

ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM-SANTO COMO ALTERNATIVA AO USO DE IMAZALIL NO TRATAMENTO DA FUSARIOSE NO MELÃO

Marcos Vinicius Queiroz Ambrósio Correia¹, Cláudio Costa dos Santos²

Resumo: O óleo essencial da *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf, planta comumente encontrada na Caatinga brasileira, foi obtido através do processo de hidrodestilação com utilização da vidraria Clevenger. A partir disso foi preparada uma solução de 2,5 % do óleo, para utilização em experimentos *in vitro* e *in vivo*, com objetivo de comprovar a sua eficácia para o manejo da Fusariose no melão amarelo e demonstrar que a sua utilização não causa problemas em parâmetros de qualidade do fruto, como a firmeza ou na quantidade de sólidos suspensos. O óleo essencial de *C. citratus* reduziu o crescimento *in vitro* de *Fusarium falciforme*, mas, não reduziu a podridão em melão causada pelo fungo. Os tratamentos não alteraram o ° Brix e a firmeza dos frutos avaliados.

Palavras-chave: *Cucumis melo*; *Cymbopogon citratus*; Controle alternativo; Fusarium; Imazalil.

1. INTRODUÇÃO

A agricultura desempenha um papel muito importante na economia brasileira. Na região semiárida do Nordeste do Brasil, a produção de melão se destaca pelo volume produzido e exportado, gerando uma grande quantidade de empregos diretos e indiretos, fazendo parte do meio de subsistência de várias famílias brasileiras. Entretanto, alguns patógenos atacam o melão, e causam danos que preocupam os produtores dessa olerícola no mundo inteiro. No Brasil, já foi relatado que aproximadamente 15 % da produção de melão é perdida por podridão pós-colheita, e um dos principais causadores deste problema é o fungo *Fusarium* [1,2]. Existem diversas espécies de *Fusarium* já relatadas que causam danos em diferentes tipos de melão produzidos no Brasil [1], e o problema, na maioria das vezes, só é detectado na exportação dos frutos, devido ao período de tempo em que esses frutos passam para chegar até seu local de destino, podendo comprometer todo um lote. Cada espécie de *Fusarium* pode se comportar diferentemente em relação a agressividade em cada tipo de melão/híbrido, afetando a produção. Os melões com menores susceptibilidade a fusariose são os melões dos tipos amarelo e pele de sapo (Nogueira et al. 2022).

Atualmente, o principal ingrediente ativo utilizado para o manejo da podridão em melões é o fungicida Imazalil, no entanto, os produtores procuram alternativas para substituir este produto tendo em vista que os principais países importadores do melão produzido no Brasil, são os países Europeus, que exigem produtos com praticamente zero resíduo de Imazalil. A União Europeia cada vez mais vêm restringindo a quantidade residual desse produto nos frutos, de 2,0 ppm para 0,01 ppm [3], o que inviabiliza a sua utilização para o controle de *Fusarium* no pós-colheita, e aumenta a necessidade de desenvolvimento de outros produtos que controlem este patógeno, sem deixar resíduos nos frutos. A utilização de óleos essenciais no tratamento de doenças fúngicas têm cada vez mais se intensificado devido a sua facilidade de extração e sua biodegradabilidade, ocasionando a diminuição de resíduos nos frutos [4]. Vários estudos comprovam a eficiência de óleos essenciais no controle de doenças fúngicas em diferentes culturas, como por exemplo, o trabalho de Giacomini et al. (2017) que relata o uso do óleo essencial de capim limão no combate ao *Colletotrichum gloeosporioides* da antracnose da goiabeira [5]. O referido trabalho reporta que o uso de uma solução do óleo a 3,25% (v/v), resultou em uma diminuição do crescimento micelial e da esporulação do fungo *C. gloeosporioides*. Já com uma concentração de 100% do óleo, ocorreu neutralização total do crescimento e esporulação do fungo.

Diante do exposto existe uma necessidade de desenvolvimento de uma alternativa capaz de substituir o Imazalil no controle da fusariose do melão produzido no Brasil. O presente estudo teve como objetivos verificar o efeito do óleo essencial de capim-santo (OECC) no controle da fusariose do melão causada por *Fusarium falciforme*, além de avaliar se a utilização do OECC é capaz de alterar os parâmetros de firmeza do fruto e o grau de sólidos solúveis (° Brix) que são avaliados para categorizar como um fruto conforme.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

O óleo volátil obtido a partir das folhas do capim santo (Figuras 1A e 1B) foi obtido por meio do processo de hidrodestilação no qual o material vegetal é submetido à cocção com água e é coletado utilizando o aparelho tipo Clevenger (Figura 2).

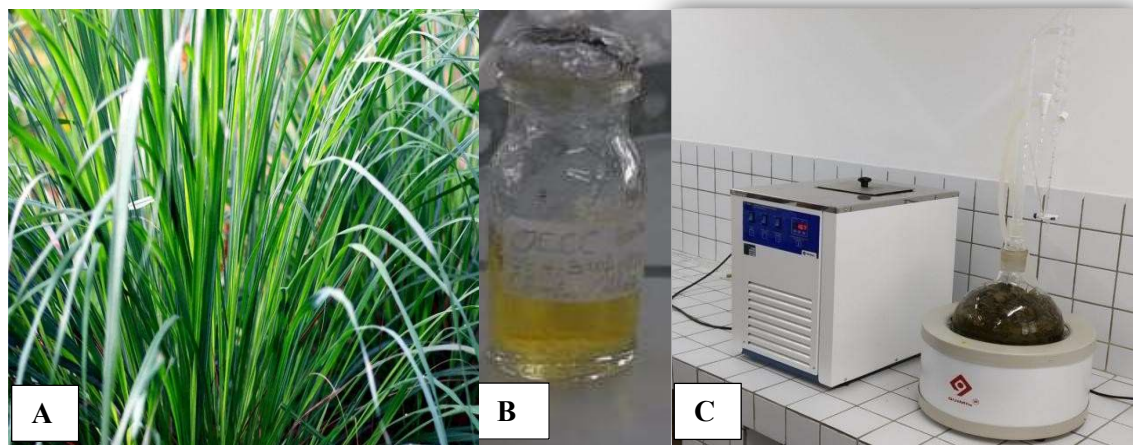


Figura 1: Folhas de *Cymbopogon citratus* (A), óleo essencial obtido da extração (B), Destilador de óleo essencial tipo Clevenger (C).

As folhas foram colhidas em Mossoró/RN, na época de Julho de 2023. Foram utilizadas 600 gramas da folhas de *C. citratus* para o processo de hidrodestilação. O óleo passou por esse processo pois substâncias voláteis são facilmente arrastadas pelo vapor de água. O material foi colocado em um balão de fundo redondo de 5L (Figura 2), e adicionou-se água até cobrir o material vegetal. A cocção foi realizada com uma manta de aquecimento adequada. O processo de aquecimento foi acompanhado por período de 2 horas após atingir a ebulição da água. O vapor contendo o óleo essencial é condensado em aparelho destilador tipo Clevenger. Após 2 horas, o óleo coletado no destilador Clevenger é tratado com sulfato de sódio anidro, armazenado em ampolas fechadas para evitar perdas e preservado sob refrigeração em um congelador.

2.2 ANÁLISE DA FIRMEZA DOS FRUTOS

Para o teste de firmeza foi utilizado um penetrômetro analógico (Homis, 3020) (Figura 2) com suporte de bancada e os dados foram expressos em Newton (N) equivalente a força necessária para penetrar a polpa do fruto.



Figura 2: Penetrômetro analógico

2.3 ANÁLISE DE ° BRIX

Para a análise de grau Brix, foi utilizado um refratômetro digital (MA871) (Figura 3) para analisar a quantidade de sólidos suspensos na polpa do fruto (Sendo relacionado a quantidade de açúcares no fruto).



Figura 3: Refratômetro digital

3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

TESTE *IN VITRO* PARA AVALIAR O EFEITO DE DIFERENTES TRATAMENTOS NO CONTROLE DE *Fusarium falciforme*

Inicialmente foi realizado um ensaio *in vitro* sendo preparando 5 repetições para 4 tratamentos, em laboratório, para testar o efeito de quatro tratamentos [controle; óleo de capim santo (2,5 % vv); tween 20 (10 %) e imazalil (2mL/L), sobre o crescimento de *Fusarium falciforme*. Cada material foi misturado, separadamente, com o meio de cultura batata dextrose ágar (BDA) fundido (cerca de 50 °C) e colocado em placas de Petri, devidamente esterilizadas. Um disco de 5 mm de diâmetro foi transferido da borda de uma colônia com 7 dias de idade para o centro de cada placa (micélio voltado para baixo). As placas foram armazenadas por sete dias em estufa incubadora tipo BOD (demanda biológica de oxigênio) a 28 ± 2 °C (fotoperíodo de 12 h). O delineamento experimental usado foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e cinco repetições, com uma placa correspondendo a uma repetição.

O crescimento do fungo foi avaliado após o 7º dia de incubação, calculando-se o diâmetro de crescimento do fungo nas placas de Petri. Foi realizado a média do crescimento do fungo nos tratamentos, e uma análise descritiva dos dados obtidos.

TESTE *IN VIVO* PARA VERIFICAR O EFEITO DE DIFERENTES TRATAMENTOS NO CONTROLE DA PODRIDÃO EM MELÃO CAUSADA POR *Fusarium falciforme*

Utilizou-se o melão amarelo no teste *in vivo* para verificar o efeito de quatro tratamentos cada um com 5 repetições [controle; óleo de capim santo (2,5 % vv); tween 20 (10 %) e imazalil (2mL/L), no controle da podridão do fruto causado por *F. falciforme*. No tratamento com o óleo de capim santo foi adicionado Tween 20 (10%) para que houvesse maior fixação do óleo no fruto, e para que o poder fungitóxico do óleo pudesse ser evidenciado. Os frutos foram inicialmente desinfestados em água clorada (0,1% de cloro ativo por 60 segundos), secos naturalmente, e foram realizados ferimentos, com aproximadamente 3 mm de profundidade nos pedúnculos dos frutos com um conjunto de agulhas desinfestadas por flambagem. Com o auxílio de uma pipeta automática foi colocada uma alíquota de 5 µL de suspensão de conídios de *F. falciforme* em uma concentração de 1×10^6 conídios/mL em cada pedúnculo ferido [6].

O método de avaliação foi feito através da medição do tamanho das lesões causadas pelo fungo no pedúnculo, mensurando o tamanho com o auxílio de um paquímetro em duas seções distintas do fruto e também do aparecimento de sintomas mais graves, como o crescimento do micélio e do aparecimento de manchas que indicam o início do apodrecimento do fruto.

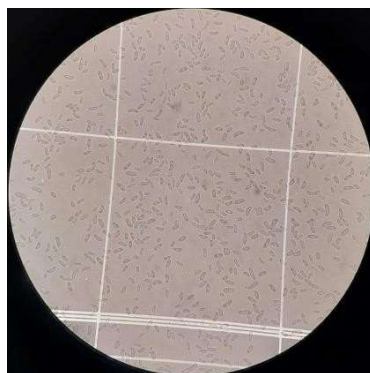


Figura 4: Microscopia dos esporos que foram contabilizados para suspensão de conídios

3.1 TESTES ESTATÍSTICOS

Os testes estatísticos para avaliação dos resultados do experimento *in vivo* do *Fusarium* e dos parâmetros de qualidade (° Brix e firmeza dos frutos), foi realizada uma análise de variância. Foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk e o teste de Bartlett verificar se as pressuposições foram atendidas. As pressuposições foram atendidas (normalidade de resíduos e homogeneidade de variância) e o teste paramétrico de Tukey a 5% de probabilidade foi aplicado para comparar as médias entre os tratamentos. Foi utilizado o aplicativo R 3.4.2 e ao pacote ExpDes.PT.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

TESTE *IN VITRO* PARA VERIFICAR O EFEITO DE DIFERENTES TRATAMENTOS NO CONTROLE DA PODRIDÃO CAUSADA POR *F. falciforme*

Com os testes *in vitro* foi possível verificar a eficácia do óleo essencial de capim santo (OECC) e do imazalil no controle do crescimento de *F. falciforme* (Figuras 6 e 7), se comportando de forma semelhante, ambos inibiram 100 % o crescimento do fungo. O tween 20 foi testado pela necessidade de aplica-lo junto ao óleo, para fixação. Dessa forma, é necessário saber se o mesmo não tem poder fungitóxico. Como esperado, o Tween 20, utilizado apenas como tensoativo, se comportou igual ao tratamento controle, não havendo inibição do *F. falciforme*. O trabalho de Sousa Júnior et al. (2009) indica que a capacidade do óleo de capim santo no controle de patógenos se dá pela presença de componentes antimicrobianos, como o monoterpenóide Citral [7]. Estes pesquisadores estudaram o efeito do óleo de capim santo sobre a doença antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. Também, Dias et al. (2021) verificaram inibição total de outro fungo, *Rhizoctonia solani*, *in vitro*, a partir da concentração de 0,25% de óleo de capim santo [8].

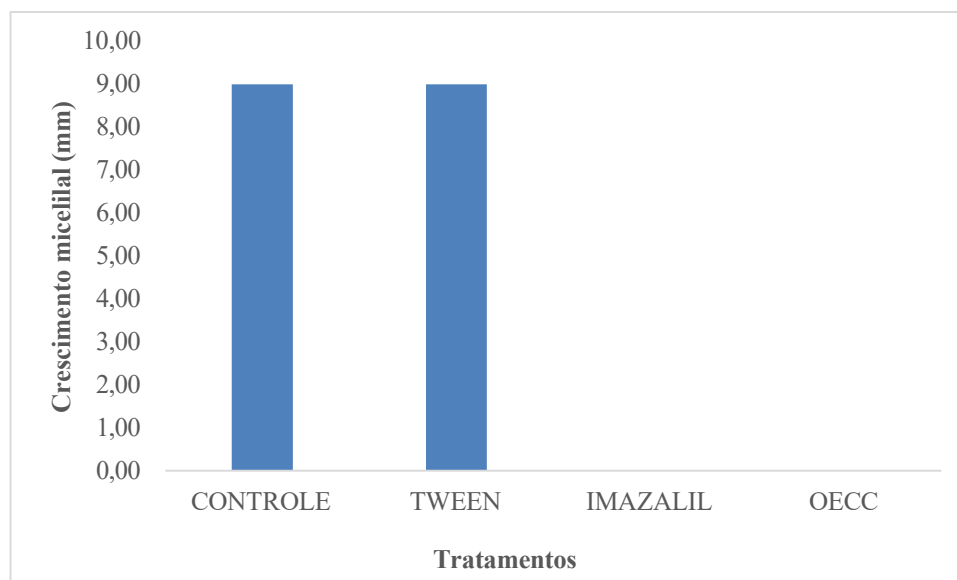


Figura 5: Crescimento micelial de *F. falciforme* *in vitro* nos diferentes tratamentos. OECC= óleo essencial de *Cymbopogon citratus*. (Fonte: Dados da pesquisa).

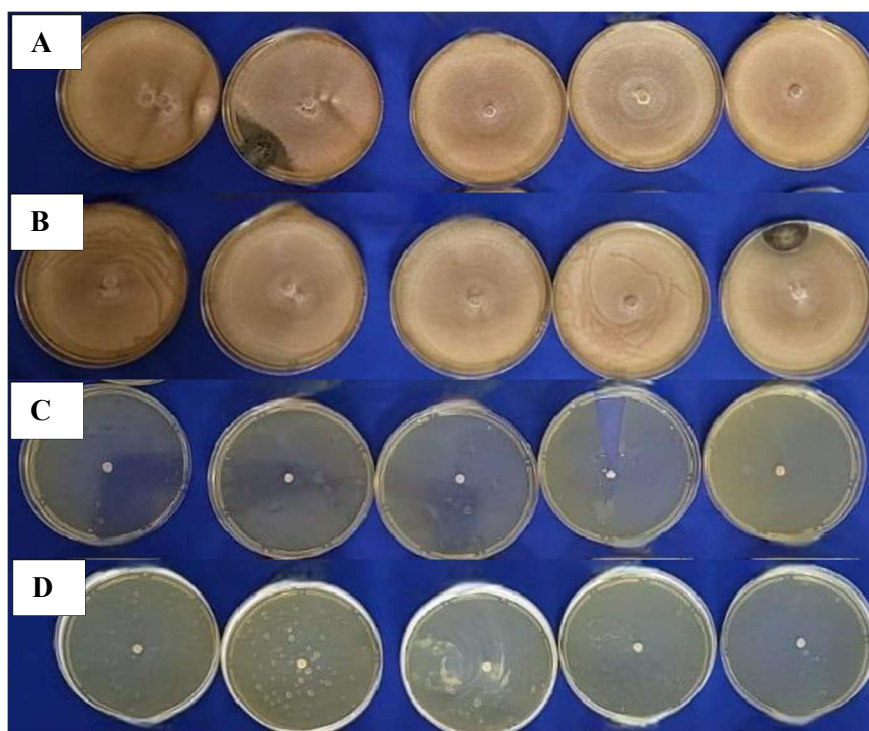


Figura 6: Visualização em placas de Petri do crescimento micelial *in vitro* de *Fusarium falciforme* submetido a aplicação de diferentes tratamentos. A- Controle; B- Tween 20 – 10 %; C- Imazalil 2ml/L; D- Óleo essencial de *Cymbopogon citratus* 2,5 %. (autoria própria).

TESTE *IN VIVO* PARA VERIFICAR O EFEITO DE DIFERENTES TRATAMENTOS NO CONTROLE DA PODRIDÃO CAUSADA POR *F. falciforme*

No teste *in vivo*, o óleo de capim santo não apresentou resultados que corroborassem com os achados no teste *in vitro*, causando maiores lesões (podridão) aos frutos, sendo estatisticamente igual ao tratamento Tween 20. Porém, o óleo volatilizou antes de conseguir controlar o fungo, e a concentração do Tween 20, adicionados ao OECC para ajudar em sua fixação no fruto, não foi suficiente para mantê-lo ativo no ferimento, por um tempo suficiente para controlar o fungo (Figuras 8 e 9). Os tratamentos Controle, Imazalil e Tween 20 foram estatisticamente iguais. No trabalho de Dias et al (2021), a concentração de 0,25 % de óleo de capim santo não prejudicou a porcentagem de plântulas normais de alface. Os pesquisadores verificaram que nesta concentração ocorreu alta atividade de controle do fungo *R. solani* e do tombamento de plantas de alface, concluindo sobre evidências positivas no uso do óleo essencial de capim santo para controle de patógenos habitantes do solo [8].

Como os resultados *in vitro* do presente trabalho demonstraram que o óleo de capim santo (OECC) comportou-se de maneira similar ao Imazalil, no controle de *F. falciforme* e relatos de eficiência *in vitro* e *in vivo* desse material, reportados em outros patossistemas [8] sugere-se a necessidade de outros ensaios que busquem um método de aplicação mais eficaz ou uma maior fixação do OECC no fruto (melão). Se houver uma maior fixação, possivelmente, o poder fungitóxico do OECC será mais pronunciado.

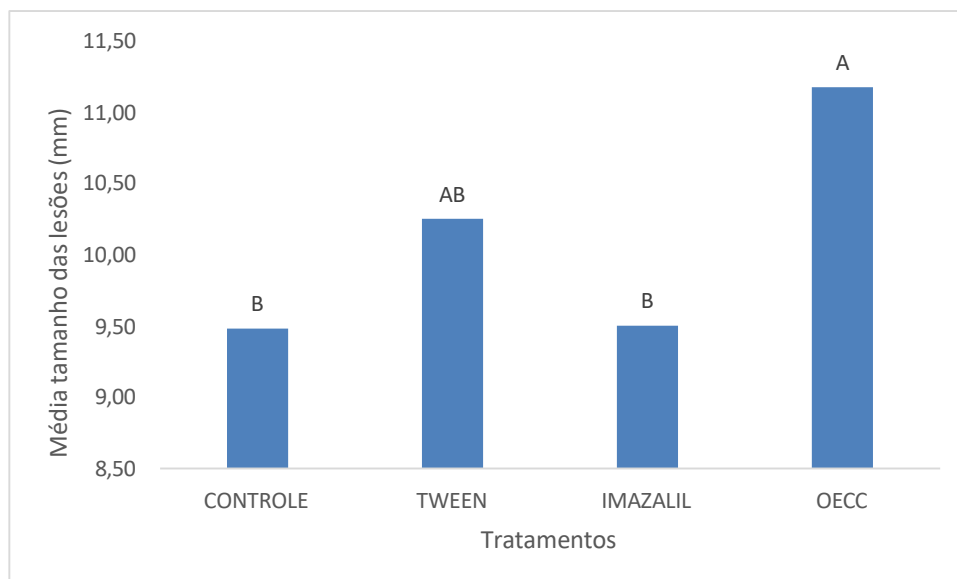


Figura 7: Tamanho das lesões em melão amarelo causado por *Fusarium falciforme* submetido a diferentes tratamentos. OECC = Óleo essencial de *Cymbopogon citratus*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de tukey a 5 % de significância. (Fonte: Dados da pesquisa)



Figura 8: Melões amarelo inoculados com *F. falciforme* e submetidos a diferentes tratamentos. A- Controle; B- Tween 20 – 10 %; C- Imazalil 2ml/L; D- Óleo essencial de *Cymbopogon citratus* 2,5 %. (autoria própria)

ANÁLISE DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS (°BRIX) E DA FIRMEZA DE MELÕES SUBMETIDOS A DIFERENTES TRATAMENTOS

Em relação as análises do °Brix e da firmeza dos frutos, não foi verificado diferença estatística entre os tratamentos analisados, mostrando que os tratamentos não interferiram nestes parâmetros de qualidade do fruto. E isso, é de grande importância visto que, se for possível um método que garanta a maior fixação do óleo no fruto, o tratamento pode ser recomendado para os produtores de melão no Brasil, pois não interferirá na qualidade dos frutos.

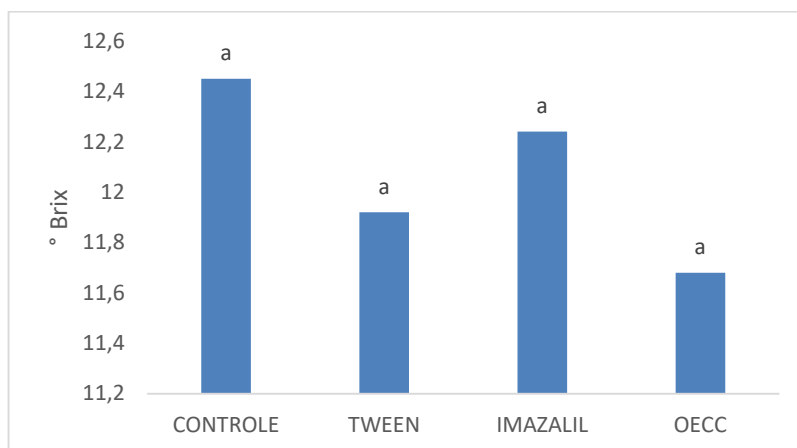


Figura 9: Sólidos solúveis totais (°Brix). Letras iguais nos tratamentos não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

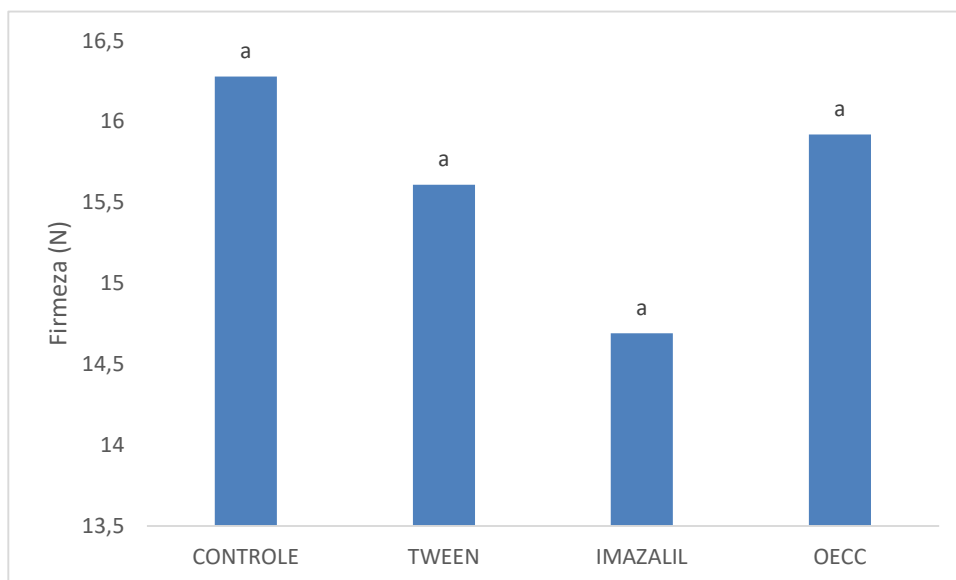


Figura 10: Firmeza expressa em Newtons (N). Letras iguais nos tratamentos não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

No decorrer do teste *in vivo* foi possível notar que houve pouca interação do tensoativo (Tween 20), e o óleo essencial de capim santo, além disso, a quantidade utilizada de Tween 20, parece não ter sido suficiente para formar uma mistura homogênea entre o óleo e a água, causando assim uma dificuldade das substâncias presentes na solução permanecerem no meio (pedúnculo dos frutos), e impedir o crescimento do fungo, o que pode ter ocasionado dificuldade do tratamento em combater as lesões causadas pelo fungo. Também, os frutos não foram armazenados em câmara fria após a aplicação dos tratamentos, como ocorre na condição real de exportação dos frutos, onde os mesmos são transportados para os países da Europa em câmaras frias, reguladas para, aproximadamente 10 °C. É razoável crer que, se os frutos, após a aplicação do tratamento com o OECC, tivessem sido armazenados em câmara fria, provavelmente os resultados seriam mais favoráveis, visto que as temperaturas baixas causam redução no metabolismo do fungo, agindo como uma barreira microbiológica, o que ajudaria no controle do patógeno, além de evitar a volatilização precoce do OECC, preservando a atividade antifúngica por um tempo mais longo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos dados obtidos no experimento *in vitro*, podemos concluir que o óleo essencial da *Cymbopogon citratus* tem potencial para controlar o fungo *Fusarium falciforme* de forma tão eficiente quanto o ingrediente ativo Imazalil, porém no experimento *in vivo*, o tratamento não apresentou resultado satisfatório. Estudos mais aprofundados são necessários para encontrar uma viabilidade mais eficiente no modo de fixação do óleo ao fruto afim de aumentar o tempo de exposição em que as substâncias que combatem essa doença possam atuar mitigando o crescimento do fungo e armazenar em temperatura utilizada nas exportações a fim de realizar o experimento de forma fiel as condições de exportação.

5. AGRADECIMENTOS

O autor gostaria de expressar os sinceros agradecimentos às instituições e a todos, colegas e colaboradores, que contribuíram para a realização deste trabalho. Em particular, agradecemos ao Laboratório de Engenharia Eletroquímica onde obtivemos o OECC, ao Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais da Embrapa Agroindústria Tropical pela análise de CGEM do OECC e ao Laboratório de Microbiologia onde foram realizados os testes *in vitro* e *in vivo*. Agradecemos também, de forma direta, à Profa. Dra. Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio pela assistência técnica valiosa na condução dos testes *in vivo* e *in vitro* e à Profa. Dra. Jailma Suerda Silva de Lima na análise estatística dos dados deste projeto. Ao Prof. Dr. Cláudio Costa por todo conhecimento e orientação necessária para realização deste trabalho.

Este trabalho foi realizado com financiamento do Programa Primeiros Projetos de Pesquisa da UFERSA com recursos do CNPq, ao qual somos gratos pela sua generosa contribuição que permitiu a aquisição do sistema extrator de óleo essencial.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Araújo, M.B.M. et al. *Fusarium* rot of melon is caused by several *Fusarium* species. *Plant Pathology*, v. 70, p. 712–721, 2021.
- [2] Oster, A.H., et al. Luz ultravioleta pulsada no controle de podridão pós-colheita e na qualidade de melão para exportação. Embrapa Agroindústria Tropical – Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E). (Boletim de pesquisa, 173). 2018.
- [3] INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA E APLICADA. (IPEA) **Dinte nº 37**: dilemas no uso de defensivos agrícolas: diferenças nas práticas e políticas ligadas aos limites máximos de resíduos. IPEA, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.38116/ntdinte37>.
- [4] ABAD, M. J. et al. Active antifungal substances from natural sources. **Journal and Online Education in Chemistry**, v. 2007, n.7, p. 116-145, 2006.

[5] GIACOMINI, G. X.; RODRIGUEZ, D. P.; LOURENÇO, Y. S.; MARTINS, C. R.; NACHTIGAL, G. de F.; SANTOS, A. J. R. W. A. dos. [Avaliação do potencial antifúngico do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* para controle da antracnose em goiabeira](#). In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 26.; ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO UFPEL, 19.; SEMANA INTEGRADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 3., 2017, Pelotas. Anais... Pelotas: UFPel, 2017.

[6] de Medeiros, A.S., Costa Alves, T.R., dos Santos Silva, J.L. *et al.* Thermotherapy combined with alternative products in the management of melon rot caused by *Fusarium falciforme*. *Eur J Plant Pathol* (2023). <https://doi.org/10.1007/s10658-023-02805-w>

[7] Souza Júnior ITS, Sales NLP, Martins ER. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporoides*, isolado do maracujazeiro amarelo. *Biotemas*, v.22 n.3, p.77-83, 2009. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2009v22n3p77>

[8] Dias, P. P. et al. In vitro fungitoxic activity of the essential oil of lemon grass (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf) and *Rhizoctonia solani* control in lettuce (*Lactuca sativa* L.), ‘marvel of four seasons’ cultivar. *Summa Phytopathologica*, v. 47, n. 4, p. 204–208. 2021. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/209982>