



**SUBSTÂNCIA ISOLADA DE *Conyza canadensis* COMBINADA COM A IRRADIAÇÃO
UVC NO CONTROLE DE BOLOR VERDE DA LARANJA**

Caroline S. Mendes de **Souza**¹; Daniel **Terao**²; Érica Tiemi **Konda**³; Daniela Rodrigues da **Silva**⁴; Sonia Claudia Nascimento **Queiroz**⁵

Nº 17415

RESUMO – O Brasil é o maior produtor de laranjas respondendo por 85% do mercado mundial de suco de laranja. Doenças em pós-colheita reduzem a quantidade e a qualidade de frutos cítricos comercializáveis e podem provocar grandes perdas, sendo a principal delas o bolor verde causada pelo fungo *Penicillium digitatum*. O controle desta doença é feito pela aplicação de fungicidas sintéticos nos tratamentos pós-colheita, no entanto, eles representam perigo à saúde humana e contaminam o meio ambiente. Existe, portanto, uma demanda por métodos alternativos de controle, dentre eles tem se destacado os biopesticidas à base de compostos naturais de plantas e os tratamentos físicos usando a irradiação com luz ultravioleta C (UVC), por serem tecnologias limpas e que não deixam resíduos tóxicos. O presente trabalho teve como objetivo estudar a eficiência da aplicação de substância isolada de *Conyza canadensis* combinada à irradiação UVC no controle de bolor verde em laranja Pera. No primeiro ensaio foram avaliadas três doses (10; 50 e 100 µg mL⁻¹) da substância (4Z)-lachnophyllum lactona (LACH) extraída de *C. canadensis* pela aspersão de dois jatos de spray (1mL) da suspensão da substância no local da inoculação. No segundo ensaio utilizou-se a combinação da substância LACH, nas mesmas doses do ensaio anterior, com a irradiação (UVC) na dose de 2,0 kJ m⁻². Os ensaios comprovaram a eficiência da substância (LACH) no controle do bolor verde em laranja pera, sendo que a eficiência aumentou em função do aumento da dose. A combinação com a irradiação de luz UVC, após a aplicação da substância, apresentou um efeito sinérgico, melhorando significativamente o controle da doença.

Palavras-chaves: Biopesticida, *Penicillium digitatum*, doença pós-colheita, luz UV-C.

¹ Autora, Bolsista Embrapa: Graduação Engenharia Alimentos, FAJ, Jaguariúna-SP; carolinemendes-@outlook.com

² Colaborador: Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente

³ Colaboradora Bolsista Embrapa: Graduação em Engenharia Alimentos, FAJ, Jaguariúna-SP.

³ Colaboradora Bolsista CNPq: Graduação em Engenharia Alimentos, FAJ, Jaguariúna-SP.

⁴ Colaboradora Bolsista Embrapa: Graduação em Química, ESAMC, Campinas-SP.

⁵ Orientadora: Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP, Jaguariúna-SP; sonia.queiroz@embrapa.br.



ABSTRACT - Brazil is the leader in production of oranges accounting for 85% of the orange juice world market. Postharvest diseases reduce the quantity and quality of marketable citrus fruits and cause great losses, and the main postharvest disease is the green mold caused by *Penicillium digitatum*. The control of this disease has been made by the application of synthetic fungicides on the postharvest treatments; however, they pose a danger to human health and contaminate the environment. Therefore, there is a demand for alternative control methods, and among them, biopesticides based on natural plant compounds and physical treatments using ultraviolet C irradiation (UVC), since they are clean technologies and do not leave toxic residues. The present work had the objective of studying the efficiency of the application of substance isolated from *Conyza canadensis* combined with UVC irradiation on the control of green mold in orange Pera. On the first trial three doses (10, 50 and 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) of the substance (4Z)-lachnophyllum lactone (LACH) extracted from *C. canadensis* were evaluated by spraying two spray jets (1mL) of the suspension of the substance at the inoculation site. In the second test were combined of LACH substance at the same doses of the previous test with the UVC irradiation at the dose of 2.0 kJ m^{-2} . The tests proved the efficiency of the substance (LACH) in the control of green mold in orange, and the efficiency increased according to the dose increase. The combination with UVC light irradiation, after application of the substance, showed a synergistic effect, significantly improving the disease control.

Keywords: Biopesticide, *Penicillium digitatum*, postharvest disease, UV-C light.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial e exportador de suco de laranja, exportando 98% de sua produção, o que representa 85% do mercado mundial (Neves, 2016).

Os citros, principalmente laranjas, fazem parte da dieta dos brasileiros. Além de serem importante fonte de vitaminas e fibras. As frutas e os sucos cítricos contêm metabólitos secundários antioxidantes, como o ácido ascórbico, compostos fenólicos, flavonoides e limonóides que são importantes para a nutrição humana (JAYAPRAKASHA; PATIL, 2007).

Doenças em pós-colheita reduzem a quantidade e a qualidade de frutos cítricos comercializáveis e podem provocar grandes perdas (FORNER et al., 2013).



11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017
02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

O bolor-verde é a principal doença pós-colheita dos citros e está disseminada em todos os países produtores e sua ocorrência depende muito das condições climáticas e do manuseio dos frutos, desde o pomar até a chegada ao consumidor, podendo ocorrer tanto no armazenamento como no transporte do produto (LARANJEIRA et al., 2005).

O bolor verde é causado pelo fungo *Penicillium digitatum*, caracterizado por uma podridão mole dos frutos com posterior cobertura da lesão pelo micélio branco e por grande número de esporos verdes do fungo. Os esporos maduros soltam-se com grande facilidade a qualquer movimento ou impacto sobre os frutos afetados. Assim, são facilmente dispersos pelo manuseio, pela agitação ou exposição dos frutos a correntes de ar. A infecção é dependente de ferimentos, podendo ocorrer em qualquer etapa a partir da maturação dos frutos (LARANJEIRA et al., 2005).

A forma mais comumente usada para o controle desta doença é a aplicação de fungicidas sintéticos nos tratamentos pós-colheita. No entanto, esforços vêm sendo realizados no sentido de reduzir o seu uso, tanto para atender à crescente demanda do mercado consumidor por produtos mais “verdes”, quanto para cumprir com as normas cada vez mais rigorosas dos países importadores. Assim, existe demanda por métodos alternativos de controle para substituir o uso fungicidas sintéticos na pós-colheita de citros.

Dentre as opções disponíveis, destacam-se os biopesticidas desenvolvidos a partir de compostos bioativos obtidos em plantas como uma promissora alternativa (COPPING; MENN, 2000). Os compostos bioativos são, normalmente, metabólitos secundários, ou seja, compostos que não possuem função reconhecida na manutenção dos processos vitais da planta (crescimento, reprodução, etc.), mas são utilizados por ela como estratégia de defesa natural contra diversas pragas (MIRESMALLI; ISMAN, 2014; ZHONG, 2011).

A *Conyza canadensis* (L.) Cronquist pertencente à família Asteraceae (ou Compositae) é originária da América do Norte, e está amplamente distribuída pelo mundo, sendo encontrada no Brasil principalmente nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. Dissemina-se por intermédio de sementes de tamanho muito pequeno, que são produzidas em grandes quantidades e carregadas com facilidade pelo vento. É uma planta daninha, conhecida popularmente como buva, infestando pomares, vinhas, culturas de campo, tais como soja, milho e algodão, e na entressafra ocorre em áreas de pouca cobertura vegetal ou pouca palhada (LAZAROTO; FLECK; VIDAL, 2008).

Ela é citada na literatura como planta alelopática, produtora de substâncias bioativas com capacidade fungitóxica. Queiroz et al. (2012) realizaram o fracionamento sistemático guiado por bioensaios nos extratos de *C. canadensis* identificando três substâncias com atividade antifúngica, dentre elas (4Z)-lachnophyllum lactona (LACH).



Os meios físicos de controle como a irradiação de luz ultravioleta C (UV-C), também, apresentam-se como potenciais alternativas ao uso de fungicidas no controle de doenças pós-colheita de frutas. Tem sido demonstrado, em diversos trabalhos, que eles podem atuar de maneira direta sobre o fitopatógeno, como indiretamente, sobre a fisiologia da fruta, retardando os processos bioquímicos de amadurecimento e senescência, reduzindo a taxa respiratória, produção de etileno e transpiração, induzindo os mecanismos de resistência da fruta ao ataque de microrganismos (TERAO, 2015).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo, avaliar a atividade da substância LACH isolado de *C. canadensis*, aplicada isoladamente ou em combinação com a irradiação UV-C na dose de 2 kJ m⁻², no controle de bolor verde em laranja.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A fruta

Laranjas Pera, provenientes de pomar comercial, em estágio de maturação adequado para consumo, selecionadas e padronizadas, foram lavadas com sabão neutro e sanitizadas com hipoclorito de sódio (200 µL L⁻¹ de cloro) por 10 min e enxaguadas em água corrente. Após a secagem sobre papel toalha, em temperatura ambiente (25 ± 2 °C) foram inoculadas.

O patógeno e a inoculação

Isolado de *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc. (CMMA-1190) foi obtido da Coleção de Microrganismos de Importância Agrícola e Ambiental da Embrapa Meio ambiente em Jaguariúna, SP.

A inoculação das laranjas foi realizada com a deposição de 5 µL da suspensão de esporos de *P. digitatum* na concentração de 10⁵ esporos mL⁻¹, sobre um ferimento previamente realizado na região equatorial das frutas, com auxílio de prego esterilizado, com 3mm de diâmetro e 2mm de profundidade. Após a inoculação os frutos permaneceram em câmara úmida durante seis horas.

A substância

Utilizou-se a substância LACH extraído de *C. canadensis*, avaliando-se as diluições nas concentrações de 10, 50 e 100 µg mL⁻¹.

A irradiação UV-C



A aplicação da luz UV-C foi realizada em um irradiador com uma lâmpada germicida Osram Puritec HNS 36-watt, com concentração de emissão de luz na faixa de 253,7 nm, a uma distância de 46 cm, emitindo uma fluência média de $370 \mu\text{w cm}^{-2}$, aplicando-se uma dose de $2,0 \text{ kJ m}^{-2}$. Durante a irradiação procedeu-se a rotação dos frutos para homogeneizar a aplicação e após o procedimento os frutos foram armazenados no escuro.

Montagem dos ensaios e avaliação

O tratamento das frutas foi realizado pela aspersão de dois jatos de spray (1mL) no local da inoculação, para cada dose avaliada da substância LACH. Após o tratamento as frutas foram armazenadas em ambiente climatizado a $20 \pm 2^\circ \text{C}$, avaliando-se diariamente a incidência da doença, pela contagem de frutas que apresentavam sintoma no local inoculado.

No primeiro ensaio avaliaram-se os seguintes tratamentos:

- T1: Testemunha (aspersão de água estéril)
- T2: Fungicida Imazalil (na dose comercial)
- T3: Substância – dose $10 \mu\text{g mL}^{-1}$
- T4: Substância – dose $50 \mu\text{g mL}^{-1}$
- T5: Substância – dose $100 \mu\text{g mL}^{-1}$

No segundo ensaio, avaliou-se a combinação da substância LACH com a irradiação de luz ultravioleta C (UVC) na dose de $2,0 \text{ kJ m}^{-2}$. Os tratamentos avaliados foram:

- T1: Testemunha (aspersão de água estéril)
- T2: UVC
- T3: Fungicida Imazalil (na dose comercial)
- T4: Imazalil + UVC
- T5: Substância – dose $10 \mu\text{g mL}^{-1}$
- T6: Substância – dose $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ + UVC
- T7: Substância – dose $50 \mu\text{g mL}^{-1}$
- T8: Substância – dose $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ + UVC
- T9: Substância – dose $100 \mu\text{g mL}^{-1}$
- T10: Substância – dose $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ + UVC

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com 20 e 25 repetições, respectivamente, consideraram-se uma fruta como unidade experimental.



3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se no primeiro ensaio que a substância LACH controlou eficientemente o bolor verde em laranja Pera, apresentando efeito curativo mais efetivo em função do aumento da dosagem, sendo que a partir de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ o tratamento diferiu significativamente da testemunha e a dose de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ não diferiu do tratamento com o fungicida Imazalil (Figura 1).

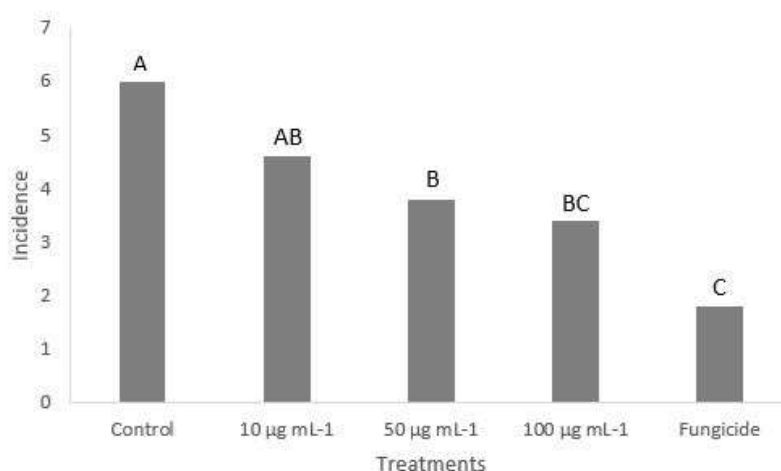


Figura 1 – Incidência de bolor verde em laranja Pera tratada com substância isolada de *Conyza canadensis* nas doses de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$, $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, comparando-se com o fungicida Imazalil ($480 \text{ g } 100 \text{ L}^{-1}$).

Após 10 dias de armazenamento verificou-se os seguintes níveis crescentes de controle da doença, de 28% na dose de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ até 52% na dose de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabela 1).

Tabela 1 – Eficiência de controle de bolor verde com a aplicação de substância isolada de *Conyza canadensis* nas doses de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$, $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $100 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Dosagem da substância LACH	Percentual de controle
$10 \mu\text{g mL}^{-1}$	28%
$50 \mu\text{g mL}^{-1}$	44%
$100 \mu\text{g mL}^{-1}$	52%

No segundo experimento, verificou-se que todos os tratamentos avaliados controlaram eficientemente o bolor verde em laranja pera, diferindo significativamente da testemunha. A eficiência de controle aumentou em função do aumento da dose da substância e a



irradiação UVC, aplicada após a pulverização com a substância, proporcionou um efeito sinérgico, aumentado significativamente o nível de controle.

O tratamento com a substância na dose de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ combinada com a luz UVC apresentou a mesma eficiência que o fungicida Imazalil, aplicado isoladamente ou combinado com a irradiação UVC (Figura 2).

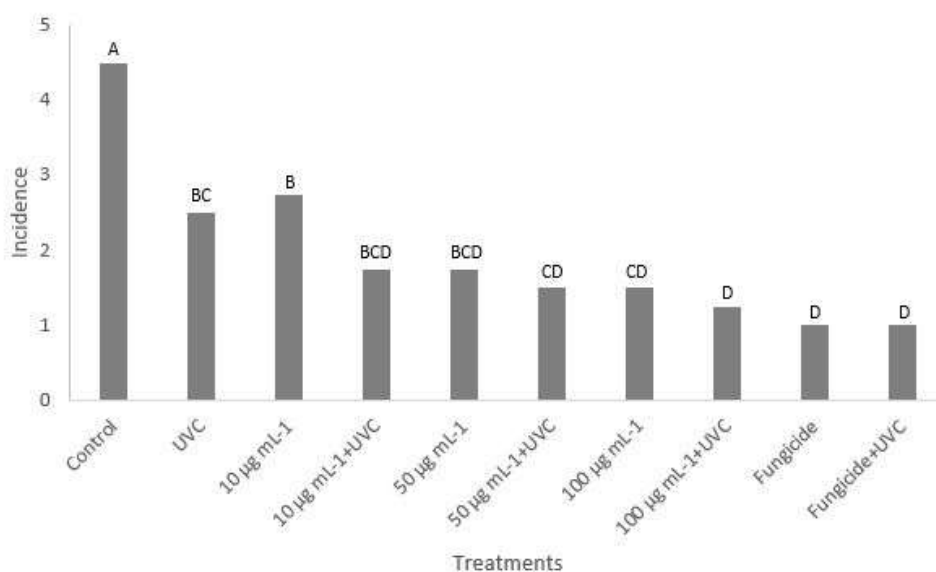


Figura 2 - Incidência de bolor verde em laranja pera tratada com substância isolada de *Conyza canadensis* nas doses de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$, $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, comparando-se com o fungicida Imazalil ($480 \text{ g } 100 \text{ L}^{-1}$), combinado com a irradiação ultravioleta C (UVC) na dose de 2 kJ m^{-2} .

No segundo ensaio observou-se após 15 dias de armazenamento os seguintes níveis de controle da doença (Tabela 2):

Tabela 2 - Eficiência de controle de bolor verde com a aplicação de substância LACH isolada de *Conyza canadensis* nas doses de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$, $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, combinado com a irradiação ultravioleta C (UVC) na dose de 2 kJ m^{-2} .

Dosagem da substância LACH	Dosagem de Irradiação UVC	Percentual de controle
$10 \mu\text{g mL}^{-1}$	0	28%
$10 \mu\text{g mL}^{-1}$	2 kJ m^{-2}	44%
$50 \mu\text{g mL}^{-1}$	0	44%
$50 \mu\text{g mL}^{-1}$	2 kJ m^{-2}	48%
$100 \mu\text{g mL}^{-1}$	0	44%
$100 \mu\text{g mL}^{-1}$	2 kJ m^{-2}	52%



Estes resultados corroboram com Porto et al. (2016), que observaram, em bioensaio realizado em trabalho anterior, a atividade fungitóxica da substância LACH no controle de *P. digitatum* da laranja.

Outras substâncias naturais obtidas de plantas, são citadas na Literatura por Yahyazadeh et al. (2008) com potencial de controle do bolor verde, como óleo de tomilho (*Thymus vulgaris*) e cravo (*Eugenia caryophyllata*). Perez-Afonso et al. (2012) observaram também a efetividade dos óleos de orégano, capim limão, canela e de palma rosa na inibição de *P. digitatum*.

Os resultados obtidos no presente trabalho apresentam como alternativa promissora uma substância natural obtida de *C. canadensis*, ainda pouco conhecida e estudada. Além de demonstrar a efetividade da combinação de métodos alternativos no incremento na eficiência de controle de doenças pós-colheita.

4. CONCLUSÃO

Os ensaios *in vivo* comprovaram a eficiência da substância LACH, obtida de *C. canadensis*, no controle do bolor verde em laranja Pera, causado pelo fungo *P. digitatum*, sendo que a eficiência aumentou em função do aumento da dose aplicada. A combinação com a irradiação de luz UVC, após a aplicação da substância apresentou efeito sinérgico, melhorando significativamente o controle da doença, apresentando-se como uma potencial tecnologia para o tratamento pós-colheita de laranja, livre de resíduos químicos.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pelo apoio financeiro e à Embrapa pelo apoio logístico ao projeto.

6. REFERÊNCIAS

COPPING, L. G.; MENN, J. J. Biopesticides : a review of their action , applications and efficacy. **Pest. Manag. Sci.**, v. 56, p. 651–676, 2000.

CSUPOR-LÖFFLER, B. **Activity-guided investigation of antiproliferative secondary metabolites of Asteraceae species**. [s.l.] University of Szeged, 2012.

DROBY, S. et al. Twenty years of postharvest biocontrol research: Is it time for a new paradigm? **Postharvest Biol. Tec.**, v. 52, p. 137–145, maio 2009.



11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017
02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-135-6

DUKE, S. O. et al. Chemicals from nature for weed management. **Weed Science**, v. 50, p. 138–151, 2002.

FORNER, C.; BETTIOL, W.; NASCIMENTO, L.M.; TERAQ, D. Controle em pós-colheita de *Penicillium digitatum* em laranja-pera com microrganismos e tratamento térmico. *Revista Brasileira de Fruticultura* v. 35 no. 1 Jaboticabal mar. 2013.

GAO, X. et al. Research on allelopathic effects of *Conyza canadensis* - an invasive species. **Acta Prataculturae Sinica**, v. 18, n. 5, p. 46–51, 2009.

JAYAPRAKASHA, G. K.; PATIL, B. S. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 410-418, 2007.

LARANJEIRA, F.F.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; AGUILAR-VILDOSO, C. I.; COLETTA FILHO, H. D. Citros, cap. 18. Fungos procariotos e doenças abióticas. Cordeirópolis, SP: FAPESP, 2004.

LAZAROTO, C. A.; FLECK, N. G.; VIDAL, R. A. Biologia e ecofisiologia de buva (*Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis*). *Ciência Rural*, v. 38, n. 3, p. 852–860, 2008.

MIRESMAILLI, S.; ISMAN, M. B. Botanical insecticides inspired by plant-herbivore chemical interactions. *Trends in Plant Science*, v. 19, n. 1, p. 29–35, jan. 2014.

NEVES, M. F.; LOPES, F. F. **Estratégias para a laranja no Brasil**. São Paulo: Ed Atlas, 2005. 225 p.

NEVES, M.F. (Coord). [S.l.]: Markestra. O retrato da citricultura brasileira. http://citrusbr.com/download/Retrato_Citricultura_Brasileira_MarcosFava.pdf. (accessed 16.04.2016).

PÉREZ-ALFONSO, C.O.; MARTÍNEZ-ROMERO, D.; ZAPATA, P.J.; SERRANO, M.; VALERO, D.; CASTILHO, S. The effects of essential oils carvacrol and thymol on growth of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* involved in lemon decay. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v.158, p.101-106, 2012.

QUEIROZ, S. C. N. et al. Bioassay-Directed Isolation and Identification of Phytotoxic and Fungitoxic Acetylenes from *Conyza canadensis*. *J. Agric. Food Chem.*, v. 60, p. 5893–5898, 2012.

YAHYAZADEH, M.; OMIDBAIGI, R.; TAHERI, H. Effect of some essential oils on mycelial growth of *Penicillium digitatum* Sacc. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v.24, p.1445-1450, 2008.