA, A.; RUBERTO, G. Relationship between volatile components of citrus fruit essential oil and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. **International Journal of Food Microbiology**, v.43, p.73-79, 1998.

CHOI, H.; SONG, H. S.; UKEDA, H.; SAWAMURA, M. Radical Scavenging Activities of *Citrus* Essential Oils and Their Components: Detection Using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 9, p. 4156-4161, 2000.

CHUTIA, M.; DEKA BHUYAN, P.; PATHAK, M.G.; SARMA, T.C.; BORUAH, P. Antifungal activity and chemical composition of *Citrus reticulata* Blanco essential oil against phytopathogens from North East India. **LWT. Food Science and Technology**, v. 42, n.3, p.777-780, 2009.

COUTO, E.F.; MENEZES, M. Caracterização fisiomorfológica de isolados de *Colletotrichum musae*. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.4, p.406-412, 2004.

DUDUK, N.; IVANOVIC, M.; DUDUK, B. Morphological, serological and molecular analyses of anthracnose-causing agent on banana fruit. **Pestic Fitomedicina**, v.24, n.4, p.281-286, 2009.

FERREIRA, D.F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.

FINLAY, A.R.; BROWN, A.E. The relative importance of *Colletotrichum musae* as a crown-rot pathogen on Windward Island bananas. **Plant Pathology**, v. 42, p. 67-74, 1993.

FISHER, K.; PHILLIPS, C. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus an answer? **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 19, n. 3, p. 156-164, 2008.

FLAISHMAN, M. A.; KOLATTUKUDY, P. E. Timing of fungal invasion using hosts ripening hormones as a signal. **Proceedings of the National Academy of Science of the United State of America**, v.91, n.14, p.6579-6583, 1994.

FREEMAN, S.; KATAN, T.; SHABI, E. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. **Plant Disease**, v.82, n.6, p. 596-605, 1998.

GARCIA, R. A.; JULIATTI, F. C.; BARBOSA, K. A. G.; CASSEMIRO, T. A. Atividade antifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, p. 48-57, 2012.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos e fungicidas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78p.

GOMES, M. de S.; CARDOSO, M. das G.; ANDRADE J. de; MIRANDA, C. A. S. F. de; MACHADO, S. F.; PASSOS, L. O. **Caracterização química e atividade biológica frente a dois fungos fitopatogênicos**. 34<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. São Paulo: SBQ, 2011.

GOOS, R.D.; TSCHIRSCH, M. Effect of environmental factors on spore germination, spore survival, and growth of *Gloeosporium musarum*. **Mycologia**, v.54, n.4, p.353-367, 1962.

GREENE, G.L.; GOOS, R. D. Fungi associated with crown rot of boxed bananas. **Phytopathology**, v.53, n.3, p.271-275, 1963.

GRIFFEE, P.J.; BURDEN, O. J. Fungi associated with crown rot of boxed bananas in the Windward Islands. **Phytopathologische Zeitschrift**, v.85, n.2, p. 149-158, 1976.

IDRIS, F.M.; IBRAHIM, A. M.; FIKREYESUS, S. Essential Oils to Control *Colletotrichum musae* in vitro and in vivo on Banana Fruits. **American-Eurasian Journal Agriculture & Environmental Science**, v.15, n.3, p.291-302, 2015.

KUMAR, R.; MISHRA, A. K.; DUBEY, N. K.; TRIPATHI, Y. B. Evaluation of *Chenopodium ambrosioides* oil as a potential source of antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity. **International Journal Food Microbiology**, v. 115, n. 2, p. 159–164, 2007.

LATIFFAH, Z.; SHAMSIAH, S.; MAZIAH, Z.; BAHARUDDIN, S. Characterisation of *Colletotrichum* Species Associated with Anthracnose of Banana. **Tropical Life Sciences Research**, v.20, n.2, p.119–125, 2009.

LOPES, C.A.; ÁVILA, A.C. Doenças do Pimentão Diagnose e Controle. Embrapa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Embrapa Hortaliças**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Brasília, 2003.

MAQBOOL, M.; ALI, A.; ALDERSON, P.G. Effect conclude that basil, cinnamon and rosemary essential oils of cinnamon oil on incidence of anthracnose disease could be used as possible bio-fungicides, as an and postharvest quality of bananas during storage alternative to synthetic fungicides, against. **International Journal of Agricultural and Biological**, v.12, p.516–520, 2010.

MARJANLO, A.; MOSTOFI, Y.; SHOEIBI, S.H; FATTAHI, M. Effect of cumin essential oil on postharvest decay and some quality factors of strawberry. **Journal of Medicinal Plants**, v.8, p.25-43, 2009.

OMIDBEYGI, M.; BARZEGAR, M.; HAMIDI, Z.; NAGHDIBADI, H. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid médium and tomato paste. **Food Control**, Guildfor, v. 18, n.12, p.1518-1523, 2007.

PATIL, J. R.; CHIDAMBARA MURTHY, K. N.; JAYAPRAKASHA, G. K.; CHETTI, M. B.; PATIL, B. S. Bioactive Compounds from Mexican Lime (*Citrus aurantifolia*) Juice Induce Apoptosis in Human Pancreatic Cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, p. 10933-10942, 2009.

PEREIRA, M.J.Z.; MASSOLA, JUNIOR, N.S.; SUSSEL, A.A.B.; SALA, F.C.; COSTA, C.P.; BOITEUX, L.S. Reação de acessos de *Capsicum* e de progênies de cruzamentos interespecíficos a isolados de *Colletotrichum acutatum*. **Horticultura Brasileira**, v. 29, p.569-576, 2011.

PRUSKY, D.; PLUMBLEY, R. A. **Quiescent infections of *Colletotrichum* in tropical and subtropical fruits**. In J A Bailey and M J Jeger (eds.) *Colletotrichum: Biology, pathology and control*. Wallingford, UK: CAB International, 1992. p.289–307.

SARKAR, A. K. Anthracnose diseases of some common medicinally important fruit plants. **Journal of Medicinal Plants Studies**, v.4, n.3, p.233-236, 2016.

SCARIOT, G. N. **Óleos essenciais no controle de mofo cinzento e de podridão mole e seus efeitos na qualidade pós-colheita de morango**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, 2013, 43p.

SHARMA, N.; TRIPATHI, A. Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. **Microbiological Research**.v.163, n.3, p.337-344, 2006a.

SHARMA, N.; TRIPATHI, A. Fungitoxicity of the essential oil of *Citrus sinensis* on postharvest pathogens. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**. v. 22, n.6, p. 587-593, 2006b.

TAO, N.; JIA, L.; ZHOU, H. Anti-fungal activity of *Citrus reticulata* Blanco essential oil against *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. **Food Chemistry**, v. 153, s. n., p. 265-271, China, 2014.

THAN, P.P.; JEEWON, R.; HYDE, K.D.; PONGSUPASAMIT, S.; MONGKOLPORN, O; TAYLOR, P.W.J. Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. **Plant Pathology**, v.57, n.3, p.562-572, 2008.

THANGAMANI, P.; KUPPUSAMY, P.; PEERAN, M. F.; KATHIKEYAN, G.; THIRUVENGADAM, R. Morphological and Physiological Characterization of *Colletotrichum musae* the Causal Organism of Banana Anthracnose. **World Journal of Agricultural Sciences**, v.7, n.6, p.743-754, 2011.

TOFFANO, L.; FISCHER, I. H.; BLUMER, S.; PASCHOLATI, S. F. Potencial do flavedo (epicarpo) de *Citrus aurantifolia* cv. *Tahiti* no controle do bolor verde e da antracnose em citros **Summa Phytopathol**, Botucatu, v. 38, n. 1, p. 61-66, 2012.

TOZZE JR., H. J.; MELLO, M. B. A.; MASSOLA JR., N. S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 1, p. 71-79, 2006.

TOZZE JR., H.J. **Caracterização e identificação de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose do pimentão (*Capsicum annuum*) no Brasil**. Piracicaba: ESALQ/USP, 2007. 81p.

VAN HUNG, P.; CHI, P.T.L.; PHI, N.T.L. Comparison of antifungal activities of Vietnamese citrus essential oils. **Journal Natural Product Research**, Abingdon, v. 27, n. 4-5, p. 506-508, 2013.

VIUDA-MARTOS, M.; RUIZ-NAVAJAS, Y.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; PEREZ-ÁLVAREZ. Antibacterial activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. **Journal of Food Safety**, v. 28, s. n., p. 567-576, 2008.

WIJESUNDERA, R. L. C. Variation in *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from banana. **Journal of National Science Council Sri Lanka**, v.22, p.145-150, 1994.

YOON, J.B.; PARK, H.G. Screening method for resistance to pepper fruit anthracnose: pathogen sporulation, inoculation methods related to inoculum concentrations and post-inoculation environment. **Journal of the Korean Society for Horticultural Science**, v.24, n.4, p.389-393, 2001.