

MYRZÂNIA DE LIRA GUERRA

**ÓLEOS ESSENCIAIS PARA CONTROLE DA PODRIDÃO MOLE
EM COUVE-CHINESA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO

Orientadora: Professora Dra. Rosa de Lima Ramos Mariano

Co-orientadora: Professora Dra. Elineide Barbosa de Souza

**RECIFE-PE
JULHO – 2011**

Ficha catalográfica

G934o Guerra, Myrzânia de Lira
Óleos essenciais para controle da podridão mole em
couve-chinesa / Myrzânia de Lira Guerra – 2011.
53 f. : il.

Orientadora: Rosa de Lima Ramos Mariano
Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia,
Recife, 2011.
Referências.

1. Brassica pekinensis 2. Características físico-química
3. Colorimetria 4. Controle alternativo 5. Pectobacterium
carotovorum subsp. carotovorum I. Mariano, Rosa de Lima
Ramos, orientadora II. Título

CDD 632

**ÓLEOS ESSENCIAIS PARA CONTROLE DA PODRIDÃO MOLE
EM COUVE-CHINESA**

MYRZÂNIA DE LIRA GUERRA

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 26/07/2011.

ORIENTADORA:

Prof^a Dra. Rosa de Lima Ramos Mariano

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Delson Laranjeira
PPGF – Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof^a Dra. Márcia Vanusa da Silva
PPG em Biotecnologia Industrial - Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Adriano Márcio Freire Silva
PNPD/PPGF – Universidade Federal Rural de Pernambuco

**RECIFE-PE
JULHO - 2011**

*A minha amada e querida mãe, Maria de Fátima;
minha grande companheira, minha irmã Yrlânia; e meu
atencioso namorado 'Coelho', sendo meu alicerce nos
momentos difíceis e acreditando sempre na minha
vitória.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por estar sempre presente em minha vida e por ter me sustentado nos momentos difíceis. A sua proteção foi o que me deu força para concluir este trabalho;

Agradeço a minha querida orientadora professora Dra. Rosa de Lima Ramos Mariano, que é um grande exemplo de persistência, inteligência, amizade e dedicação. Ela foi e é uma das pessoas que vem me acolhendo carinhosamente desde a graduação;

A professora Dra. Elíneide Barbosa de Souza, pela co-orientação, amizade, paciência, disponibilidade, atenção e incentivo.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, pelo apoio institucional e a Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), pela concessão de bolsa de estudo;

Aos meus estagiários, sempre fiéis aos trabalhos em casa vegetação, Yrlânia e Carlos Eduardo;

Aos meus carismáticos companheiros do Laboratório de Fitobacteriologia da UFRPE: Aldenir, Luydson, Kátia, Christtianno, Lílíana, Marco Aurélio, Mirtis, Willams, Greecy, Conrado, Alessandra e Emerson pela amizade, pelo apoio nos momentos de indecisão, pela comilança e por tantos momentos alegres e tristes;

A Iva, por me ensinar a andar nos caminhos da Fitobacteriologia;

Ao Prof. Dr. Marcelo Mello, pela eterna amizade e por sempre acreditar em mim;

Ao estimado amigo Seu Luiz Coelho (Lula), por fazer dos momentos ruins uma eterna alegria; pelas brincadeiras e amizade sempre presentes em todos os momentos na 'casa de vegetação';

A Beth, estagiária do Laboratório de Patologia em Pós-colheita, pela ajuda e disponibilidade;

Meus sinceros agradecimentos aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia que contribuíram para a minha formação.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	iv
SUMÁRIO.....	v
RESUMO GERAL.....	vii
GENERAL ABSTRACT.....	viii
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUÇÃO GERAL.....	2
Couve-chinesa.....	2
Podridão mole e agente etiológico.....	4
Controle alternativo.....	7
Índices de qualidade da couve-chinesa.....	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	12
CAPÍTULO II.....	19
RESUMO.....	20
ABSTRACT.....	21
INTRODUÇÃO.....	22
MATERIAL E MÉTODOS.....	24
Obtenção do isolado de <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	24
Obtenção dos óleos essenciais.....	24
Plantio de couve-chinesa.....	25
Efeito de óleos essenciais na redução da severidade da podridão mole em plantas de couve-chinesa.....	25
Teste de Fitotoxicidade.....	25

Redução da severidade da podridão mole em plantas de couve-chinesa.....	26
Eficácia de óleos essenciais na redução da severidade da podridão mole causada por diferentes isolados de <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	27
Colorimetria e análise físico-química de folhas de couve-chinesa.....	27
Efeito <i>in vitro</i> de óleos essenciais e antibiótico agrícola Mycoshield® no crescimento da <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	28
Análises estatísticas.....	29
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
Obtenção do isolado de <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	29
Efeito de óleos essenciais na redução da severidade da podridão mole em plantas de couve-chinesa.....	30
Colorimetria e análise físico-química de folhas de couve-chinesa.....	32
Efeito <i>in vitro</i> de óleos essenciais e antibiótico agrícola Mycoshield® no crescimento da <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	33
AGRADECIMENTOS.....	35
REFERÊNCIAS.....	36
CONCLUSÕES GERAIS.....	44

RESUMO GERAL

A couve-chinesa (*Brassica pekinensis* L.) destaca-se na olericultura brasileira pelo valor nutricional e aumento da produtividade. Nas regiões da Zona da Mata e do Agreste Pernambucano esta hortaliça é intensamente cultivada no sistema convencional tendo sua produção limitada entre outros fatores pela ocorrência da podridão mole. Avaliou-se a ação de óleos essenciais no controle da podridão mole em couve-chinesa e sua influência na colorimetria e características físico-químicas da hortaliça. Em testes preliminares de fitotoxidez foram selecionados 11 óleos. Em casa de vegetação, plantas da cv. Natsume foram pulverizadas com os óleos de bergamota, capim limão, copaíba, eucalipto citriodora, eucalipto globulus, funcho de erva-doce, gengibre, hortelã, laranja doce, limão e sálvia esclaréia (0,5%) e o antibiótico agrícola Mycoshield[®] (3g L⁻¹), sendo inoculadas com *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc-c) após 72 h. Avaliou-se a severidade da doença a cada seis horas até 48 h, determinando-se a severidade final (SEV) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Os 11 óleos e o Mycoshield[®] reduziram similarmente a SEV e a AACPD em relação à testemunha. O óleo de hortelã e o Mycoshield[®] reduziram a SEV em 53,1 e 38,8% e a AACPD em 37,0 e 27,5%, respectivamente. Os óleos de bergamota, copaíba, eucalipto citriodora, hortelã e laranja doce foram selecionados para a continuidade dos estudos e testados quanto à estabilidade da eficácia de controle da doença em relação a três isolados de Pcc. A interação óleos x isolados não foi significativa ($P \leq 0,05$). Os cinco óleos reduziram a SEV e AACPD sem diferirem entre si ou do Mycoshield[®] exceto o óleo de copaíba que se mostrou menos eficiente do que o antibiótico na redução da AACPD. Nos testes *in vitro*, discos de papel de filtro foram embebidos nos cinco óleos (0,5%) e Mycoshield[®] e depositados sobre meio de cultura contendo Pcc-c. O patógeno foi inibido *in vitro* apenas pelo Mycoshield[®]. Para detecção da atividade antibacteriana das substâncias voláteis em diferentes pHs foi utilizada a técnica da placa sobreposta. O crescimento de Pcc-c foi inibido apenas pelos óleos de hortelã e bergamota no pH 7,0, e pelo óleo de copaíba no pH 8,0. A colorimetria das folhas da couve-chinesa, o teor de ácido ascórbico e o pH das plantas tratadas com os cinco óleos não foram alterados, considerando a testemunha sem Pcc-c. A acidez titulável foi elevada pelo óleo de hortelã e o °Brix pelos óleos de laranja doce, eucalipto citriodora e bergamota.

Palavras-chave: *Brassica pekinensis*, características físico-químicas, colorimetria, controle alternativo, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*

GENERAL ABSTRACT

Chinese cabbage (*Brassica pekinensis* L.) is very important in the Brazilian horticulture due to its nutritional value and increasing yielding. In the Zona da Mata and Agreste of Pernambuco State, Brazil, this vegetable is intensely cultivated in the conventional system although its production is limited by several factors including the soft rot disease. It was evaluated the action of essential oils in controlling soft rot in Chinese cabbage and their influence in colorimetry and physicochemical characteristics of this vegetable. Preliminary fitotoxicity tests selected 11 oils. In the greenhouse, plants of cv. Natsume were sprayed with the oils of bergamot, lemon grass, copaiba, eucalyptus citriodora, eucalyptus globulus, fennel, ginger, mint, sweet orange, lemon and clary sage (0.5%) and the antibiotic Mycoshield® (3 g L⁻¹), and inoculated with *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc-c) after 72 h. The disease severity was evaluated every six hours until 48 h, and the final severity (SEV) and area under the disease progress curve (AUDPC) were determined. The 11 oils and Mycoshield® reduced similarly SEV and AUDPC compared to control. The peppermint oil and Mycoshield® reduced SEV in 53.1 and 38.8% and AUDPC in 37.0 and 27.5%, respectively. The oils of bergamot, copaiba, eucalyptus citriodora, mint and sweet orange were selected for further studies and tested for stability of the effectiveness of disease control in relation to three strains of Pcc. The interaction oils x strains was not significant ($P \leq 0.05$). The five oils reduced the SEV and AUDPC without differences between themselves or from Mycoshield®, except for copaiba oil that was less effective than the antibiotic in reducing the AUDPC. In the *in vitro* tests, filter paper discs were soaked in those five oils (0.5%) and Mycoshield® and deposited on culture medium containing Pcc-c. The pathogen was inhibited *in vitro* only by Mycoshield®. The technique of overlapping plates was used for detection of antibacterial activity of volatile substances at different pHs. Pcc-c growth was inhibited only by the oils of mint and bergamot at pH 7.0, and by the oil of copaiba at pH 8.0. The colorimetry of Chinese cabbage leaves, the ascorbic acid content and the pH of the plants treated with those five oils have not changed compared to the control without Pcc-c. The acidity was elevated by mint oil and total soluble solids (°Brix) by the oils of sweet orange, eucalyptus citriodora and bergamot.

Keywords: alternative control, *Brassica pekinensis*, colorimetry, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, physico-chemical characteristics

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL

INTRODUÇÃO GERAL

Couve-chinesa

A família Brassicaceae possui uma grande diversidade dentre as dicotiledôneas dialipétalas, ocorrendo no Brasil sete gêneros e aproximadamente 50 espécies (SOUZA; LORENZI, 2005). No gênero *Brassica* destaca-se na alimentação dos brasileiros o consumo de *B. oleraceae* var. *italica* L. (brócolis), *B. pekinensis* L. (couve-chinesa), *B. oleraceae* var. *botrytis* L. (couve-flor), *B. oleracea* var. *acephala* L. (couve-manteiga) e *B. oleraceae* var. *capitata* L. (repolho) (FILGUEIRA, 2003). A couve-chinesa está classificada taxonomicamente na divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, ordem Brassicales e família Brassicaceae, antes designada Cruciferae.

Cultivada na China há mais de 1.500 anos, a couve-chinesa foi introduzida no Japão no final do século XIX, sendo tradicionalmente apreciada pela culinária nipônica (MAROTO-BORREGO, 1995). No Brasil, foi introduzida no início do século passado (NAMUR, 2008). Esta hortaliça é erroneamente chamada de “acelga” (*Beta vulgaris* L. var. *cycla*) que pertence à família Chenopodiaceae, a qual também apresenta uma nervura central destacada e de coloração branca. A couve-chinesa é uma planta anual, de folhas oblongas e pilosas, decorrentes até a base do pecíolo, quase inteiras, crispadas e onduladas nas margens, com comprimento de 30 a 40 cm, com limbo de coloração verde pálido, nervura central branca, carnosa e grossa. As folhas se fecham formando uma “cabeça” compacta, globular-alongada (FILGUEIRA, 2003).

A couve-chinesa é uma planta sensível a fotoperíodos longos e a temperaturas inferiores a 12°C, que induzem a floração prematura (MAROTO-BORREGO, 1995). A maior parte das cultivares produz melhor sob temperaturas amenas, ou seja, quando semeadas no outono-inverno. Entretanto, híbridos com maior tolerância ao calor, como ‘Shonan’ e ‘Komachi’, estão sendo introduzidos. O cultivo desta hortaliça é semelhante ao do repolho, sendo semeada em bandejas ou em sementeira e as mudas são transplantadas para o local definitivo com espaçamento de 70 × 30 cm. O ciclo da cultura varia de 60-70 dias, da sementeira até a colheita (FILGUEIRA, 2003).

No estado de Pernambuco os principais municípios produtores desta brássica são Vitória de Santo Antão e Chã Grande. A safra ocorre durante todo o ano, existindo nos meses de setembro a fevereiro, uma oferta de produtos de melhor qualidade e, por conseguinte preços mais baixos (CEASA/PE, 2010). A busca por preços melhores faz com que parte dos agricultores cultive a couve-chinesa no inverno, época favorável à ocorrência de doenças.

Vale salientar que existe um déficit de informações atualizadas sobre a produção de brássicas no Brasil (MELLO, 2009). Na Central de Abastecimento de Pernambuco - CEASA/PE, a quantidade média anual de couve-chinesa comercializada tem aumentado, variando de 67 t em 2006 a 151 t em 2010 (BARROS, 2011) (Figura 1), ressaltando-se o seu valor nutricional (Tabela 1) (EMBRAPA HORTALIÇAS, 2010).

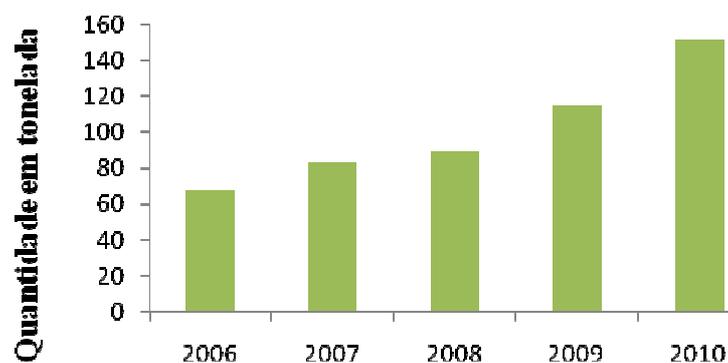


Figura 1. Quantidade de couve-chinesa comercializada na Central de Abastecimento de Pernambuco (CEASA/PE) no período de 2006 a 2010.

Tabela 1. Composição nutricional da folha de couve-chinesa.

Composição nutricional em 100g de folhas	Quantidade
Calorias	13,3
Vitamina A (retinol)	384 µg
Vitamina B1 (tiamina)	70 µg
Vitamina B2 (riboflavina)	130 µg
Vitamina B3 (niacina)	0,8 µg
Vitamina C (ácido ascórbico)	19,5 mg
Potássio	253 mg
Sódio	23 mg
Cálcio	345 mg
Ferro	1,560 mg
Fósforo	134 mg

Fonte: Embrapa Hortaliças (2010).

A couve-chinesa, assim como outras culturas olerícolas, pode ser afetada por diferentes pragas e doenças dentre as quais se destacam a lagarta-rosca (*Agrotis ipisilon* Hufnagel), a traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella* L.), a mancha-de-alternária (*Alternaria*

brassicicola (Schw.) Wiltsh., a h ernia das crucíferas (*Plasmodiophora brassicae* Woronin) e a podridão mole (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Jones) Hauben et al. e *Pectobacterium atrosepticum* (Van Hall) Gardan et al). Esta última doena é mencionada como a mais destrutiva e importante em muitas áreas produtoras de couve-chinesa e alface no Brasil e no mundo (SILVA, 2005).

Em campo, a produo de couve-chinesa pode ser reduzida significativamente em até 100% devido a podridão mole, que ocorre também nas fases de pós-colheita, armazenamento e transporte (PÉROMBELON; KELMAN, 1980).

Podridão mole e agente etiológico

No Brasil, a podridão mole foi relatada em cebola há mais de quatro décadas, por Charles Frederick Robbs e em Minas Gerais foi descrita oficialmente por Jaccoud Filho e outros pesquisadores, ocasionando s rios problemas em pós-colheita nesta hortalia (ZAMBOLIM; VALE; COSTA, 2000). As perdas econ micas causadas por esta doena são grandes, variando com o valor da cultura, severidade do ataque, condioes ambientais, subespécies envolvidas, condioes de cultivo, armazenamento, transporte e comercializao dos produtos (PÉROMBELON; KELMAN, 1980; JABUONSKI; REIFSCHNEIDER; TAKATSU, 1988). Em 2004, na mesorregião Agreste de Pernambuco, foi constatada prevalência de 100% da podridão mole, com incidência variando de 1 a 67% (SILVA, 2005).

Além das brássicas, são hospedeiras de *Pectobacterium* alface (*Lactuca sativa* L.), batata (*Solanum tuberosum* L.), beterraba (*Beta vulgaris* L.), cenoura (*Daucus carota* L.), pimentão (*Capsicum annum* L.) e tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), dentre outras (MALAVOLTA JR et al., 2008).

Os sintomas da podridão mole se iniciam na base e nervura das folhas (Figura 2), as quais entram em contato com o solo quando a planta está no final do ciclo e através de ferimentos ocorre a penetrao da bactéria com posterior colonizao e macerao dos tecidos (KIKUMOTO, 2000; MELLO, 2009). A podridão mole progride rapidamente para o caule principal, resultando no colapso de toda a planta (REN; PETZOLDT; DICKSON, 2001; SILVA, 2005). É importante salientar que os sintomas da doena podem ocorrer no campo, durante a pós-colheita, transporte e estocagem (RAID, 1997; REN; PETZOLDT; DICKSON, 2001).



Figura 2. Sintomas da podridão mole em couve-chinesa.

O gênero *Pectobacterium* (Jones) Hauben et al. foi criado com o intuito de acomodar as espécies de *Erwinia* causadoras de podridão mole, separando-as de espécies deste gênero causadoras de doenças envolvendo necrose (DUARTE; EL TASSA, 2003). Economicamente, as duas espécies mais importantes de *Pectobacterium* são *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* e *P. atrosepticum* que causam podridão mole em vários hospedeiros, entre os quais se destacam alface (*Lactuca sativa* L.), batata (*Solanum tuberosum* L.), beterraba (*Beta vulgaris* L.), cenoura (*Daucus carota* L.), couve-chinesa, pimentão (*Capsicum annuum* L.), rabanete (*Brassica rapa* L.), repolho e tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (PÉROMBELON, 2002; SEO; TAKANAMI, 2002; TOTH et al., 2003). As espécies de *Pectobacterium* são caracterizadas por serem bactérias anaeróbias facultativas, Gram negativas, baciliformes, não formadoras de esporos e móveis por flagelos peritríquios (BRENNER; FANNING; STEIGERWALT, 1972; PÉROMBELON; KELMAN, 1980; DE BOER; KELMAN, 2001). Apresentam crescimento ótimo entre 28-30°C, são oxidase negativa e catalase positiva, reduzem a sacarose, produzem ácido a partir de sorbitol, melibiose, citrato, arabitol, rafinose e lactose, possuem sensibilidade a eritromicina, produzem indol, e muitas não reduzem nitratos. Fermentam glucose, produzem β -galactosidase e H_2S , utilizam L-arabinose, D-galactose, D-glucose, glicerol, D-manose, D-ribose e sacarose, mas não produzem urease ou ácido a partir de adonitol (DE BOER; KELMAN, 2001; HYMAN; TOTH; PÉROMBELON, 2002). Além destas características, a determinação da atividade pectinolítica em meio CVP (cristal violeta pectato) é um critério auxiliar. Neste meio, após incubação por 48 horas, isolados de *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* diferenciam-se por formarem depressões a 27 e 33,5°C mas não a 37°C (HYMAN; TOTH; PÉROMBELON, 2002).

As bactérias que causam as podridões moles produzem grandes quantidades de enzimas pectinolíticas que degradam tecidos parenquimatosos (HAYWARD; MARIANO,

1997). Os quatro principais tipos de enzimas pectinolíticas produzidos por *Pectobacterium* são: pectato liase (Pel), pectina liase (Pnl), pectina metil esterase (Pme) e poligalacturonase (Peh). As três primeiras têm pH ótimo em torno de 8,0 e a última em torno de 6,0. Além das enzimas pectinolíticas também estão envolvidas na patogenicidade desta bactéria proteases, celulases e xilases (COLLMER; KEEN, 1986).

As pectobactérias penetram nos tecidos da planta através de ferimentos e causam encharcamento. O tecido colonizado torna-se mole, devido à ação de enzimas pectinolíticas excretadas pelo patógeno (MARINGONI, 2005). Subseqüentes fermentações e concomitante invasão do tecido em colapso por saprófitas ocasionam o desprendimento de gases com odor desagradável (ROMEIRO, 2005). Essas bactérias dependem principalmente da temperatura e concentração de oxigênio para iniciar a infecção, bem como para a produção e intensidade dos sintomas (HAYWARD; MARIANO, 1997; PÉROMBELON; KELMAN, 1980). Temperatura e umidade altas são condições favoráveis para a ocorrência da doença (RAID, 1997; REN; PETZOLDT; DICKSON, 2001). Quando as condições ambientais são favoráveis para o desenvolvimento da podridão mole, incluindo água livre, baixa concentração de oxigênio e temperatura elevada, estas bactérias colonizam o tecido vascular e os espaços intercelulares. (PÉROMBELON; KELMAN, 1980; TOTH et al., 2003).

Pectobacterium carotovorum subsp. *carotovorum* é capaz de infectar grande número de plantas hospedeiras e apresenta ampla distribuição nas regiões temperadas e tropicais (GUDMESTAD; SECOR, 1983; PÉROMBELON; KELMAN, 1987). Devido ao tipo de penetração, a incidência da doença aumenta quando as hospedeiras são feridas em função de práticas culturais, ventos fortes, contato de plantas e ataque de insetos (GOTO, 1992). Esta bactéria sobrevive como epifítica na filosfera de plantas hospedeiras, como saprófita no solo, em restos culturais infectados, em água, na rizosfera de plantas cultivadas, sendo essas as principais fontes de inóculo primário desta bactéria (PÉROMBELON; KELMAN, 1980; GOTO, 1992). Dissemina-se facilmente pela água, raízes e tubérculos infectados, insetos, tratos culturais, homem e implementos agrícolas (TOKESHI; CARVALHO, 1980). Ren, Petzoldt e Dickson (2001) consideram que o controle da podridão mole é dificultado pela ampla gama de plantas hospedeiras e pela sobrevivência de *Pectobacterium* em restos de cultura no solo. O controle químico não é eficiente, mas as práticas culturais permitem reduzir a incidência da doença. As principais medidas preconizadas incluem: evitar plantio em solos de baixada, mal drenados; erradicar plantas doentes; destruir restos culturais; fazer rotação de culturas de preferência com gramíneas, tais como milho, trigo, arroz, sorgo ou capim, por três a quatro anos; evitar ferimentos durante tratos culturais; controlar insetos mastigadores;

desinfestar depósitos e armazéns com sulfato de cobre; empregar água de irrigação livre de contaminação; evitar o excesso de umidade com o maior espaçamento possível entre plantas; efetuar adubação equilibrada e rica em cálcio; utilizar cloro na água de lavagem dos produtos; não armazenar produtos doentes e sadios conjuntamente; armazenar produtos em local ventilado, seco e frio (MARIANO et al., 2001). No Brasil há relatos dos híbridos de couve-chinesa Eikoo (HORTICERES, 2011) e Kantan CR 80 Híbrida F1 (FELTRIN, 2011) com tolerância à podridão mole.

Controle Alternativo

O homem começou a cultivar plantas para sua alimentação e ao avançar em suas descobertas na área agrícola iniciou um processo de desequilíbrio ambiental que, de certa forma, favoreceu o aparecimento de pragas e doenças. Na antiguidade, o recurso usado para combater tais moléstias era sempre produtos naturais provenientes do próprio meio ambiente. Assim, o homem passou a distinguir plantas potencialmente ativas com função de proteger sua cultura (INNECCO, 2006). Campanhola e Bettiol (2003) relataram que um dos principais problemas da agricultura sustentável refere-se ao controle de doenças, pragas e plantas invasoras. Antes das facilidades para aquisição de agroquímicos visando o controle dos problemas fitossanitários, os agricultores preparavam e utilizavam produtos obtidos a partir de materiais disponíveis nas proximidades de suas propriedades. Com a popularização do uso dos agroquímicos, aqueles produtos foram quase que totalmente abandonados e hoje, muitos deles são chamados de alternativos. Devido à conscientização dos problemas causados ao ambiente, a sociedade vem exigindo a redução do uso de substâncias que possam causar problemas ao homem e meio ambiente e a pesquisa vem testando diversos produtos, muitos dos quais utilizados pelos agricultores há décadas (BETTIOL, 2003).

As substâncias presentes em extratos, frações, látex, óleos essenciais e proteínas de origem vegetal como uma consequência do metabolismo secundário são ricas em compostos de isopreno, denominados de terpenos ou terpenóides. Suas propriedades antimicrobianas são reconhecidas empiricamente há séculos e foram comprovadas cientificamente apenas há poucos anos (ALVES, 2008). Produtos naturais de origem vegetal e seus análogos são uma importante fonte de novos agroquímicos a serem usados no controle de doenças de plantas (SILVA; BASTOS 2007). Os óleos essenciais são substâncias naturais, voláteis, límpidas e raramente coloridas, lipossolúveis e solúveis em solventes orgânicos, com uma densidade geralmente mais baixa do que a da água. São caracterizadas por um forte odor e constituídas por metabólitos secundários de plantas aromáticas (MORAIS, 2009; MORAIS;

GONÇALVES; BETTIOL, 2009). São conhecidos aproximadamente 3000 óleos essenciais, dos quais 300 têm importância comercial para indústrias farmacêutica, alimentícia, de cosméticos e perfumes, e para a agricultura (BAKKALI et al., 2008).

Diversos produtos naturais têm mostrado a capacidade de controlar doenças em plantas, tanto por sua atividade antimicrobiana direta quanto indireta, por indução de resistência (MOTOYAMA et al., 2003). A resistência induzida pode ser ativada em plantas por uma série de substâncias, evitando ou retardando a entrada ou a subsequente atividade do patógeno em seus tecidos, por meio de mecanismos de defesa próprios (ATHAYDE SOBRINHO; FERREIRA; CAVALCANTI, 2005; NOJOSA; RESENDE, M.; RESENDE, A., 2005).

Quanto à ação, os óleos essenciais controlam tanto bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas, leveduras e fungos filamentosos (VIDO, 2009; KNAAF; FIUZA, 2010). Entretanto, a função específica dos óleos essenciais na planta ainda é desconhecida (KNAAK; FIUZA, 2010). Acredita-se que durante desenvolvimento das plantas superiores, terpenóides essenciais são sintetizados para o próprio crescimento, como, por exemplo, reguladores de crescimento (giberelinas), pigmentos e esteróides. Essas substâncias do metabolismo secundário podem agir como inibidores de germinação, como proteção contra predadores, como atração de polinizadores, entre outras funções.

A eficiência do óleo vegetal depende da espécie envolvida, do tipo de doença a ser controlada e dos processos tecnológicos utilizados na obtenção e manipulação do extrato (SILVA; PASCHOLATI; BEDENDO, 2007), além do estágio endogenético da planta e sazonalidade. Existem algumas pesquisas mostrando a eficácia de óleos essenciais na inibição de *P. carotovorum* e no controle da podridão mole. *In vitro*, Costa et al. (2008a) observaram a eficácia do óleo de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) puro inibindo o crescimento de alguns isolados de *P. carotovorum* obtidos de plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) e repolho, sendo a concentração inibitória mínima (CIM) de 4%. Utilizando óleo de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor) puro, Costa et al. (2008b) observaram a eficácia contra alguns isolados de *P. carotovorum*, com halos de inibição variando entre 25 e 35 mm, superando o controle com tetraciclina, com halos entre 18 e 25 mm. A CIM do óleo de citronela foi de 1%. O óleo de manjerição (*Ocimum basilicum* L.) puro inibiu o crescimento de *P. carotovorum* com CIM de 2%, produzindo halos de inibição entre 24 e 28 mm, maiores que os do tratamento controle com tetraciclina (COSTA et al., 2009).

In vivo, os óleos de eucalipto citriodora (*Eucalyptus citriodora* Hook) e laranja doce (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) reduziram significativamente a severidade da podridão mole em alface

em relação à testemunha, não diferindo do tratamento controle com o antibiótico agrícola Mycoshield® (SILVA, 2011)

Óleos essenciais também têm se mostrado eficientes na inibição *in vitro* de outras bactérias fitopatogênicas. Martins et al. (2010) observaram que os óleos essenciais de citronela nas concentrações de 2, 4 e 8%; de alecrim nas concentrações de 4 e 8% e de erva-cidreira (*Melissa officinalis* L.) nas concentrações de 1, 2, 4 e 8% inibiram efetivamente o crescimento de isolados de *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. Paret et al. (2010) usando óleo de capim-limão (*Cymbopogon citratus* Stapf) nas concentrações 0,07 e 0,14% observaram a inibição de 100% do crescimento de *R. solanacearum* raça 4 após 48 h de incubação.

Tratamentos com óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) e de mamona (*Ricinus communis* L.) a 1% reduziram o crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Vauterin et al., respectivamente em 25,6 e 90,2% (RABELLO et al., 2009). No entanto, os óleos essenciais de orégano (*Origanum vulgare* L.), tomilho (*Thymus captatus* L.) e manjerona (*Origanum dictamnus* L.) coletados em diversos locais da Grécia inibiram o crescimento da *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al. em concentrações relativamente baixas (85-300 mg mL⁻¹) (DAFERERA; ZIOGAS; POLISSIOU, 2003).

Pouvova et al. (2008) ao testarem 34 óleos essenciais contra as bactérias *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Spieckermann & Kotthoff) Davis et al. e *C. michiganensis* subsp. *insidiosus* (McCulloch) Davis et al. verificaram que os óleos essenciais de orégano (*O. compactum* L.), cravo (*Eugenia caryophyllata* Thunb.), absinto (*Artemisia absinthium* L.), tomilho (*Thymus vulgaris* L.), pinho da Sibéria (*Abies siberica* L.), manjerição (*Ocimum basilicum* L.) e lima (*Citrus aurantifolius* Swingle) foram os mais eficazes contra as duas bactérias. Outras essências promissoras foram hortelã (*Mentha piperita* L.) e limão (*Citrus limon* L. Burm. F.) contra *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus*, e tagetes (*Tagetes bipinata* L.) e alfazema-brava (*Lavandula latifolia* (L. f.) Medik.) contra *C. michiganensis* subsp. *insidiosus*.

In vivo outros óleos também têm sido eficazes na redução de doenças causadas por bactérias fitopatogênicas. O óleo de nim a 0,5% reduziu o número de lesões causadas por *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye em tomateiro e pimentão e aumentou a produção de pimentões de sadios, sendo recomendado para utilização em pulverizações foliares em programa de manejo da mancha bacteriana (ABBASI; CUPPELS; LAZAROVITS, 2003). Os óleos de metasequoia (*Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu)

e cleistocalyx (*Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr e Perry), aplicados por pulverização em meloeiros (*Cucumis melo* L. var. *makuwa* Makino) reduziram em 100% a porcentagem de folhas infectadas por *X. campestris* pv. *vesicatoria* YK93-4 e *Xanthomonas* sp. SK12 (BAJPAI; CHO; KANG e BAJPAI et al., 2010).

Apesar de não terem sido encontrados trabalhos utilizando óleos essenciais para redução da severidade da podridão mole em couve-chinesa, os relatos acima sugerem o potencial dos mesmos para estudos de controle alternativo nesse patossistema.

Índices de qualidade da couve-chinesa

No caso da utilização de produtos alternativos para o controle de doenças em hortaliças comestíveis *in natura*, como as folhosas, é importante determinar se os tratamentos utilizados não irão alterar a qualidade do produto. A qualidade de frutos e hortaliças corresponde ao conjunto de propriedades que os tornam aceitáveis como alimentos. De um modo abrangente, qualidade pode ser definida como o conjunto de características que diferenciam componentes individuais de um mesmo produto e que têm reflexo na aceitação por parte do consumidor (MAISTRO, 2001). De acordo com Evangelista et al. (2009) esta qualidade e suas características são conferidas por um conjunto de constituintes físico-químicos e químicos, responsáveis pelo sabor e aroma próprios, sendo importantes na sua aceitação. A demanda de vegetais frescos cortados tem crescido devido às suas características de frescor e conveniências e, dessa forma, a qualidade do produto final a ser comercializado é de suma importância para seus consumidores.

Segundo Chitarra, M. e Chitarra, A. (2005) a redução de perdas pós-colheita na cadeia produtiva representa um constante desafio, considerando que a maioria das frutas e hortaliças são órgãos que possuem um alto teor de água e nutrientes e, mesmo depois da colheita, mantém vários processos biológicos, apresentando desta forma maior predisposição a distúrbios fisiológicos, danos mecânicos e ocorrência de podridões. Atualmente, o mercado exige produtos de alta qualidade, o que tem direcionado os produtores a buscarem tecnologias para se adequarem à nova realidade dos consumidores.

Entre os índices de qualidade mais importantes encontram-se as características físico-químicas: teor de ácido ascórbico (vitamina C), acidez total titulável (ATT), potencial hidrogeniônico (pH) e sólidos solúveis totais (°Brix).

As hortaliças são boas fontes de vitamina C e importantes em uma dieta balanceada, especialmente devido ao seu conteúdo de micronutrientes, em particular as vitaminas. Couve, alface, brócolis, couve-flor e repolho contêm quantidades apreciáveis de vitamina C, a

exemplo da couve com média de 77 mg de vitamina C/100g de folhas (MAIA et al., 2008) e repolho com 34 mg de vitamina C/100g de folhas (RODRIGUES, 2005).

A acidez total titulável é resultante dos ácidos orgânicos do próprio alimento, que se encontram dissolvidos nos vacúolos das células, tanto na forma livre como combinada com sais, ésteres e glicosídeos; dos adicionados intencionalmente durante o processamento e daqueles resultantes de alterações químicas do produto. Portanto, a determinação da acidez total pode fornecer dados valiosos na apreciação do processamento e do estado de conservação do alimento (CARVALHO et al., 1990; CHITARRA, M.; CHITARRA, A., 2005).

O pH ou potencial hidrogeniônico é um índice que indica a acidez, neutralidade ou alcalinidade de um meio qualquer. A escala do pH pode variar de 0 até 14, o pH menor que 7 indica que a substância é ácida, um pH maior que 7 indica que a substância é alcalina (básica) e para substância com pH 7 indica que ela é neutra. Vários fatores tornam importante a determinação do pH de um alimento, tais como: influência na palatabilidade, desenvolvimento de microrganismos, escolha da temperatura de esterilização, escolha da embalagem que será utilizada, escolha do tipo de material de limpeza e desinfecção, escolha do equipamento para trabalhar na indústria e escolha de aditivos (CHAVES et al., 2004).

Os sólidos solúveis totais (SST - °Brix), como o próprio nome indica, correspondem a todas as substâncias que se encontram dissolvidas em um determinado solvente, o qual, no caso de alimentos, é a água. São comumente designados de °Brix e podem ser medidos com auxílio de refratômetro. São constituídos principalmente por açúcares, ácidos, vitamina C e algumas pectinas (CHITARRA, M.; CHITARRA, A., 2005).

Outra característica que pode ser observada e considerada importante é a cor, a qual é fator significativo para a maioria dos consumidores (FERREIRA, 1991). Nos alimentos, a medida da cor pode ser representada por normas internacionais, desde a reunião da Commission Internationale d'Eclairage (CIE), realizada em Paris no ano de 1931, na qual se estabeleceu uma nomenclatura conhecida como o sistema CIE. Entre as modificações deste sistema, uma das mais conhecidas e usadas é o sistema Hunter (L, a, b) e CIELab (L*, a*, b*) relatado por Calvo (1989). Os valores de cor são usados em três escalas: L* - mede a luminosidade e varia de 100 para superfícies perfeitamente brancas, até zero para o preto; a* - mede a quantidade de vermelho, quando positivo, cinza, quando zero e verde, quando negativo; b* - mede a quantidade de amarelo, quando positivo, cinza, quando zero e azul, quando negativo.

Sendo a podridão mole fator limitante à produção de couve-chinesa em algumas áreas do estado de Pernambuco e considerando que medidas efetivas de controle da doença são de difícil execução, os objetivos deste trabalho foram: avaliar a ação de óleos essenciais no controle da podridão mole nesta hortaliça e verificar o efeito dos produtos em relação à colorimetria e características físico-químicas da couve-chinesa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASI, P. A.; CUPPELS, D. A.; LAZAROVITS, G. Effect of foliar applications of neem oil and fish emulsion on bacterial spot and yield of tomatoes and peppers. **Canadian Journal Plant Pathology**, Ottawa, v. 25, n. 1, p. 41–48, 2003.

ALVES, K. F. **Controle alternativo da antracnose do pimentão com extratos vegetais**. 2008. 47f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2008.

ATHAYDE SOBRINHO, C.; FERREIRA, P. T. O.; CAVALCANTI, L. S. C. Indutores abióticos. IN: CAVALCANTI, L. S. et al. (Eds.) **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ. 2005.p. 51-80.

BAJPAI, V. K.; CHO, M. J.; KANG, S. C. Control of plant pathogenic bacteria of *Xanthomonas* spp. by the essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu *in vitro* and *in vivo*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 158, n. 7-8, p. 479-486, 2010.

BAJPAI, V. K.; DUNG, N. T.; SUH, H. J.; KANG, S. C. Antibacterial activity of essential oil and extracts of *Cleistocalyx operculatus* buds against the bacteria of *Xanthomonas* spp. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Urbana, v. 87, n. 11, p. 1341-1349, 2010.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, Richmond, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BARROS, M. 2011. **Q-ACELGA**: quantidade comercializada na CEASA [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por <telpreco@ceasape.org.br> em 8 fev. 2011.

BETTIOL, W. Controle de doenças de plantas com agentes de controle biológico e outras tecnologias alternativas. In: CAMPANHOLA C.; BETTIOL, W. **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2003. p. 191-216.

BRENNER, D. J.; FANNING, G. R.; STEIGERWALT, A. G. Deoxyribonucleic acid relatedness among species of *Erwinia* and between *Erwinia* species and other *Enterobacteria*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 110, n. 1, p. 12-17, 1972.

CALVO, C. Atlas de color: fundamentos y aplicaciones. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, Valencia, v. 29, n. 1, p. 15-29, 1989.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. Situação e principais entraves ao uso de métodos alternativos aos agrotóxicos no controle de pragas e doenças na agricultura. In: _____. **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2003., p. 267-279.

CARVALHO, C. W. L.; MANTOVAN, D. M. B.; CARVALHO, P. R. N.; MORAES, R. M. **Análises químicas de alimentos**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1990. 121 p.

CENTRAL DE ABASTECIMENTO DE PERNAMBUCO - CEASA/PE. **Calendário de comercialização e outras informações de hortigranjeiros** - CEASA/PE. Recife: Secretaria de Agricultura, 2010. 4 p.

CHAVES, M. C. V.; GOUVEIA, J. P. G.; ALMEIDA, F. A. C.; LEITE, J. C. A. SILVA, F. L. H. Caracterização físico-química do suco da acerola. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v. 4, n. 2, p. 121-133, 2004.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2ª ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.

COLLMER, A.; KEEN, N. T. The role of pectic enzymes in plant pathogenesis. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 24, p. 382-409, 1986.

COSTA, C. M. G. R.; SANTOS, M. S.; BARROS, H. M. M.; AGRA, P. F. M.; FARIAS, M. A. A. Inibição do crescimento bacteriano *in vitro* de *Erwinia carotovora* pelo óleo essencial de alecrim. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 2, n. 2, p. 7-10, 2008a.

COSTA, C. M. G. R.; SANTOS, M. S.; BARROS, H. M. M.; AGRA, P. F. M.; FARIAS, M. A. A. Óleo essencial de citronela no controle da bactéria fitopatogênica *Erwinia carotovora*. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 2, n. 2, p. 11-14, 2008b.

COSTA, C. M. G. R.; SANTOS, M. S.; BARROS, H. M. M.; AGRA, P. F. M.; FARIAS, M. A. A. Efeito inibitório do óleo essencial de manjeriço sobre o crescimento *in vitro* de

- Erwinia carotovora*. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 3, n. 3, p. 35-38, 2009.
- DAFERERA, D. J.; ZIOGAS, B. N.; POLISSIOU, M. G. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Crop Protection**, Guildford, v. 22, p. 39-44, 2003.
- DE BOER, S. H.; KELMAN, A. *Erwinias* soft rot group. In: SCHAAD, N. W.; JONES, J. B.; CHUN, W. (Eds.) **Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria**. 3^a ed. Saint Paul: APS, 2001. p. 56-72.
- DUARTE, V.; EL TASSA, S. O. M. Taxonomia do gênero *Pectobacterium*. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 11, p. 1-41, 2003.
- EMBRAPA HORTALIÇAS. 2010. **Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças**. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/util/tabelahortalias.htm>>. Acesso em: 04 maio 2011.
- EVANGELISTA, R. M.; VIEITES, R. L.; CASTRO, P. S.; RALL, V. L. M. Qualidade de couve-chinesa minimamente processada e tratada com diferentes produtos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 2, n. 29, p. 324-332, 2009.
- FELTRIN. **Feltrin Sementes**. Disponível em: <<http://www.sementesfeltrin.com.br/produtos-detalle-couve-chinesa-kantan-cr-80-hibrida-f1>>. Acesso em 05 jun. 2011.
- FERREIRA, V. L. P. **Princípios e aplicações da calorimetria em alimentos**. Campinas: ITAL, 1991. 86 p.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção de hortaliças**. 2^a ed. Viçosa: UFV, 2003. 412 p.
- GOTO, M. **Fundamentals of bacterial plant pathology**. San Diego: Academic Press, 1992. 324 p.
- GUDMESTAD, N.; SECOR, G. The bionomics of *Erwinia carotovora* in North Dakota. **American Potato Journal**, New Brunswick, v. 60, p. 759-771, 1983.
- HAYWARD, A. C.; MARIANO, R. L. R. Mecanismos de virulência e patogenicidade de procariotos em plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 5, p. 199-234, 1997.

HORTICERES. **Hortikeres Sementes**. Disponível em: <<http://www.horticeres.com.br/2009/index.php?go=prt+produtos+desc+111>> Acesso em 04 jun. 2011.

HYMAN, L. J.; TOTH, I. K.; PÉROMBELON, M. C. M. Isolation and identification. In: PÉROMBELON, M. C. M.; VAN DER WOLF, J. M. **Methods for the detection and quantification of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum*) on potatoes: a laboratory manual**. 2^a ed. Invergowrie: Scottish Crop Research Institute, 2002. p. 66-59.

INNECCO, R. Uso de óleos essenciais como defensivo agrícola. Pará. In: III Congresso Brasileiro de Defensivos Agrícolas Naturais, Belém, 2006, **Palestras**. Embrapa: Belém, 2006, 158p.

JABUONSKI, R. E.; REIFSCHNEIDER, F. J. B.; TAKATSU, A. Influência da temperatura no dano causado por *Erwinia* spp. em tubérculos de batateira. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 13, n. 4, p. 317-319, 1988.

KIKUMOTO, T. Ecology and biocontrol of soft rot of Chinese cabbage. **Journal of General Plant Pathology**, Tokyo, v. 66, n. 3, p. 275-277, 2000.

KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and Conservation**, São Leopoldo, v. 5, n. 2, p. 120-132, 2010.

MAIA, G. E. G.; PASQUI, S. C.; LIMA, A. S.; CAMPOS, F. M. Determinação dos teores de vitamina C em hortaliças minimamente processadas. **Alimentos e Nutrição / Brazilian Journal of Food and Nutrition**, Araraquara, v.19, n.3, p. 329-335, 2008.

MAISTRO L. C. Alface minimamente processada: uma revisão. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.14, n.3, p. 219-224, 2001.

MALAVOLTA JR., V. A.; BERIAM, L. O. S.; ALMEIDA, I. M. G.; NETO, J. R.; ROBBS, C. F. Bactérias fitopatogênicas assinaladas no Brasil: uma atualização. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, suplemento especial, p. 9-88, 2008.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; OLIVEIRA, I. S.; NASCIMENTO, A. R. P. Diagnose e manejo de fitobacterioses de importância no nordeste Brasileiro. In: MICHEREFF, S. J.; BARROS, R. (Eds.). **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife: Imprensa Universitária, UFRPE, 2001. 368 p.

MARINGONI, A. C. Doenças das crucíferas (brócolis, couve, couve-chinesa, couve-flor, rabanete, repolho e rúcula). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doença das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p. 285-291.

MAROTO-BORREGO, J. V. M. **Horticultura herbácea especial**. Madrid: Mundi-Prensa, 1995. 615 p.

MARTINS, E. S. C. S.; FARIAS, A. A.; SANTOS, M. S.; BARROS, H. M. M. Efeito dos óleos essenciais de citronela, alecrim e erva-cidreira no controle *in vitro* de *Ralstonia solanacearum* em pimentão. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 4, n. 1, p. 9-13, 2010.

MELLO, M. R. F. **Eficiência de indutores e antibióticos no controle da podridão mole em couve-chinesa**. 2009. 102f. Tese (Doutorado em Fitopatologia). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.

MORAIS, L. A. S. Óleos essenciais no controle fitossanitário. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Eds.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 139-152.

MORAIS, L. A. S.; GONÇALVES, G. G.; BETTIOL, W. Óleos essenciais no controle de doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 17, p. 257-304, 2009.

MOTOYAMA, M. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; FIORI, A. C. G.; SCAPIM, C. A. Efeito antimicrobiano de extrato cítrico sobre *Ralstonia solanacearum* e *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. **Acta Scientiarum, Agronomy**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 509-512, 2003.

NAMUR, R. T. **Influência do tamanho de muda na ocorrência de mancha de alternaria em diferentes híbridos de couve-chinesa, nas estações de inverno e verão**. 2008. 33f. Monografia (Graduação em Agronomia). Universidade Estadual de Ponta Grossa, Paraná. 2008.

NOJOSA, G. B. A.; RESENDE, M. L. V.; RESENDE, A. V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Eds.) **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 139-153.

PARET, M. L.; CABOS, R.; KRATKY, B. A.; ALVAREZ, A. M. Effect of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* race 4 and bacterial wilt of edible ginger. **Plant Disease**, St. Paul, v. 94, n. 5, p. 521-527, 2010.

PÉROMBELON, M. C. M. Potato diseases caused by soft rot *Erwinias*: overview of pathogenesis. **Plant Pathology**, Oxford, v. 51, p. 1-12, 2002.

PÉROMBELON, M. C. M.; KELMAN, A. Ecology of the soft rot erwinias. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 18, p. 361-387, 1980.

PÉROMBELON, M. C. M.; KELMAN, A. Blackleg and other potato diseases caused by soft rot *Erwinias*: Proposal for revision of terminology. **Plant Disease**, St. Paul, v. 71, n. 3, p. 283-285, 1987.

POUVOVA, D.; KOKOSKOVA, B.; PAVELA, R.; RYSANEK, P. Effectivity of plant essential oils against *Clavibacter michiganensis*, *in vitro*. **Zemdirbyste-Agriculture**, Lituana, v. 95, n. 3, p. 440-446, 2008.

RABELLO, L. K. C.; RODRIGUES, A. A.; BREMENKAMP, D. M.; NETO, G. S.; GONÇALVES, A. O.; ALVES, F. R.; JESUS JÚNIOR, W. C. **Efeito dos óleos de nim e mamona no controle “in vitro” de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris***. 2009. Disponível em: <http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2009/anais/arquivos/RE_1138_1284_01.pdf> Acesso em: 29 nov. 2010.

RAID, R. N. Soft rot of lettuce. In: Davis, R. M.; SUBBARAO, K. V.; RAID, R. N.; KURTZ, E. A. (Eds.) **Compendium of lettuce diseases**. St. Paul: APS Press, 1997. p. 30-31.

REN, J.; PETZOLDT, R.; DICKSON, M. H. Genetics and population improvement resistance to bacterial soft in Chinese cabbage. **Euphytica**, Wageningen, v. 117, n. 3, p. 197-207, 2001.

RODRIGUES, C. M. A. **Avaliação e controle de perdas de vitamina C em hortaliças preparadas em restaurante comercial e institucional**. 2005. 99f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) - Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

ROMEIRO, R. S. **Bactérias fitopatogênicas**. 2ª ed. Viçosa: Imprensa Universitária, UFV, 2005. 283p.

SEO, S. T.; TAKANAMI, Y. Characterization of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* strain on the basis of cellular fatty acid composition. **Journal of the Faculty of Agriculture (Kyushu University)**, Fukuoka, v. 46, p. 251-256, 2002.

SILVA, A. M. F. **Levantamento da intensidade da podridão mole da alface e couve-chinesa nas regiões da Mata e Agreste do estado de Pernambuco e determinação do tamanho das amostras para avaliação da incidência da doença.** 2005. 56f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2005.

SILVA, C. L. **Ação de óleos essenciais e extratos vegetais sobre a podridão mole em alface crespa.** 2011. 56f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2011.

SILVA, D. M. M. H.; BASTOS, C. N.; Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de Piper sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p.143-145, 2007.

SILVA, R. F.; PASCHOLATI, S. F.; BEDENDO, I. P. Indução de resistência em tomateiro por extratos aquosos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 3, p.189-196. 2007.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II.** Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005. 640p.

TOKESHI, H.; CARVALHO, P. C. T. Doenças do tomateiro - *Lycopersicon esculentum* Mill. In: GALLI, F. (Coord.) **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas.** 2^a ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. v. 2, p. 236-250.

TOTH, I. A.; BELL, K. S.; HOLEVA, M. C.; BIRCH, P. R. J. Soft rot Erwiniae: from genes to genomes. **Molecular Plant Pathology**, London, v. 4, p. 17-13, 2003.

VIDO, D. L. R. **Comparação da composição química e das atividades biológicas dos óleos essenciais de folhas de populações de *Hedyosmum brasiliense* Mart. ex Miq. provenientes da Serra do Mar e da Serra da Mantiqueira (Mata Atlântica).** 2009. 101f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) - Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, 2009.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; COSTA, H. **Controle de doenças de plantas hortaliças.** 2^a ed. Viçosa: UFV, 2000. v. 2, p. 445-521.

CAPÍTULO II

**ÓLEOS ESSENCIAIS PARA CONTROLE DA PODRIDÃO MOLE EM
COUVE-CHINESA**

Óleos essenciais para controle da podridão mole em couve-chinesa

Myrzânia L Guerra; Yrlânia L Guerra; Elineide B Souza; Rosa LR Mariano

UFRPE - Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife-PE; myrzgue@gmail.com, rmbac@gmail.com

RESUMO

Avaliou-se a ação de óleos essenciais no controle da podridão mole em couve-chinesa e sua influência na colorimetria e características físico-químicas da hortaliça. Testes para fitotoxidez selecionaram 11 óleos. Em casa de vegetação, plantas da cv. Natsume foram pulverizadas com os óleos de bergamota, capim limão, copaíba, eucalipto citriodora, eucalipto globulus, funcho de erva-doce, gengibre, hortelã, laranja doce, limão, sálvia esclaréia (0,5%) e o antibiótico Mycoshield[®] (3g L⁻¹), sendo inoculadas após 72 h com *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc-c). Avaliou-se a severidade da doença a cada seis horas até 48 h, determinando-se a severidade final (SEV) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Os óleos e o Mycoshield[®] reduziram similarmente a SEV e a AACPD. O óleo de hortelã e o Mycoshield[®] reduziram a SEV em 53,1 e 38,8% e a AACPD em 37,0 e 27,5%, respectivamente. Os óleos de bergamota, copaíba, eucalipto citriodora, hortelã e laranja doce foram selecionados para a continuidade dos estudos e testados quanto à estabilidade da eficácia de controle em relação a três isolados de Pcc. A interação óleos x isolados não foi significativa (P≤0,05). Os cinco óleos reduziram a SEV e AACPD sem diferirem entre si ou do Mycoshield[®] exceto o de copaíba. *In vitro*, o patógeno não foi inibido pelos cinco óleos (0,5%), mas apenas pelo Mycoshield[®]. Utilizando a técnica da placa sobreposta, o crescimento de Pcc-c foi inibido apenas pelas substâncias voláteis dos óleos de hortelã e bergamota (pH 7,0) e copaíba (pH 8,0). A colorimetria das folhas da couve-chinesa, o teor de ácido ascórbico e o pH das plantas tratadas com os cinco óleos não foram alterados considerando a testemunha sem Pcc-c. A acidez titulável foi elevada pelo óleo de hortelã e o °Brix pelos óleos de laranja doce, eucalipto citriodora e bergamota.

Palavras-chave: *Brassica pekinensis*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, controle alternativo, colorimetria, características físico-química

34 **ABSTRACT**

35

36 **Essential oils for control of soft rot in Chinese cabbage**

37 It was evaluated the action of essential oils in controlling soft rot in Chinese cabbage
38 and their influence in colorimetry and physicochemical characteristics of this vegetable.
39 Preliminary fitotoxicity tests selected 11 oils. In the greenhouse, plants of cv. Natsume
40 were sprayed with the oils of bergamot, lemon grass, copaiba, eucalyptus citriodora,
41 eucalyptus globulus, fennel, ginger, mint, sweet orange, lemon and clary sage (0.5%)
42 and the antibiotic Mycoshield[®] (3 g L⁻¹), and inoculated with *P. carotovorum* subsp.
43 *carotovorum* (Pcc-c) after 72 h. The disease severity was evaluated every six hours until
44 48 h, and the final severity (SEV) and area under the disease progress curve (AUDPC)
45 were determined. The 11 oils and Mycoshield[®] reduced similarly SEV and AUDPC
46 compared to control. The mint oil and Mycoshield[®] reduced SEV in 53.1 and 38.8%
47 and AUDPC in 37.0 and 27.5%, respectively. The oils of bergamot, copaiba, eucalyptus
48 citriodora, mint and sweet orange were selected for further studies and tested for
49 stability of the effectiveness of disease control in relation to three strains of Pcc. The
50 interaction oils x strains was not significant ($P \leq 0.05$). The five oils reduced the SEV and
51 AUDPC without differences between themselves or from Mycoshield[®], except for
52 copaiba oil. *In vitro* the pathogen was not inhibited by the five oils but only by
53 Mycoshield[®]. The technique of overlapping plates shows that Pcc-c growth was
54 inhibited only by the volatile compounds of mint and bergamot oils at pH 7.0, and by
55 copaiba oil at pH 8.0. The colorimetry of Chinese cabbage leaves, the ascorbic acid
56 content and the pH of the plants treated with those five oils have not changed compared
57 to the control without Pcc-c. The acidity was elevated by mint oil and total soluble
58 solids (°Brix) by the oils of sweet orange, eucalyptus citriodora and bergamot.

59 **Keywords:** alternative control, *Brassica pekinensis*, colorimetry, *Pectobacterium*
60 *carotovorum* subsp. *carotovorum*, physicochemical characteristics

61 **(Recebido para publicação em ___/___/ 2011; aceito em ___/___/ 2011)**

62

63 A couve-chinesa (*Brassica pekinensis* L.) é uma hortaliça muito cultivada pelo
64 seu valor nutricional. Não contém colesterol, é pobre em calorias e se destaca como
65 excelente fonte de cálcio, potássio, vitaminas A, C e ácido fólico (Tessaro *et al.*, 2009),
66 sendo muito apreciada pela culinária oriental.

67 No estado de Pernambuco esta hortaliça é predominantemente plantada nas
68 mesorregiões da Mata e Agreste Pernambucanos, destacando-se como principais
69 produtores os municípios Vitória de Santo Antão e Chã Grande (Ceasa/PE, 2010). No
70 ano de 2010, a Central de Abastecimento (Ceasa/PE) registrou um total de 151
71 toneladas comercializadas (Barros, 2011).

72 Apesar da adaptação da couve-chinesa às condições edafo-climáticas
73 predominantes nas mesorregiões da Mata e Agreste Pernambucanos, inúmeros fatores
74 têm contribuído para a queda de produtividade, destacando-se a ocorrência de doenças
75 (Silva *et al.*, 2007). Dentre estas, a podridão mole, causada por *Pectobacterium*
76 *carotovorum* subsp. *carotovorum* (Jones) Hauben et al. ocupa posição de destaque, pois
77 em levantamento epidemiológico realizado na mesoregião do Agreste Pernambucano
78 foi constatada prevalência da podridão mole de 100% e incidência variando de 1 a 67%
79 (Silva *et al.*, 2007).

80 Os sintomas da podridão mole em couve-chinesa se iniciam na base e nervura
81 das folhas, observando-se a maceração destes tecidos, que ficam em contato com o solo
82 infestado. A podridão mole progride rapidamente para o caule, resultando no colapso de
83 toda a planta. Além do campo, os sintomas da doença podem ocorrer durante a pós-
84 colheita, transporte e estocagem (Ren *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2007). O controle da
85 doença é dificultado pela ampla gama de hospedeiros e sobrevivência do patógeno em
86 restos de cultura no solo (Ren *et al.*, 2001). Práticas culturais recomendadas, tais como
87 erradicação de plantas doentes, destruição de restos culturais e rotação de culturas com
88 gramíneas, são pouco utilizadas e substituídas pelo controle químico, em geral
89 ineficiente.

90 Os problemas trazidos pelo uso indiscriminado de agroquímicos impulsionaram
91 o resgate da utilização de substâncias naturais biologicamente ativas contra pragas e

92 doenças de plantas, levando ao desenvolvimento de sistemas de cultivos mais
93 sustentáveis. Dentre estas substâncias, estão os óleos essenciais (Morais, 2009).

94 Os óleos essenciais são metabólitos secundários de plantas aromáticas, voláteis,
95 lípidos e raramente coloridos, lipossolúveis e solúveis em solventes orgânicos, com
96 densidade geralmente mais baixa do que a da água e têm forte odor (Morais, 2009). São
97 conhecidos pelas suas atividades bactericidas, fungicidas, propriedades medicamentosas
98 e flavorizantes. Dentre seus componentes, os compostos fenólicos são os mais ativos e
99 agem, aparentemente, aumentando a permeabilidade das membranas. A atividade
100 antibacteriana dos óleos essenciais pode ser afetada pelo método de extração do óleo,
101 concentração utilizada, fase de crescimento do patógeno-alvo, meio de cultura, pH do
102 meio, tempo de incubação e temperatura (Burt, 2004).

103 Na agricultura, os estudos realizados com óleos essenciais são encontrados
104 principalmente testando a atividade destes produtos *in vitro* contra patógenos,
105 principalmente fúngicos, o que alicerça este método como promissor, desde que tenha a
106 eficiência comprovada com estudos *in vivo* (Morais, 2009). Esta recomendação deve ser
107 ainda mais enfatizada no controle de fitobacterioses, onde um número ainda menor de
108 trabalhos tem sido realizado nas condições ecológicas de uso do produto (Huang &
109 Lakshman, 2010; Paret *et al.*, 2010). Na literatura consultada, nenhum trabalho foi
110 encontrado utilizando óleos para controle da podridão mole em couve-chinesa. No
111 entanto, a utilização de sementes moídas de nabo (*Brassica napus* L.) e extrato aquoso
112 de tomateiro (*Solanum lycopersicon* L.) resultou, respectivamente, em 56 e 28% de
113 controle desta doença em cebola (*Allium cepa* L.) (Kowalska & Smolinska, 2008). Mais
114 recentemente foi demonstrado que o óleo de eucalipto citriodora (*Eucalyptus citriodora*
115 Hook) a 0,5% reduziu eficientemente a severidade da podridão mole da alface em casa
116 de vegetação não diferindo do antibiótico agrícola Mycoshield[®] (Silva, 2011). Por outro
117 lado, nos estudos *in vitro*, a inibição do crescimento de isolados de *P. carotovorum*
118 subsp. *carotovorum* tem sido obtida pelos óleos essenciais de alecrim (*Rosmarinus*
119 *officinalis* L.) e manjerição (*Ocimum basilicum* L.) (Costa *et al.*, 2008a), citronela
120 (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor.) (Costa *et al.*, 2008b) e capim-limão
121 (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) (Jeong *et al.*, 2009).

122 Na utilização de produtos alternativos para controle de doenças em hortaliças
123 comestíveis *in natura*, como as folhosas, é necessário determinar se os tratamentos

124 utilizados irão alterar a qualidade do produto vegetal. Dentre os índices de qualidade
125 mais importantes encontram-se a colorimetria e as características físico-químicas: ácido
126 ascórbico (vitamina C), acidez total titulável, pH e sólidos solúveis (Chitarra &
127 Chitarra, 2005).

128 Considerando que em algumas áreas do estado de Pernambuco, a podridão mole
129 é fator limitante à produção de couve-chinesa e que medidas efetivas de controle da
130 doença são de difícil execução, os objetivos deste trabalho foram: avaliar a ação de
131 óleos essenciais no controle da podridão mole nesta hortaliça e verificar o efeito dos
132 produtos em relação à colorimetria e características físico-químicas da couve-chinesa.

133

134 MATERIAL E MÉTODOS

135

136 **Obtenção do isolado de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum***

137 O isolado de *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc-c) foi obtido de planta de
138 couve-chinesa com sintomas de podridão mole em plantio no município de Chã Grande,
139 Pernambuco, Brasil. Em laboratório, foi efetuado o isolamento seletivo em pimentão
140 (*Capsicum annuum* L.) e o teste de patogenicidade (Mariano & Silveira, 2005). A
141 identificação foi realizada segundo De Boer & Kelman (2001), seguindo-se preservação
142 em água destilada esterilizada (ADE) (Mariano & Silveira, 2005) e armazenamento na
143 Coleção de Culturas do Laboratório de Fitobacteriologia da Universidade Federal Rural
144 de Pernambuco. Para utilização nos experimentos, o isolado Pcc-c foi cultivado em
145 meio CPG (caseína hidrolisada 1 g, peptona 10 g, dextrose 10 g, ágar 18 g, água
146 destilada 1000 mL) por 36 h a temperatura de $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Após este período, ADE foi
147 adicionada a placa de Petri contendo o crescimento bacteriano e a concentração da
148 suspensão foi ajustada em fotocolorímetro (Analyser[®]) a 570 nm de absorbância, de
149 acordo com equação pré-estabelecida, onde $A_{570} = 0,36$ equivale a $1,0 \times 10^9$ UFC mL⁻¹.

150

151 **Obtenção dos óleos essenciais**

152 Os óleos essenciais de bergamota (*Citrus aurantium* var. *bergamia* L.), canela
153 (*Cinnamomum zeylanicum* Benth.), capim limão (*Cymbopogon citratus* Stapf), copaíba
154 (*Copaifera officinalis* (Jacq.) L.), eucalipto citriodora, eucalipto globulus (*Eucalyptus*
155 *globulus* Labill), funcho de erva-doce (*Foeniculum vulgare* var. *dulce* Mill.), gengibre

156 (*Zingiber officinale* Roscoe), hortelã (*Mentha piperita* L.), laranja doce (*Citrus sinensis*
157 (L.) Osbeck), limão (*Citrus limon* L. Burm. F.) e sálvia esclaréia (*Salvia sclarea* L.),
158 todos 100% puros e naturais, da marca Bioessência (Indústria Bioessência Produtos
159 Naturais Ltda., São Paulo, Brasil) foram adquiridos em estabelecimento comercial.
160 Estes óleos foram escolhidos com base em pesquisa bibliográfica direcionada para o
161 controle alternativo de doenças de plantas causadas por fitopatógenos. Foi também
162 considerada a disponibilidade do óleo essencial escolhido. No decorrer dos
163 experimentos, os óleos foram armazenados em frascos de vidro cor âmbar, em
164 laboratório a temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

165

166 **Plantio de couve-chinesa**

167 Em todos os experimentos foi utilizada a couve-chinesa híbrido Natsume (AF-
168 75) (Sakata Seed Sudamerica, Bragança Paulista - SP), um dos principais plantados nos
169 municípios produtores desta hortaliça, em Pernambuco. Em casa de vegetação, foi
170 realizado o semeio em bandejas de poliestireno com substrato agrícola comercial
171 Basaplant[®] (Base Agro Indústria e Comércio Ltda., São Paulo, Brasil) e após 15 dias foi
172 feito o transplântio para vasos plásticos com capacidade de 1000 mL contendo a mistura
173 solo esterilizado e húmus, na proporção 2:1 (v:v). As plantas foram mantidas em casa
174 de vegetação, onde a temperatura variou de 25 a 40°C, sendo irrigadas conforme a
175 necessidade.

176

177 **Efeito de óleos essenciais na redução da severidade da podridão mole em** 178 **plantas de couve-chinesa**

179 ***Teste de Fitotoxicidade***

180 Os 12 óleos essenciais foram diluídos em água destilada para obtenção das
181 concentrações de 0,0; 0,3; 0,5; 0,8; 1,0 e 1,5 %, misturados com o Tween 20 na
182 proporção de 1:1, submetidos à agitação e aplicados com atomizador manual em plantas
183 de couve-chinesa com 40 dias de idade, até completo molhamento da superfície foliar.
184 A avaliação da fitotoxicidade constou da observação do surgimento de anormalidades no
185 desenvolvimento ou na coloração das plantas até 48 horas após a aplicação dos
186 tratamentos.

187 O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 12
188 x 6, constituídos por 12 óleos essenciais e seis concentrações. Cada tratamento teve
189 cinco repetições, constituídas por uma planta.

190

191 ***Redução da severidade da podridão mole em plantas de couve-chinesa***

192 Os óleos essenciais na concentração de 0,5% foram pulverizados nas plantas de
193 couve-chinesa como descrito anteriormente. Como parâmetro de comparação foi
194 utilizado o antibiótico agrícola Mycoshield® contendo 200g kg⁻¹ de oxitetraciclina na
195 concentração de 3g L⁻¹ de água. Três dias após estes tratamentos, as plantas foram
196 inoculadas com Pcc-c na base do pecíolo da segunda e terceiras folhas pelo método de
197 picada. Este método consiste no ferimento do tecido vegetal com auxílio de um alfinete
198 na profundidade de 1 mm de comprimento, seguindo-se a deposição de 10 µL da
199 suspensão bacteriana (1,0 x 10⁹ UFC mL⁻¹) (Mariano & Silveira, 2005). Após a
200 inoculação, as plantas foram submetidas à câmara úmida constituída por sacos plásticos
201 umedecidos durante seis horas, em casa de vegetação (33 ± 2°C).

202 As avaliações foram realizadas a intervalos de seis horas, até 48 horas após a
203 inoculação, observando-se a severidade da doença, estimada com o auxílio de escala
204 descritiva de 1 a 9 (Ren *et al.*, 2001), onde: 1= sem lesão no ponto de inoculação; 2 =
205 lesões menores que 5 mm; 3 = lesões entre 5 e 10 mm; 4 = lesões maiores que 10 mm,
206 porém não atingindo as folhas; 5 = lesão alcançando o limbo foliar e o caule principal; 6
207 = caule infectado, porém sem atingir as folhas não inoculadas; 7 = caule e folhas não
208 inoculadas infectadas; 8 = planta inteira próxima a morte e 9 = planta morta. Com os
209 dados da severidade foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença
210 (AACPD), calculada conforme Shaner & Finney (1977) pela expressão: AACPD = [Σ
211 (y_i + y_{i+1})/2. dti]/n, onde y_i e y_{i+1} são os valores de severidade observados em duas
212 avaliações consecutivas, dti o intervalo entre as avaliações e n a duração do período de
213 avaliação. Foi ainda computada a severidade final (SEV).

214 O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 13 tratamentos:
215 11 óleos essenciais, Mycoshield® e testemunha. Cada tratamento teve cinco repetições,
216 constituídas por uma planta.

217

218 **Eficácia de óleos essenciais na redução da severidade da podridão mole**
219 **causada por diferentes isolados de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum***

220 Foram testados os óleos de bergamota, copaíba, eucalipto citriodora, hortelã e
221 laranja doce a 0,5%, selecionados no experimento anterior para a continuidade dos
222 estudos, juntamente com três diferentes isolados de *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*
223 (Pcc-c; Pcc A1-1 e Pcc 83). Estes isolados são oriundos de plantas de couve-chinesa
224 com sintomas da podridão mole do município de Chã Grande-PE.

225 Toda metodologia, incluindo tratamento, inoculação, incubação e avaliação foi
226 similar a do primeiro experimento. O delineamento experimental foi inteiramente
227 casualizado, em arranjo fatorial 7 x 3, representados por sete tratamentos (cinco óleos
228 essenciais, Mycoshield[®] e testemunha) e três isolados do patógeno. Cada tratamento
229 teve cinco repetições, constituídas por uma planta.

230
231 **Colorimetria e análise físico-química de folhas de couve-chinesa**

232 Neste experimento foi avaliado o efeito de óleos essenciais sobre a colorimetria
233 e as características físico-químicas de plantas de couve-chinesa após a inoculação com
234 Pcc-c. Toda metodologia, incluindo tratamento, inoculação, incubação e avaliação foi
235 similar a do primeiro experimento. Foram analisados os óleos essenciais de bergamota,
236 copaíba, eucalipto citriodora, hortelã e laranja doce a 0,5%; o antibiótico agrícola
237 Mycoshield[®], 3g L⁻¹; testemunha 1 (tratada com água, inoculada com Pcc-c) e
238 testemunha 2 (tratada com água, sem Pcc-c, ou seja, planta sadia). Três dias após a
239 aplicação dos tratamentos, as plantas de couve-chinesa (exceto a testemunha 2) foram
240 inoculadas com Pcc-c e mantidas durante 48 h em casa de vegetação (35±2°C).

241 Decorrido este tempo, as plantas foram coletadas e levadas ao Laboratório de
242 Floricultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco onde a colorimetria foi
243 determinada utilizando-se um colorímetro (CR-10 Konica Minolta) operando em
244 sistema CIELab, calibrado com a cor branca (Costa, 2009). Foram obtidos os valores de
245 L*, a*, b*; onde L representa a luminosidade, a* define a transição da cor verde (-a*)
246 para o vermelho (+a*) e b* representa a transição da cor azul (-b*) para a cor amarela
247 (+b*). As medidas foram realizadas com cinco repetições, obtendo-se os valores médios
248 de L*, a* e b*.

249 Em seguida, as plantas foram levadas ao Laboratório de Patologia Pós-Colheita
250 da Universidade Federal Rural de Pernambuco para análise. As folhas foram trituradas
251 em centrífuga doméstica e avaliadas quanto aos teores de sólidos solúveis totais (SST),
252 segundo Freire *et al.* (2009); ácido ascórbico (vitamina C), utilizando-se o método de
253 Tillman modificado (Bezerra Neto & Barreto, 2004; Zenebon *et al.*, 2008); e acidez
254 total titulável (AT) e potencial hidrogeniônico (pH), determinados seguindo a
255 metodologia descrita por Evangelista *et al.* (2009).

256 O experimento teve delineamento inteiramente casualizado, com oito
257 tratamentos e cinco repetições, constituídas por uma planta.

258

259 **Efeito *in vitro* de óleos essenciais e antibiótico agrícola Mycoshield® no** 260 **crescimento de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum***

261 Para verificar o efeito dos óleos essenciais de bergamota, copaíba, eucalipto
262 citriodora, hortelã e laranja doce sobre o crescimento de *P. carotovorum* subsp.
263 *carotovorum*, foi realizado o teste do antibiograma em discos.

264 A suspensão bacteriana foi preparada com ADE a partir do isolado Pcc-c
265 cultivado em meio CPG por 36 h a 28°C, sendo a concentração ajustada para $1,0 \times 10^9$
266 UFC mL⁻¹, conforme já descrito. A cada 100 mL de meio CPG fundente, uma alíquota
267 de 2 mL de suspensão foi adicionada, homogeneizando-se e distribuindo-se em placas
268 de Petri. Após a solidificação do meio, discos de papel de filtro contendo os cinco óleos
269 a 0,5%, o Mycoshield® 3g L⁻¹ e ADE (testemunha) foram distribuídos
270 equidistantemente em cada placa. A incubação foi feita a 29°C durante 24 h e a
271 avaliação realizada medindo-se os halos de inibição com o paquímetro. O delineamento
272 experimental foi inteiramente casualizado com sete tratamentos e quatro repetições,
273 constituídas por uma placa com cinco discos.

274 Para detecção da atividade antibacteriana das substâncias voláteis em diferentes
275 pHs foi utilizada a técnica da placa sobreposta (Dick & Hutchinson, 1966) com algumas
276 modificações. O meio de cultura CPG antes de autoclavado teve o pH ajustado para 6,0;
277 7,0 e 8,0. Parte deste meio foi vertida em bases de placas de Petri descartáveis, onde
278 após solidificação, alíquotas de 0,1 mL de suspensão bacteriana ($1,0 \times 10^3$ UFC mL⁻¹)
279 foram plaqueadas. À outra parte do meio, foram adicionados os óleos para obter uma
280 concentração final de 0,5%, sendo estes vertidos em bases de outras placas de Petri

281 descartáveis, de tamanho correspondente. Após esfriamento, as bases das placas (uma
282 contendo a suspensão bacteriana e a outra contendo o óleo) foram sobrepostas e unidas
283 com filme plástico transparente, para evitar a perda de qualquer substância volátil. A
284 incubação foi realizada a 29°C durante 24 h, avaliando-se o número de colônias por
285 placa. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 7 x
286 3, representado por sete tratamentos (cinco óleos a 0,5%, Mycoshield® 3g L⁻¹ e ADE) x
287 três pHs (6,0; 7,0 e 8,0); com três repetições representadas por uma placa, cada.

288

289 **Análises estatísticas**

290 Todos os experimentos foram repetidos. Os dados foram submetidos à análise de
291 variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (P≤0,05), exceto para a
292 colorimetria onde foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis (P≤0,05). As análises foram
293 realizadas com o auxílio do programa STATISTIX® (versão 9.0, Analytical Software,
294 Tallahassee).

295

296 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

297

298 **Obtenção do isolado de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum***

299 Em todos os experimentos foi utilizado o isolado Pcc-c. A identificação
300 preliminar deste isolado foi feita em meio CPG, no qual colônias de *Pectobacterium*
301 com 36-48 h, visualizadas sob lupa com iluminação oblíqua, apresentam aspecto
302 característico de “vidro quebrado” (De Boer & Kelman, 2001). O isolado Pcc-c foi
303 Gram-negativo, oxidase negativo, catalase positivo, com metabolismo fermentativo-
304 oxidativo, causou maceração em tecidos de pimentão verde e foi patogênico a plantas de
305 couve-chinesa. A identificação ao nível de espécie e sub-espécie resultou na
306 classificação como *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, caracterizada por crescer a
307 37°C, apresentar resistência a eritromicina, não produzir ácido a partir de sorbitol,
308 produzir ácido a partir de lactose e não utilizar α -metil glucosídeo (De Boer & Kelman,
309 2001).

310

311 **Efeito de óleos essenciais na redução da severidade da podridão mole em**
312 **plantas de couve-chinesa**

313 O óleo essencial de canela causou elevada fitotoxidez em couve-chinesa
314 inclusive na mais baixa concentração testada (0,3%), sendo, portanto, eliminado dos
315 experimentos subsequentes. Além dele, os óleos essenciais de capim limão e bergamota
316 apresentaram fitoxidez nas concentrações de 0,8; 1,0 e 1,5%. É interessante notar que o
317 óleo de canela também foi fitotóxico à alface na concentração de 1,0, mas não de 0,5%
318 (Silva, 2011). A única concentração, na qual todos os óleos essenciais (exceto o de
319 canela) não induziram toxicidade nas plantas foi a de 0,5%, a qual foi utilizada no
320 decorrer do trabalho.

321 Os sintomas de fitotoxidez iniciavam-se uma hora após a aplicação dos óleos e
322 caracterizavam-se em geral pelo surgimento de manchas foliares seguidas por seca
323 foliar e algumas vezes morte da planta. A fitotoxidez ocorre quando o limiar de
324 tolerância de uma planta sob estresse é atingido, sendo caracterizada por lesões
325 irreversíveis ou sintomas crônicos, resultantes da tentativa natural da planta de
326 desintoxicar as células de determinada molécula (Carvalho *et al.*, 2009). A aplicação de
327 óleos fitotóxicos não atende aos pressupostos do controle alternativo de doenças de
328 plantas.

329 Em casa de vegetação, os onze óleos essenciais e o antibiótico agrícola
330 Mycoshield[®] reduziram similarmente ($P \leq 0,05$) a severidade da doença. O óleo de
331 hortelã e o Mycoshield[®] reduziram a SEV em 53,1 e 38,8% e a AACPD em 37,0 e
332 27,5% quando comparados à testemunha (Tabela 1).

333 A análise estatística não mostrou significância ($P \leq 0,05$) para a interação óleos x
334 isolados quando os óleos essenciais de bergamota, copaíba, eucalipto citriodora, hortelã
335 e laranja doce e o Mycoshield[®] foram testados para estabilidade da eficácia de controle
336 da doença em relação a três isolados de *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*. Desta
337 forma, a análise foi realizada fixando o fator óleos, cuja eficácia foi comprovada. Todos
338 os óleos reduziram a severidade da doença (SEV e AACPD), sem diferirem entre si ou
339 do Mycoshield[®] exceto o óleo de copaíba que se mostrou menos eficiente do que o
340 antibiótico em relação à redução da AACPD (dados não apresentados). A redução da
341 SEV pelos óleos variou de 30,5 (copaíba) a 38,6% (bergamota) enquanto a obtida pelo

342 antibiótico agrícola foi de 45,2%. Já a redução da AACPD variou de 20,3 (copaíba) a
343 26,6% (hortelã) comparada a 32,8% do Mycoshield®.

344 A ausência de interação entre óleos e isolados do patógeno é interessante para o
345 controle alternativo prático. Isto significa que estes produtos serão eficazes mesmo
346 quando a doença seja causada por diferentes isolados do patógeno, principalmente
347 conhecendo-se a elevada variabilidade de *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* nesta
348 região (Alvarado *et al.*, 2011).

349 Apesar da ausência de relatos sobre a ação de óleos essenciais no controle da
350 podridão mole em couve-chinesa, existem resultados promissores utilizando esses
351 produtos em alface. Os dados aqui apresentados indicam que os óleos de bergamota,
352 eucalipto citriodora, hortelã e laranja doce foram igualmente eficientes na redução da
353 severidade da doença em couve-chinesa tanto quanto o antibiótico agrícola. Também
354 em alface, o óleo de eucalipto citriodora a 0,5% destacou-se com eficiência similar ao
355 Mycoshield® na redução das variáveis SEV (52,0; 58,7%) e AACPD (37,0; 48,5%)
356 respectivamente (Silva, 2011).

357 No presente trabalho, a eficiência do Mycoshield® no controle da podridão mole
358 da couve-chinesa em casa de vegetação, variou de 27,5 a 38,8% (redução de severidade)
359 e 32,8 a 45,2% (redução da AACPD). Em alface, este antibiótico reduziu estas mesmas
360 variáveis da podridão mole em 58,7 e 48,5%, respectivamente (Silva, 2011); e em
361 couve-chinesa Mello *et al.* (2011) obtiveram redução de 47,4% de severidade; o que
362 indica consistência de resultados para este agroquímico.

363 Alguns outros óleos têm sido eficazes na redução de doenças causadas por
364 bactérias fitopatogênicas. O óleo de nim a 0,5% reduziu o número de lesões causadas
365 por *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye em tomateiro e pimentão e
366 aumentou a produção de pimentões de sadios, sendo recomendado para utilização em
367 pulverizações foliares em programa de manejo da mancha bacteriana (Abbasi *et al.*,
368 2003). Os óleos de metasequoia (*Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu) e
369 cleistocalyx (*Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr e Perry), aplicados por
370 pulverização em meloeiros (*Cucumis melo* L. var. *makuwa*) reduziram em 100% a
371 porcentagem de folhas infectadas por *X. campestris* pv. *vesicatoria* YK93-4 e
372 *Xanthomonas* sp. SK12 (Bajpai *et al.*, 2010a e 2010b).

373 **Colorimetria e análise físico-química em folhas de couve-chinesa**

374 A análise colorimétrica de folhas de couve-chinesa indicou que a luminosidade
375 (L) de plantas tratadas com os óleos de copaíba, laranja doce, hortelã, eucalipto
376 citriodora e bergamota, não diferiu significativamente das testemunhas tratadas com
377 água e com *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*. Apenas o Mycoshield[®] (43,92) elevou
378 significativamente esta luminosidade em relação à testemunha com água (18,17)
379 (Tabela 2). Tanto a coloração verde (-a*) quanto à coloração amarela (+b*) das folhas
380 não foi modificada pela aplicação dos produtos testados, em relação a essa testemunha.

381 Não foram encontrados na literatura consultada trabalhos utilizando a
382 colorimetria em relação à atividade de óleos essenciais no controle da podridão mole em
383 couve-chinesa. Entretanto sabe-se que o aspecto visual das hortaliças folhosas, referente
384 à coloração, tem grande importância na aceitação e aquisição pelo consumidor.
385 Especificamente para a couve-chinesa, o aumento da coloração amarela no produto
386 colhido indica senescência (Able *et al.*, 2005).

387 Na análise físico-química, apenas os teores de ácido ascórbico (vitamina C),
388 acidez titulável, pH e sólidos solúveis totais das folhas de couve-chinesa tratadas com
389 óleo de copaíba não diferiram significativamente da testemunha tratada com água
390 (Tabela 3).

391 Considerando a testemunha tratada com água (testemunha 2), o teor de ácido
392 ascórbico nas plantas não foi alterado pelos cinco óleos testados, sendo apenas elevado
393 pela infecção bacteriana (testemunha 1) e pelo tratamento com o Mycoshield[®]. Da
394 mesma forma, nenhum dos óleos afetou a acidez titulável (% de ácido cítrico), exceto o
395 de hortelã que similarmente ao tratamento com antibiótico e àquele com água + Pcc
396 (testemunha 1), elevaram os valores desta variável. O pH não apresentou alteração entre
397 os diferentes tratamentos e o \square Brix foi significativamente elevado apenas nas plantas
398 tratadas com óleo de laranja doce, eucalipto citriodora e bergamota.

399 Em termos de amplitude geral, o ácido ascórbico variou de 1,80 (bergamota) a
400 3,80 mg 100 g⁻¹ (Mycoshield[®]); a acidez total titulável variou de 0,15 (Testemunha 2,
401 laranja doce e bergamota) a 0,26 (Mycoshield[®]); o pH variou de 6,06 (bergamota) a
402 6,49 (copaíba) e o teor de sólidos solúveis totais de 0,87 (Mycoshield[®]) a 2,16 (óleo
403 essencial de bergamota) (Tabela 3). Estes resultados diferem com relação ao teor de
404 ácido ascórbico 19,5 mg 100 g⁻¹ listado pela Embrapa Hortaliças (2010), uma vez que as

405 plantas utilizadas no presente trabalho tinham apenas 40 dias de cultivo em casa de
406 vegetação. Já a acidez total titulável e o pH estão próximos aos valores 0,13 e em torno
407 de 5,95 encontrados na literatura para couve-chinesa minimamente processada
408 (Evangelista *et al.*, 2009). A elevação do teor de sólidos solúveis totais não foi
409 prejudicial, uma vez que pode variar de acordo com a espécie, a cultivar, o estágio de
410 maturação e o clima. Nas hortaliças, este teor apresenta um valor médio entre 2 e 5%
411 (Chitarra & Chitarra, 2005), o qual não foi ultrapassado quando as aplicações dos óleos
412 foram realizadas.

413 Enfatiza-se a importância de que as plantas de couve-chinesa tratadas com óleos
414 essenciais visando o manejo da podridão mole não tenham suas características físico-
415 químicas alteradas. Havendo alteração de níveis de ácido ascórbico, acidez total
416 titulável, sólidos solúveis totais e pH, será necessário avaliar se o benefício obtido com
417 o controle da doença compensa a perda percentual destas qualidades.

418

419 **Efeito *in vitro* de óleos essenciais e antibiótico agrícola Mycoshield® no**
420 **crescimento da *P. carotovorum* subsp. *carotovorum***

421 No teste de antibiograma em disco, o crescimento de *P. carotovorum* subsp.
422 *carotovorum*, não foi inibido pelos óleos de eucalipto citriodora, bergamota, hortelã,
423 copaíba e laranja doce, mas pelo Mycoshield® que apresentou halo com 29,6 mm de
424 diâmetro.

425 A inibição do crescimento de isolados de *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*
426 tem sido obtida utilizando óleos essenciais de alecrim (Costa *et al.*, 2008a), capim-limão
427 (Jeong *et al.*, 2009), citronela (Costa *et al.*, 2008b), cravo da Índia (Huang & Lakshman,
428 2010) e manjerição (Costa *et al.*, 2009) *in vitro*.

429 A concentração mínima inibitória dos óleos de alecrim, manjerição e capim
430 limão foi de 4,0; 2,0 e 0,5% para diversos isolados desse patógeno (Costa *et al.*, 2008a;
431 2009; Jeong *et al.*, 2009). Os diâmetros dos halos de inibição produzidos variaram para
432 alecrim a 4% (10 a 12 mm), manjerição a 2% (10 a 14 mm) e cravo da Índia a 100%
433 (15,3 a 18,7 mm) (Huang & Lakshman, 2010).

434 O teste para atividade antibacteriana das substâncias voláteis em diferentes pHs
435 foi realizado em consideração a três fatores. Inicialmente, devido à ausência de
436 atividade direta dos óleos sobre o crescimento bacteriano no meio de cultura, utilizando

437 o teste de antibiograma em disco. Em segundo lugar, tendo em vista que alguns óleos
438 essenciais são utilizados como fumigantes no tratamento de substratos para plantio ou
439 solos infestados por fitopatógenos, entre os quais bactérias como *Ralstonia*
440 *solanacearum* (Huang & Lakshman, 2010; Paret *et al.*, 2010). E finalmente, porque o
441 pH poderia ser um fator importante na atividade destas substâncias voláteis (Burt,
442 2004).

443 No teste das placas sobrepostas, para a atividade de substâncias voláteis, houve
444 significância para a interação óleos e pHs no crescimento de Pcc-c em meio de cultura.
445 No pH 6,0, ao qual o meio de cultura é normalmente ajustado, não houve diferença
446 entre óleos, Mycoshield® e testemunha (Tabela 4), indicando que neste pH não houve
447 inibição do patógeno pela atividade de voláteis. Desta forma, neste pH, os dois métodos
448 utilizados, antibiograma em disco e placas sobrepostas, não detectaram atividade
449 antibacteriana.

450 O crescimento de Pcc-c foi inibido apenas pelos óleos de hortelã e bergamota no
451 pH 7,0, e pelo óleo de copaíba no pH 8,0. Considerando os diferentes pHs para a
452 atuação dos óleos, e que no pH 6,0 os óleos não foram eficientes, pode-se concluir que
453 nos pHs 7,0 e 8,0 os óleos de hortelã (47,5A e 61,2A), bergamota (46,0B e 68,5AB) e
454 copaíba (56,2A e 57,7A) apresentaram igual eficiência, respectivamente (Tabela 4).

455 Testes de atividade antibacteriana com óleos essenciais podem ser afetados por
456 fatores tais como método de extração do óleo, volume utilizado, fase de crescimento do
457 organismo, meio de cultura, pH do meio, tempo de incubação e temperatura (Burt,
458 2004). Óleos essenciais de cravo da Índia e canela tiveram maior atividade contra
459 mistura de bactérias contaminantes de alimentos em pH 5,0, com exceção de uma
460 espécie que foi mais sensível em pH 7,0 (Hoque *et al.*, 2008). No entanto, o eugenol,
461 principal componente do óleo de cravo da Índia, não teve sua eficiência alterada pelo
462 pH do meio na inibição do crescimento micelial de *Botrytis cinerea* Persoon ex Fries. O
463 pH também não afetou o crescimento do patógeno, na ausência do óleo (Wang *et al.*,
464 2010).

465 No presente trabalho, os resultados encontrados *in vitro* e *in vivo* foram
466 discordantes, considerando-se o teste de antibiose em disco, onde os óleos não
467 apresentaram atividade contra *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*. No entanto,
468 computando-se os dados obtidos no teste para atividade de substâncias voláteis,

469 observa-se que, pelo menos os óleos de hortelã, bergamota e copaíba inibiram o
470 crescimento do patógeno *in vitro*. Os óleos essenciais são substâncias voláteis e em
471 geral as concentrações inibitórias observadas *in vitro* devem ser elevadas quando
472 aplicadas *in vivo* para que mantenham a mesma eficácia (Burt, 2004).

473 Concluindo, tanto a colorimetria quanto as características físico-químicas das
474 folhas da couve-chinesa não foram afetadas de forma prejudicial pelos tratamentos com
475 os óleos essenciais de copaíba, laranja doce, hortelã, eucalipto citriodora e bergamota a
476 0,5%, os quais foram similares em eficiência ao antibiótico de uso agrícola
477 Mycoshield® no controle da podridão mole da couve-chinesa em casa de vegetação.
478 Este controle foi igualmente eficiente em relação a três isolados de *P. carotovorum*
479 subsp. *carotovorum*. Não foi observada inibição do crescimento bacteriano pelo teste de
480 antibiose em placas, mas substâncias voláteis dos óleos de hortelã, bergamota e copaíba
481 inibiram o crescimento do patógeno nos pHs 7,0 e 8,0.

482

483 **AGRADECIMENTOS**

484

485 Às professoras Sônia Maria Alves de Oliveira e Vivian Loges, pela
486 disponibilização dos Laboratórios, respectivamente, de Patologia Pós-Colheita e de
487 Floricultura da UFRPE para as análises físico-químicas e de colorimetria. Ao
488 engenheiro agrônomo Carlos Eduardo de S. Coelho e a estagiária Elizabeth Rodrigues
489 (Laboratório de Patologia Pós-Colheita da UFRPE) pela ajuda e disponibilidade. A
490 Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE),
491 pelo financiamento (APQ-0583-5.01/08) e pela concessão da bolsa de Mestrado da
492 autora. Ao CNPq, pela concessão da bolsa de produtividade em pesquisa aos co-autores
493 Rosa de L. R. Mariano e Elineide B. de Souza.

494

REFERÊNCIAS

- ABBASI PA; CUPPELS DA; LAZAROVITS G. 2003. Effect of foliar applications of neem oil and fish emulsion on bacterial spot and yield of tomatoes and peppers. *Canadian Journal Plant Pathology* 25: 41–48.
- ABLE AJ; WONG LS; PRASAD A; O'HARE TJ. 2005. The physiology of senescence in detached pak choy leaves (*Brassica rapa* var. *chinensis*) during storage at different temperatures. *Postharvest Biology and Technology* 35: 271–278.
- ALVARADO ICM; MICHEREFF SJ; MARIANO RLR; SOUZA EB; QUEZADO-DUVAL AM; RESENDE LV; CARDOSO E; MIZUBUTI ASG. 2011. Characterization and variability of soft rot-causing bacteria in Chinese cabbage in North Eastern Brazil. *Journal of Plant Pathology* 93: 173-181.
- BAJPAI VK; CHO JM; KANG SC. 2010a. Control of plant pathogenic bacteria of *Xanthomonas* spp. by the essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Phytopathology* 158: 479-486.
- BAJPAI VK; DUNG NT; SUH HJ; KANG SC. 2010b. Antibacterial activity of essential oil and extracts of *Cleistocalyx operculatus* buds against the bacteria of *Xanthomonas* spp. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 87: 1341-1349.
- BARROS M. 2011. *Q-ACELGA: Quantidade comercializada na CEASA* [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por <telpreco@ceasape.org.br> em 8 fevereiro 2011.
- BEZERRA NETO E; BARRETO LP. 2004. *Métodos de análises químicas em plantas*. Recife: UFRPE, 165p.
- BURT S. 2004. Essential Oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food Microbiology* 94: 233-253.
- CARVALHO SJP; NICOLAI M; FERREIRA RR; FIGUEIRA AVO; CHRISTOFFOLETI PJ. 2009. Herbicide selectivity by differential metabolism: considerations for reducing crop damages. *Scientia Agricola* 66: 136-142.
- CEASA-PE. 2010. *Calendário de comercialização e outras informações de hortigranjeiros* - Centro de Abastecimento Alimentar de Pernambuco (CEASA-PE) 4 p.
- CHITARRA MIF; CHITARRA AB. 2005. *Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio*. Lavras: UFLA, 785 p.

- COSTA AS. 2009. *Conservação pós-colheita, sintomas e respostas fisiológicas da senescência e injúria por frio em hastes de Heliconia bihai (L.)*. Recife: UFRPE, 83 p (Tese de doutorado).
- COSTA CMGR; SANTOS MS; BARROS HMM; AGRA PFM; FARIAS MAA. 2008a. Inibição do crescimento bacteriano *in vitro* de *Erwinia carotovora* pelo óleo essencial de alecrim. *Tecnologia & Ciência Agropecuária 2*: 7-10.
- COSTA CMGR; SANTOS MS; BARROS HMM; AGRA PFM; FARIAS MAA. 2008b. Óleo essencial de citronela no controle da bactéria fitopatogênica *Erwinia carotovora*. *Tecnologia & Ciência Agropecuária 2*: 11-14.
- COSTA CMGR; SANTOS MS; BARROS HMM; AGRA PFM; FARIAS MAA. 2009. Efeito inibitório do óleo essencial de manjeriço sobre o crescimento *in vitro* de *Erwinia carotovora*. *Tecnologia & Ciência Agropecuária 3*: 35-38.
- DE BOER SH; KELMAN A. 2001. *Erwinia* Soft Rot Group. In: SCHAAD NW; JONES JB; CHUN W. (eds). *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*. Minnesota: The American Phytopathological Society. 372p.
- DICK CM, HUTCHINSON SA. 1966. Biological activity of volatile fungal metabolites. *Nature* 211: 868.
- EMBRAPA HORTALIÇAS. 2010. *Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças*. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/util/tabelahortalicas.htm>>. Acesso em: 04 maio 2011.
- EVANGELISTA RM; VIEITES RL; CASTRO PS; RALL VLM. 2009. Qualidade de couve-chinesa minimamente processada e tratada com diferentes produtos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos 2*: 324-332.
- FREIRE AG; OLIVEIRA FA; CARRILHO MJSO; OLIVEIRA MKT; FREITAS DC. 2009. Qualidade de cultivares de alface produzida em condições salinas. *Caatinga* 22: 81-88.
- HOQUE MDM; BARI ML; JUNEJA VK; KAWAMOTO S. 2008. Antimicrobial activity of cloves and cinnamon extracts against food borne pathogens and spoilage bacteria, and inactivation of *Listeria monocytogenes* in ground chicken meat with their essential oils. *National Food Research Institute* 72: 9-21.
- HUANG Q; LAKSHMAN DQ. 2010. Effect of clove oil on plant pathogenic bacteria and bacterial wilt of tomato and geranium. *Journal of Plant Pathology* 92: 701-707.

- JEONG MR; PARK PB; KIM DH; JANG YS; JEONG HS; CHOI SH. 2009. Essential oil prepared from *Cymbopogon citrates* exerted an antimicrobial activity against plant pathogenic and medical microorganisms. *Mycobiology* 37: 48-52.
- KOWALSKA B; SMOLINSKA U. 2008. The effect selected plant materials and extracts on the development of bacterial diseases on onion. *Vegetable Crops Research Bulletin* 68: 33-45.
- MARIANO RLR; SILVEIRA EB. 2005. *Manual de Práticas em Fitobacteriologia*. 2ª Ed. Recife: UFRPE. 184p.
- MELLO MRF; SILVEIRA EB; VIANA IO; GUERRA ML; MARIANO RLR. 2011. Uso de antibióticos e leveduras para controle da podridão mole em couve-chinesa. *Horticultura Brasileira* 29: 78-83.
- MORAIS, LAS. 2009. Óleos essenciais no controle fitossanitário. In: BETTIOL, W.; MORANDI, MAB. *Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas*. Jaguariúna, São Paulo. Embrapa Meio Ambiente, 341p.
- PARET ML; CABOS R; KRATKY BA; ALVAREZ AM. 2010. Effect of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* race 4 and bacterial wilt of edible ginger. *Plant Disease* 94: 521-527.
- REN J; PETZOLDT R; DICKSON MH. 2001. Genetics and population improvement resistance to bacterial soft rot Chinese cabbage. *Euphytica* 117: 197-207.
- SHANER G; FINNEY RE. 1977. The effect of nitrogen fertilization 433 on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. *Phytopathology*, 15: 1051-1056.
- SILVA CL. 2011. *Ação de óleos essenciais e extratos vegetais sobre a podridão mole em alface crespa*. Recife: UFRPE. 56f (Dissertação de mestrado).
- SILVA AMF; MARIANO RLR; MICHEREFF SJ; SILVEIRA EB; MEDEIROS FHV. 2007. Levantamento da intensidade da podridão mole em alface e couve-chinesa em Pernambuco. *Caatinga* 20: 84-93.
- TESSARO D; MATTER JM; KUCZMAN O; FERRAREZI G; FURTADO LF; COSTA LAM; COSTA MSSM. 2009. Utilização de substratos orgânicos para a produção de mudas de couve-chinesa. *Revista Brasileira de Agroecologia* 2: 327-330.

ZENEBON O; PASCUET NS; TIGLEA P. 2008. Métodos físico-químicos para análisis de alimentos. *Instituto Adolfo Lutz*. 1020p.

WANG C; ZHANG J; CHEN H; FAN Y; SHI Z. 2010. Antifungal activity of eugenol against *Botrytis cinerea*. *Tropical Plant Pathology* 35: 137-143.

Tabela 1. Efeito de óleos essenciais e do antibiótico agrícola Mycoshield® na redução da podridão mole em plantas de couve-chinesa em casa de vegetação, avaliado pela severidade final da doença e pela área abaixo da curva de progresso da doença após 48h de avaliação. (effect of essential oils and agricultural antibiotic Mycoshield® in the reduction of soft rot of Chinese cabbage in the greenhouse, as assessed by disease severity and area under the disease progress curve after 48 h observation) Recife, UFRPE, 2011.

Tratamentos¹	SEV²	AACPD
Testemunha	4,9 a ³	123,3 a
Gengibre (<i>Zingiber officinale</i>)	3,3 b	96,9 b
Eucalipto citriodora (<i>Eucalyptus citriodora</i>)	3,1 b	97,5 b
Eucalipto globulus (<i>Eucalyptus globulus</i>)	3,1 b	93,9 b
Limão (<i>Citrus limon</i>)	3,0 b	89,4 b
Mycoshield®	3,0 b	89,4 b
Funcho de erva-doce (<i>Foeniculum vulgare</i> var. <i>dulce</i>)	2,9 b	91,5 b
Laranja doce (<i>Citrus sinensis</i>)	2,8 b	85,8 b
Capim limão (<i>Cymbopogon citratus</i>)	2,8 b	86,4 b
Copaíba (<i>Copaifera officinalis</i>)	2,7 b	87,9 b
Sálvia esclaréia (<i>Salvia sclarea</i>)	2,7 b	84,9 b
Bergamota (<i>Citrus aurantium</i> var. <i>bergamia</i>)	2,6 b	87,0 b
Hortelã (<i>Mentha piperita</i>)	2,3 b	77,7 b
CV (%)	19,94	12,74

¹Testemunha = Plantas tratadas com água (control = plants treated with water), antibiótico agrícola na concentração de 3g L⁻¹ e óleos essenciais a 0,5% (agricultural antibiotic at a concentration of 3g L⁻¹ and essential oils at 0.5%); ²SEV = severidade final da doença, avaliada 48h após a inoculação através de escala de notas (Ren *et al.*, 2001) (disease severity, assessed 48 h after inoculation using a rating scale (Ren *et al.*, 2001)); AACPD = área abaixo da curva de progresso da doença (Shaner & Finney, 1977) (area under disease progress curve (Shaner & Finney, 1977)); ³Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05), os números são médias de dois experimentos (means followed by the same letter do not differ by Tukey test (P≤0.05); values are means of two experiments).

Tabela 2. Análise colorimétrica de plantas de couve-chinesa pulverizadas com óleos essenciais e antibiótico agrícola Mycoshield[®], inoculadas por picada com *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* três dias após o tratamento, e coletadas para processamento após 48h (colorimetric analysis of Chinese cabbage plants were sprayed with essential oils and agricultural antibiotic Mycoshield[®], inoculated by pricking with *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* three days after treatment, and collected for processing after 48h) Recife, UFRPE, 2011.

Tratamentos¹	L*²	a*⁽⁻⁾	b*⁽⁺⁾
Mycoshield [®]	43,92 a ³	19,33 ab	43,00 a
Testemunha 1	34,08 ab	29,92 ab	29,00 a
Bergamota (<i>Citrus aurantium</i> var. <i>bergamia</i>)	26,00 ab	5,17 b	20,25 a
Eucalipto citriodora (<i>Eucalyptus citriodora</i>)	21,67 ab	21,59 ab	21,33 a
Hortelã (<i>Mentha piperita</i>)	18,75 ab	39,17 a	20,66 a
Testemunha 2	18,17 b	17,33 ab	24,08 a
Laranja doce (<i>C. sinensis</i>)	17,50 b	32,00 a	19,66 a
Copaíba (<i>Copaifera officinalis</i>)	15,92 b	31,50 a	18,00 a

¹Mycoshield[®] = Antibiótico agrícola na concentração de 3g L⁻¹ e óleos essenciais a 0,5% (Mycoshield[®] = agricultural antibiotic at a concentration of 3g L⁻¹ and essential oils at 0.5%); Testemunha 1 = plantas tratadas com água e inoculadas (control 1= plants treated with water and inoculated); Testemunha 2 = plantas tratadas apenas com água (control 2 = plants treated with water); ²L*: mede a luminosidade e varia de 100 para superfícies perfeitamente brancas, até zero para o preto (L*: measures luminosity and varies from 100 to surfaces perfectly white, to zero for black), a*: mede a quantidade de vermelho, quando positivo, cinza, quando zero e verde, quando negativo (a*: measures the amount of red when positive, gray when zero and green when negative), b*: mede a quantidade de amarelo, quando positivo, cinza, quando zero e azul, quando negativo (b*: measures the amount of yellow when positive, gray when zero and blue when negative); ³Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis (P≤0,05), os números são médias de dois experimentos (means followed by the same letter do not differ by Kruskal-Wallis test (P ≤ 0.05); values are means of two experiments).

Tabela 3. Análise físico-química de plantas de couve-chinesa, pulverizadas com óleos essenciais e antibiótico agrícola Mycoshield[®], inoculadas por picada com *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* três dias após o tratamento, e coletadas para processamento após 48h (physico-chemical analysis of Chinese cabbage plants sprayed with essential oils and agricultural antibiotic Mycoshield[®], inoculated by pricking with *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* three days after treatment, and collected for processing after 48h) Recife, UFRPE, 2011.

Tratamentos ¹	Ácido ascórbico ² (mg/50g)	AT (% de ácido cítrico)	pH	°Brix
Mycoshield [®] (3g L ⁻¹)	3,80 a ³	0,26 a	6,33 ab	0,87 c
Testemunha 1	3,79 a	0,25 ab	6,35 ab	0,90 c
Testemunha 2	2,69 b	0,15 c	6,27 ab	1,00 c
Laranja doce (<i>Citrus sinensis</i>)	2,63 b	0,15 c	6,18 ab	1,73 b
Copaíba (<i>Copaifera officinalis</i>)	2,48 b	0,20 bc	6,49 a	1,00 c
Hortelã (<i>Mentha piperita</i>)	2,38 b	0,23 ab	6,36 ab	1,00 c
Eucalipto citriodora (<i>Eucalyptus citriodora</i>)	2,06 b	0,21 abc	6,21 ab	1,90 ab
Bergamota (<i>C. aurantium</i> var. <i>bergamia</i>)	1,80 b	0,15 c	6,06 b	2,16 a
CV(%)	17,94	17,44	3,00	15,85

¹Mycoshield[®] = Antibiótico agrícola contendo 200g kg⁻¹ de oxitetraciclina (Mycoshield[®] = agricultural antibiotic containing 200g kg⁻¹ of oxytetracycline), óleos essenciais a 0,5% (essential oils at 0.5%), Testemunha 1 = plantas tratadas com água e inoculadas (control 1 = plants treated with water and inoculated); Testemunha 2 = tratadas apenas com água (control 2 = plants treated with water); ²Ácido ascórbico = Vitamina C (ascorbic acid = vitamin C); AT = Acidez total titulável (AT = total acidity); Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05), os números são médias de dois experimentos (means followed by the same letter do not differ by Tukey test (P ≤ 0.05); values are means of two experiments).

Tabela 4. Efeito do pH na atividade de óleos essenciais (0,5%) e antibiótico agrícola Mycoshield® (3g L⁻¹) sobre o crescimento de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum in vitro* (effect of pH on the activity of essential oils (0.5%) and agricultural antibiotic Mycoshield® (3 g L⁻¹) on the growth of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum in vitro*). Recife, UFRPE, 2011.

Tratamentos	Número de colônias		
	pH 6,0 ¹	pH 7,0	pH 8,0
Eucalipto citriodora (<i>Eucalyptus citriodora</i>)	56,5aA ²	67,5abA	57,7abA
Hortelã (<i>Mentha piperita</i>)	57,7aA	47,5bA	61,2abA
Mycoshield®	64,8aA	65,5abA	76,2abA
Laranja doce (<i>Citrus sinensis</i>)	65,5aA	52,0abA	70,8abA
Bergamota (<i>C. aurantium</i> var. <i>bergamia</i>)	73,8aA	46,0bB	68,5abAB
Copaíba (<i>Copaifera officinalis</i>)	77,8aA	56,2abA	57,7bA
Testemunha	82,5aA	77,2aA	84,2aA
C.V. (%)		19,58	

¹Meio de cultura ajustado com diferentes pH (6,0; 7,0 e 8,0) (culture medium adjusted to different pH (6.0, 7.0 and 8.0)); ²Médias seguidas por idênticas letras minúsculas na coluna e maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05) (means followed by same small letters in the column and capital letters in the line do not differ among themselves by Tukey test, P≤0.05).

CONCLUSÕES GERAIS

CONCLUSÕES GERAIS

- Em casa de vegetação, os 11 óleos testados reduziram a severidade da podridão mole em couve-chinesa tanto quanto o antibiótico agrícola Mycoshield®.
- Os óleos de bergamota, eucalipto citriodora, hortelã e laranja doce foram igualmente eficientes ao Mycoshield® na redução da severidade da doença, em relação a três isolados de *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*.
- Não houve alteração na cor das folhas de couve-chinesa tratadas com os óleos essenciais de bergamota, copaíba, eucalipto citriodora, hortelã e laranja doce.
- A acidez titulável das folhas de couve-chinesa foi elevada pelo óleo de hortelã e o teor de sólidos solúveis totais pelos óleos de laranja doce, eucalipto citriodora e bergamota.
- O teor de ácido ascórbico e o pH nas folhas de couve-chinesa não foram afetados pelos óleos essenciais de bergamota, copaíba, eucalipto citriodora, hortelã e laranja doce.
- No teste de antibiose *in vitro*, o crescimento de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* não foi inibido pelos óleos de bergamota, copaíba, eucalipto citriodora, hortelã e laranja doce, mas sim pelo Mycoshield®.
- As substâncias voláteis dos óleos de hortelã e bergamota inibiram o crescimento do patógeno no pH 7,0 e do óleo de copaíba no pH 8,0.