

## O ÁCIDO SALICÍLICO EM PRÉ-COLHEITA INFLUÊNCIA O CONTROLE PÓS-COLHEITA DE *Penicillium digitatum* DE LARANJA 'SALUSTIANA'?

Márcia Denise Rossarolla<sup>1</sup>; Tiago Camponogara Tomazetti<sup>1</sup>; Andrio Spiller Copatti<sup>1</sup>; Aline de Melo Monteiro<sup>1</sup>; Pércio Sanchez Righi<sup>2</sup>; Lília Sichmann Heiffig-del Aguila<sup>3</sup>; Juan Saavedra del Aguila<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Estudante do Curso de Agronomia, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA)–Campus Itaqui, Rua Luiz Joaquim de Sá Brito s/nº, Bairro Promorar, Cep 97650-000, Itaqui, RS, Brasil; <sup>2</sup>Eng. Agr., Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia–Fruticultura de Clima Temperado, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL)–Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), Capão do Leão, RS, Brasil; <sup>3</sup>Eng. Agr. Dr., Pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Capão do Leão, RS, Brasil; <sup>4</sup>Eng. Agr. Dr., Professor Adjunto da UNIPAMPA – Campus Itaqui, RS, Brasil; E-mail: mdrossarolla@gmail.com

*Palavras-chaves:* *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, metabolismo secundário, fenol.

### RESUMO

O objetivo com este trabalho foi avaliar as características pós-colheita de laranjas 'Salustiana' tratadas com ácido salicílico (AS) em pré-colheita e sua influência no controle de *Penicillium digitatum*. Dividiu-se um pomar de laranjeira 'Salustiana', aplicando sobre 10 plantas água destilada e sobre outras 10 plantas 2,5 mM de ácido salicílico (AS). Na sequência, especificamente, 3 dias após as aplicações dos tratamentos iniciais realizou-se a colheita dos frutos que receberam tratamentos pós-colheita, sendo identificados como: T1: água destilada em pré e pós-colheita; T2: água destilada em pré-colheita e *P. digitatum* na pós-colheita; T3: 2,5 mM de AS em pré-colheita e água destilada em pós-colheita; T4: 2,5 mM de AS em pré-colheita e *P. digitatum* na pós-colheita. O *P. digitatum* foi aplicado em pós-colheita na concentração de  $10^4$  esporos mL<sup>-1</sup>. O armazenamento dos frutos foi realizado por 7 e 14 dias a 10°C mais 3 dias em temperatura ambiente ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ). As avaliações de índice de coloração do pericarpo (ICP), perda de massa fresca (PMF), sólidos solúveis totais (SS), rendimento de suco (%), acidez total titulável (AT), "ratio" - relação SS/AT e severidade da doença foram realizadas logo após a colheita e após cada período de armazenamento. Por ocasião da avaliação realizada na colheita, verificou-se nos frutos tratados com AS maiores SS e "ratio" e menor AT; já para os frutos armazenados por 14 dias (10°C) e 14 dias (10°C) + 3 dias ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) foram verificados maior AT para o tratamento T1 (sem AS na pré-colheita) e maiores PMF e ICP para o tratamento T2 (sem AS na pré-colheita e *P. digitatum* na pós-colheita). Conclui-se que a aplicação de ácido salicílico em pré-colheita confere aumento dos sólidos solúveis nos frutos e maior tolerância ao ataque de *Penicillium digitatum* na pós-colheita.

### IS THE SALICYLIC ACID IN PRE-HARVEST INFLUENCE POST-HARVEST CONTROL *Penicillium digitatum* 'SALUSTIANA' ORANGE?

*Key words:* *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, secondary metabolism, phenol.

### ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the characteristics of post-harvest oranges 'Salustiana' treated with salicylic acid (SA) in pre-harvest and its influence on the control of *Penicillium digitatum*. Split a orange 'Salustiana', applying about 10 plants distilled water and about 10 other plants 2.5 mM salicylic acid (SA). Following Specifically, three days after spraying in early realized the fruit harvest that received post-harvest treatments, being identified as: T1: distilled water in pre and post-harvest; T2: distilled water in preharvest and *P. digitatum* in post-harvest; T3: 2.5 mM AS in pre-harvest and distilled water in postharvest; T4: 2.5 mM AS in pre-harvest and *P. digitatum* in postharvest. The *P. digitatum* was applied in post-harvest concentration of  $10^4$  spores mL<sup>-1</sup>. The storage of fruits was carried out for 7 and 14 days at 10°C plus 3 days at room temperature ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Evaluations of the pericarp color index (PCI), weight loss (PMF), soluble solids (SS), juice yield (%), total acidity (TA), "ratio" - SS / TA ratio and disease severity were performed immediately after harvest and after

each storage period. In the evaluation performed at harvest, was found in fruits treated with AS largest SS and "ratio" and smaller AT, while for fruits stored for 14 days (10°C) and 14 days (10°C) + 3 days (22 ± 2°C) were checked for higher aT T1 (without AS in pre-harvest) and larger PMF and ICP for the treatment T2 (without AS in pre-harvest and *P. digitatum* in post-harvest). It is concluded that the application of salicylic acid on pre-harvest confers increased soluble solids in fruit and increased tolerance to attack the *Penicillium digitatum* after harvest.

## INTRODUÇÃO

Desde os anos 80, o Brasil tornou-se o maior e mais competitivo produtor no mercado mundial de laranja (Costa et al., 2012), sendo atualmente responsável pela produção de 19,4 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2012). Porém as perdas econômicas ocasionadas por doenças de pós-colheita representam um dos principais problemas da citricultura mundial (Toffano et al., 2012) e um sério obstáculo ao setor, uma vez que comprometem a qualidade e a quantidade dos frutos colhidos (Fischer et al., 2007).

Entre os principais causadores de danos na pós colheita de citros, destacam-se as doenças (Fischer et al., 2008), sendo o *Penicillium digitatum*, causador do bolor verde, o principal responsável por estas perdas (Fischer et al., 2007). Este fungo provoca uma podridão mole no fruto, recobrando-o com micélio branco e grande número de esporos, os quais lhe dão uma coloração verde (Fischer et al., 2008).

As técnicas de manuseio e conservação pós-colheita de frutos vêm recebendo grande atenção nos últimos anos (Fischer et al., 2011). Porém para que tenhamos uma menor ocorrência de perdas na pós-colheita, principalmente devido ao ataque de patógenos, é necessário compreender os processos fisiológicos que ocorrem no fruto e a síntese de compostos de defesa.

Na busca de técnicas para diminuição de tais perdas, a utilização de reguladores do metabolismo secundário surge como uma alternativa para esta finalidade como o ácido salicílico (AS) que

pertence a um grupo de compostos fenólicos que são largamente distribuídos nas plantas, sendo mais recentemente

considerado como uma substância hormonal (Huang et al., 2008).

O AS quando aplicado de forma exógena induz a produção do metil-salicilato pelos vegetais, que é precursor da síntese do próprio ácido salicílico, sendo um potente sinalizador da resistência induzida (Resende et al., 2003).

Além de induzir sua própria síntese o AS também está envolvido na formação de proteínas - RP e na proteção das plantas contra o ataque de patógenos (Spletzer e Enyedi, 1999). Em experimento com *Phaseolus vulgaris*, Campos et al. (2004) constataram que o AS induz a resistência das plantas à antracnose produzindo respostas semelhantes a indução de resistência pelo próprio fungo.

Quando aplicado na pré-colheita, o AS pode manter a atividade antioxidante em frutos de laranja, sendo observado por Huang et al. (2008) pelo aumento de compostos antioxidantes em frutos tratados por esta substância.

Com base neste contexto, objetivou-se estudar a influência da aplicação do ácido salicílico na pré-colheita de laranjas 'Salustiana' e sua eficiência no controle de *Penicillium digitatum* assim como sua influência nas características físico-químicas dos frutos na pós-colheita.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em duas fases, a primeira em pomar comercial de citros com 6 anos de idade em Maçambará/RS (29° 08' S e 56° 11' W) com laranjeira 'Salustiana' enxertada sobre limoeiro 'Trifoliata'.

Nesta primeira etapa foram selecionadas aleatoriamente 10 plantas por tratamento, nas quais foram aplicados 0 e 2,5 mM de ácido salicílico. Para a aplicação, o AS foi

previamente solubilizado em 20 mL de álcool etílico, para o T1 (0 mM de AS) utilizou-se apenas o álcool, o volume de calda utilizado foi de 2 L por planta.

Três dias após a aplicação em campo realizou-se a colheita dos frutos e a análise das características físico-químicas, no Laboratório de Fisiologia e Pós-colheita de Vegetais da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) – Campus Itaqui, pelo Grupo de Estudo, Pesquisa e Extensão em Fruticultura (GEPEF), sendo mensuradas as características de coloração do pericarpo, rendimento de suco, sólidos solúveis (SS), acidez total titulável (AT) e “ratio” - relação SS/AT.

A coloração foi obtida com um colorímetro Minolta (modelo CR 400), através de 4 medidas equatoriais tomadas do pericarpo dos frutos, gerando os parâmetros L\*, a\* e b\*, que foram utilizadas para calcular o índice de coloração do pericarpo (ICP) conforme metodologia descrita por Petry et al. (2012), onde:  $ICP = (a^* \times 1000) / (L^* \times b^*)$ . Este índice varia de -20 a 20 e indica o amadurecimento do fruto.

O rendimento de suco (RS) foi obtido pela relação da massa de suco obtido (MS) pela massa total dos frutos (MF), através da equação:  $RS (\%) = (MS/MF) \times 100$ . O SS foi mensurado com o auxílio de um refratômetro digital e expresso em °Brix.

A AT foi obtida através da titulação de uma alíquota de 10 g de suco diluído em 90 mL de água destilada, utilizando hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N elevando o pH a 8,1, tendo o valor expresso em g de ácido cítrico 100 g-1 de suco. O “ratio” - relação SS/AT foi obtido a partir das determinações anteriormente realizadas para SS e AT.

Os tratamentos pós-colheita corresponderam a: T1: água destilada em pré e pós-colheita; T2: água destilada em pré-colheita e *P. digitatum* na pós-colheita; T3: 2,5 mM de AS em pré-colheita e água destilada em pós-colheita; T4: 2,5 mM de AS em pré-colheita e *P. digitatum* na pós-colheita. Os

tratamentos constituíram-se de 4 repetições de três frutos.

Anteriormente a aplicação pós-colheita dos tratamentos nos frutos, estes foram feridos em uma das faces no pericarpo. O ferimento constituiu-se de um corte cilíndrico vazado com 7 mm de diâmetro e profundidade de aproximadamente 1 mm.

Os esporos de *Penicillium digitatum* foram isolados de frutos de laranja infectados, e após identificados foram diluídos para solução de  $10^4$  esporos.mL<sup>-1</sup> com o auxílio de câmara de Newbauer, sendo aplicado 2 mL de solução de esporos por fruto.

Os frutos foram armazenados em câmara tipo “Biological Oxygen Demand” (B.O.D), em temperatura de 10°C por 7 e 14 dias.

As avaliações pós-colheita foram realizadas em 4 épocas de armazenamento: aos 7 dias de refrigeração a 10°C (dia 7); 7 dias de refrigeração + 3 dias em temperatura ambiente ( $22 \pm 2$  °C) simulando o período de comercialização (dia 7+3); 14 dias de refrigeração a 10°C (dia 14) e 14 dias de refrigeração + 3 dias em temperatura ambiente ( $22 \pm 2$  °C) simulando novamente o período de comercialização (dia 14+3). Foram avaliadas as características físico-químicas da avaliação inicial, acrescida da perda de massa fresca (PMF) e avaliação do sintoma ou sinal da doença.

A PMF foi determinada através da diferença da massa dos frutos entre o início e o fim do armazenamento e expressa em porcentagem da massa inicial dos frutos.

A severidade da ocorrência da doença foi determinada através do número de frutos que apresentaram sintomas visuais de ataque do *P. digitatum* e expresso em porcentagem de frutos infectados (Monteiro et al., 2009).

Os dados foram submetidos ao teste de comparação de médias Tukey ( $\alpha=0,05$ ). Os valores de perda de massa fresca e rendimento de suco foram transformados para arco seno da raiz de x/100, sendo as análises estatísticas executadas através do programa

WinStat versão 2.0 (Machado e Conceição, 2003).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para as variáveis de coloração do pericarpo, a elevação do ICP, ocorreu em todos os tratamentos, porém diferenciando-se somente o T2 (sem AS na pré-colheita e *P. digitatum* na pós-colheita) que apresentou maior mudança de coloração em relação ao T1 (sem AS na pré-colheita), que apresentou a menor média para este índice (Figura 1).

Os valores médios para ICP obtidos foram semelhantes aos verificados por Petry et al. (2012) em laranjas 'Valência' conduzidas sob sistema de cultivo orgânico. Esta evolução na coloração do pericarpo também foi verificada por Duarte et al. (2011), sendo um dos principais critérios utilizados para definir a maturação dos frutos climatéricos e não climatéricos, como em banana (Martineli et al., 2010) ou acerola (Adriano et al., 2011).

Os tratamentos apresentaram perdas de massa fresca constantes (Figura 1), sendo que com o aumento do período de armazenamento a PMF também aumentou, o que também foi verificado por Malgarim et al. (2007).

Apesar do incremento na PMF, nas avaliações realizadas até o 14º dia de armazenamento refrigerado não foram verificadas diferenças, entretanto, 3 dias após, simulando-se o período de comercialização (14+3), os frutos correspondentes ao T2 (sem AS na pré-colheita e *P. digitatum* na pós-colheita) apresentaram maior perda de massa fresca em comparação aos tratamentos sem inoculação do fungo (T1 e T3). Os frutos correspondentes a T4 (com AS na pré-colheita e *P. digitatum* na pós-colheita) não diferiram dos demais tratamentos.

Este resultado demonstra que o AS reduziu a perda de massa fresca mesmo em frutos inoculados com o fungo, conferindo tolerância dos frutos a este patógeno. O AS pode ter influenciado indiretamente na permeabilidade

altamente seletiva da membrana plasmática do pericarpo dos frutos, conseqüentemente obtendo-se uma menor perda de água em forma de vapor para o ambiente.

Para os valores de SS foram verificadas diferenças no dia da colheita (dia 0), quando os frutos em que foram aplicados o ácido salicílico apresentaram maior °Brix, entretanto durante o armazenamento não foram verificadas diferenças para esta variável (Figura 1).

O rendimento do suco diferenciou-se aos 14 dias de armazenamento (Figura 1), quando T3 (com AS na pré-colheita) apresentou o menor rendimento, o mesmo não sendo mais observado após o período de armazenamento 14+3.

As médias de rendimento de suco obtidas foram superiores àquelas encontradas por Grizotto et al. (2012) em citros 'Valência', o que se deve provavelmente a cultivar avaliada.

A variável AT apresentou diferenças na colheita quando se observou maior acidez nos frutos sem tratamento com AS, também se diferindo na avaliação do dia 14+3, quando T3 (com AS na pré-colheita) apresentou menor acidez, diferindo apenas de T1 (sem AS na pré-colheita) (Figura 1).

Foram verificadas diferenças para o "ratio" - relação SS/AT no dia da colheita, quando nos frutos tratados com AS na pré-colheita obtiveram os maiores resultados (Figura 1).

Valores semelhantes de AT e relação SS/AT foram verificados por Petry et al. (2012) em laranjas 'Valência'.

Não foram observados, a olho nu, sintomas de *Penicillium digitatum* em nenhum dos tratamentos, entretanto, para as avaliações dos dias 7 + 3 e 14 + 3, os tratamentos T2 (sem AS na pré-colheita e *P. digitatum* na pós-colheita) e T4 (com AS na pré-colheita e *P. digitatum* na pós-colheita) foram observados maior flacidez dos frutos, sendo esta mais acentuada no T2, o que se deve provavelmente a ação interna do patógeno.

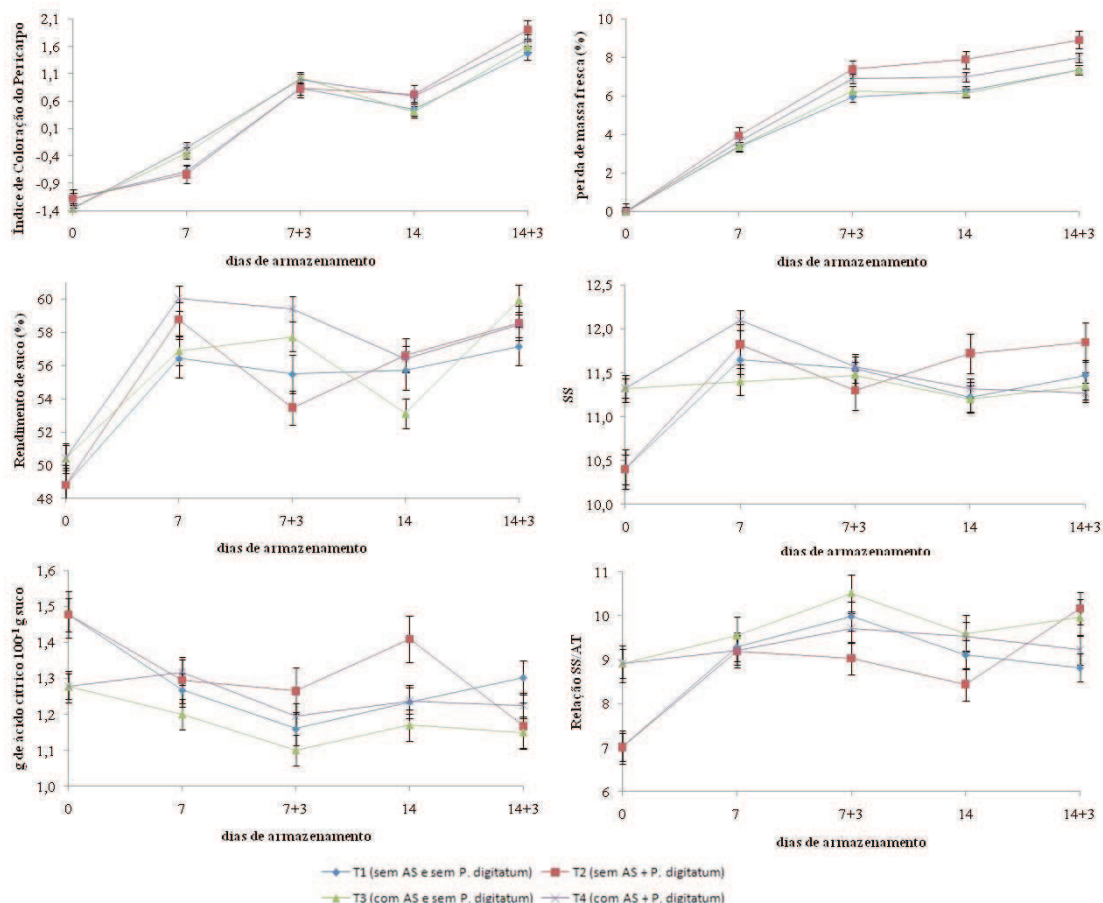


Figura 1. A) Índice de coloração do pericarpo; B) perda de massa fresca; C) rendimento de suco; D) sólidos solúveis; E) acidez titulável e F) "ratio" em laranja 'Salustiana' em quatro períodos de armazenamento. Barras verticais representam o erro padrão da média (n=4). Unipampa - Itaqui, RS.

## CONCLUSÕES

A aplicação de ácido salicílico em pré-colheita de laranja 'Salustiana' confere aumento dos sólidos solúveis nos frutos.

O ácido salicílico quando aplicado em pré-colheita confere maior tolerância dos frutos ao ataque de *Penicillium digitatum*.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fazenda Righi, do município de Maçambará/RS, pela parceria na presente pesquisa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adriano, E.; Leonel, S.; Evangelista, R. M. Qualidade de fruto da aceroleira Cv.

Oliver em dois estádios de maturação. Revista Brasileira de Fruticultura. Jaboticabal, v. E, p. 541-545, 2011.

Campos, Â. D.; Ferreira, A. G.; Hampe, M. M. V.; Silveira, E. P., Osório, V. A.; AugustiN, E. Atividade da peroxidase e polifenoxidase na resistencia do feijão à antracnose. Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília, v. 39, n. 7, p. 637-643, 2004.

Costa, C. K. F.; Maia, S. F.; Sampaio, L. M. B. Exportações brasileiras de suco de laranja e subsídios americanos: uma análise empírica de estratégias comerciais (1992–2006). Revista de Economia e Sociologia



- Rural. Piracicaba, v. 50, n. 1, p. 83-106, 2012.
- Duarte, T. F.; Bron, I. U.; Ribeiro, R. V.; Machado, E. C.; Mazzafera, P.; Shimizu, M. M. Efeito da carga pendente na qualidade de frutos de laranja 'Valencia'. *Revista Brasileira de Fruticultura*. Jaboticabal, v. 33, n. 3, p. 823-829, 2011.
- Fischer, I. H.; Toffano, L.; Lourenço, S. A.; Amorim, L. Caracterização dos danos pós-colheita em citros procedentes de "packinghouse". *Fitopatologia Brasileira*. v. 32, n. 4, p. 304-310, 2007.
- Fischer, I. H.; Lourenço, S. A.; Amorim, L. Doenças pós-colheita em citros e caracterização da população fúngica ambiental no mercado atacadista de São Paulo. *Tropical Plant Pathology*. v. 33, n. 3, p. 219-226, 2008.
- Fischer, I. H.; Zanette, M. M.; Sposito, M. B.; Amorim, L. Doenças pós-colheita em laranja 'Valencia' e caracterização da população fúngica em pomares orgânicos e convencionais. *Tropical Plant Pathology*. v. 36, n. 6, p. 390-399, 2011.
- Food and Agriculture Organization of The United Nations. Produção de alimentos e de commodities agrícolas. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acesso em: 18 jul. 2012.
- Grizotto, R. K.; Silva, J. A. A.; Miguel, F. B.; Modesto, R. T.; Vieira Jr., J. B. Qualidade de frutos de laranja valência cultivada sob sistema tecnificado. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. Campina Grande, v. 16, n. 7, p. 784-789, 2012.
- Huang, R.; Xia, R.; Lu, Y.; Hu, L.; Xu, Y.; Effect of pre-harvest salicylic acid spray treatment on post-harvest antioxidant in the pulp and peel of 'Cara cara' navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. v. 88, p. 229-236, 2008.
- Machado, A. A.; Conceição, A. R. Sistema de análise estatística para Windows. WinStat. Versão 2.0. Pelotas: UFPel, 2003.
- Malgarim, M. B.; Cantillano, R. F. F.; Treptow, R. O. Armazenamento refrigerado de laranjas cv. Navelina em diferentes concentrações de cera à base de carnaúba. *Acta Scientiarum Agronomy*. Maringá, v. 29, n. 1, p. 99-105, 2007.
- Martinel, M.; Coneglian, R. C. C.; Vasconcellos, M. A. S.; Busquet, R. N.; Silva, E.; Vital, H. C. Qualidade de frutos de banana 'Prata' submetidos à radiação gama antes do processo de climatização. *Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas*. v. 4, n. 3, p. 44-51, 2010.
- Monteiro, C. R. S.; Schwarz, L. L.; Santos, L. C.; Andreazza, C. S.; Kechinski, C. P.; Bender, R. J. Postharvest mechanical damage affects fruit quality of 'Montenegrina' and 'Rainha' tangerines. *Pesquisa agropecuária brasileira*. Brasília, v. 44, n. 12, p. 1636-1640, 2009.
- Petry, H. B.; Koller, O. C.; Bender, R. J.; Schwarz, S. F. Qualidade de laranjas 'Valencia' produzidas sob sistemas de cultivo orgânico e convencional. *Revista Brasileira de Fruticultura*. Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 167-174, 2012.
- Resende, M. L. V.; Salgado, S. M. L.; Chaves, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. *Fitopatologia Brasileira*. v. 28, n. 2, 2003.
- 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 Phytopathologica*. Botucatu, v. 38, n. 1, p. 61-66, 2012.
- Spletzer, M. E. & Enyedj, A. J. Salicylic acid induces resistance to *Alternaria solani* in hydroponically grown tomato. *Phytopathology*, v. 89, n. 9, p. 722-727, 1999.