

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PRODUTOS NATURAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE
E NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE MANGAS 'PALMER'**

João Emmanuel Ribeiro Guimarães

Biólogo e Engenheiro Agrônomo

2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PRODUTOS NATURAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE
E NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE MANGAS ‘PALMER’**

João Emmanuel Ribeiro Guimarães

Orientador: Prof. Dr. Ben-Hur Mattiuz

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Produção Vegetal).

2016

G963p Guimarães, João Emmanuel Ribeiro
Produtos naturais no controle da antracnose e na qualidade pós-colheita de mangas 'Palmer' / João Emmanuel Ribeiro Guimarães. -- Jaboticabal, 2016
xix, 123 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientador: Ben-Hur Mattiuz
Banca examinadora: Renata Moreira Leal, Rita de Cassia Panizzi, Cristiane Maria Ascari Morgado, Juliana Sanches
Bibliografia

1. Controle alternativo. 2. Doenças de pós-colheita. 3. Extrato de própolis. 4. Óleos essenciais. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 632.9:634.441

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: PRODUTOS NATURAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE E NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE MANGA 'PALMER'

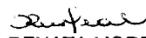
AUTOR: JOÃO EMMANUEL RIBEIRO GUIMARÃES

ORIENTADOR: BEN-HUR MATTIUZ

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:



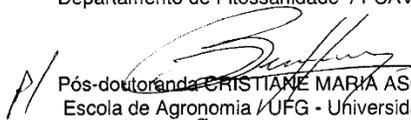
Prof. Dr. BEN-HUR MATTIUZ
Departamento de Tecnologia / FCAV / UNESP - Jaboticabal



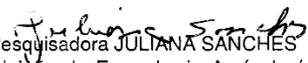
Profa. Dra. RENATA MOREIRA LEAL
Instituto Taquaritinguense de Ensino Superior / Taquaritinga/SP



Profa. Dra. RITA DE CÁSSIA PANIZZI
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal



P/ Pós-doutoranda CRISTIANE MARIA ASCARI MORGADO
Escola de Agronomia / UFG - Universidade Federal de Goiás
Participação por Videoconferência



Pesquisadora JULIANA SANCHES
Divisão de Engenharia Agrícola / Capta Engenharia e Automação / Instituto Agrônomo de Campinas / Jundiaí/SP

Jaboticabal, 01 de julho de 2016

JOÃO EMMANUEL RIBEIRO GUIMARÃES

Nascido em Ituverava, SP, no dia vinte dois de junho de 1985, Filho de Cleiton Tadeu Guimarães e Maria Auxiliadora Ribeiro Cavallari Guimarães. Iniciou o curso de Ciências Biológicas em 2003 na Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ituverava, que foi concluído em dezembro de 2006. Iniciou sua segunda graduação de Engenharia Agrônômica em 2007 na Faculdade Dr. Francisco Maeda, que foi concluída em dezembro de 2010. Foi bolsista de iniciação científica da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), onde desenvolveu o trabalho intitulado “Conservação Pós-colheita de caju anão CCP76 através do uso de ceras associadas a embalagem”. Ainda obteve bolsas do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) sendo três vezes na modalidade EXP 3 e uma na DTI I. Recebeu o título de Mestre em julho de 2012 pela Universidade Estadual Paulista no Câmpus de Jaboticabal. Em agosto de 2012. Ingressou no curso de Doutorado em Agronomia (Produção Vegetal), pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Câmpus de Jaboticabal, na linha de pesquisa em Pós-colheita, sendo bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Realizou doutorado sanduiche no Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias - IVIA em Valência na Espanha, durante o período de 10 meses com bolsa concedida pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Aos meus pais, **Tadeu e Dorinha**, pela educação, amor, compreensão, colaboração, apoio e principalmente dedicação por esses anos todos.

Aos meus professores pela paciência dedicação com que me ensinaram ao longo de todos estes anos.

Aos meus **amigos e familiares** que acreditaram em mim e me incentivaram para realização deste trabalho.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para conclusão deste trabalho.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual Paulista (UNESP-FCAV) e ao Departamento de Tecnologia, pela oportunidade de realização do curso.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo apoio financeiro na forma de bolsa de estudo (Proc. n. 2013/10397).

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de sanduiche concedida para aperfeiçoamento dos meus estudos.

Ao professor Dr. Ben-Hur Mattiuz, pela orientação, confiança, ensinamentos, convívio e apoio que deu origem a essa tese.

Ao pesquisador Dr. Eduardo Micotti da Glória e a Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, por toda contribuição para execução do trabalho.

Ao pesquisador Lluís Pallou e a todos os demais amigos do Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias – IVIA, por todo apoio, contribuição e paciência durante a execução das minhas atividades realizadas na Espanha.

Aos meus amigos do laboratório pelo agradável convívio, auxílio nas análises de laboratório e por compartilhar experiências.

A todos meus amigos da faculdade e da cidade, pelo apoio, companheirismo durante este período.

A todos os professores e colegas do curso de doutorado, aos funcionários da Seção de pós-graduação, do Departamento de Tecnologia e da Biblioteca, pelo auxílio e amizade.

A empresa Aruá pelo fornecimento da cera utilizada neste trabalho.

O meu muito obrigado, nada se faz só, tudo é fruto de uma ajuda múltipla.

Meu muito Obrigado.

SUMÁRIO

RESUMO.....	xv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. A cultura da manga	3
2.2. Perdas pós-colheita - antracnose.....	4
2.3. Recobrimentos comestíveis	6
2.4. Produtos naturais	7
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1. Material vegetal.....	13
3.2. Produtos naturais com ação antimicrobiana	13
3.3. Avaliação química dos óleos essenciais	15
3.4. Recobrimentos	16
3.5. Obtenção do patógeno.....	16
3.6. Atividade antifúngica dos produtos naturais no controle de <i>Colletotrichum gloeosporioides in vitro</i>	16
3.6.1. Avaliações dos experimentos in vitro	17
3.7. Inoculação de <i>colletotrichum gloeosporioides</i> e avaliação dos produtos naturais no controle da doença e qualidade dos frutos.....	18
3.7.1. Uso de extrato de própolis verde (EPV).....	18
3.7.2. Óleo de capim-limão (<i>Cymbopogon citratus</i>).....	19
3.7.3. Óleo de tomilho (<i>Thymus vulgaris</i>)	19
3.7.4. Óleo de eucalipto comum (<i>Eucalyptus globulus</i>).....	19
3.7.5. Avaliações dos experimentos <i>in vivo</i>	20
3.8. Análise dos dados.....	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4.1. Avaliação inicial do potencial antifúngico dos óleos essenciais	23
4.2. Composição dos óleos essenciais	24
4.2.1. Composição do óleo essencial de capim-limão (<i>Cymbopogon citratus</i>)... ..	24

4.2.2. Composição do óleo essencial de eucalipto-comum (<i>E. globulus</i>).....	24
4.2.3. Composição do óleo essencial de tomilho (<i>Thymus vulgaris</i>)	25
4.3. Efeito do própolis verde no crescimento micelial e na germinação conidial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	26
4.4. Efeito do própolis verde em mangas ‘palmer’ inoculadas com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	29
4.5. Efeito do capim-limão (<i>Cymbopogon citratus</i>) no crescimento micelial e na germinação conidial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	45
4.6. Efeito do capim-limão (<i>Cymbopogon citratus</i>) em mangas ‘Palmer’ inoculadas com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	47
4.7. Efeito do óleo de tomilho (<i>Thymus vulgaris</i>) no crescimento micelial e na germinação conidial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	65
4.8. Efeito do óleo de tomilho (<i>Thymus vulgaris</i>) em mangas ‘Palmer’ inoculadas com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	67
4.9. Efeito do óleo de eucalipto comum (<i>Eucalyptus globulus</i>) no crescimento micelial e na germinação conidial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	85
4.10. efeito do eucalipto comum (<i>Eucalyptus globulus</i>) em mangas ‘Palmer’ inoculadas com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	87
5. CONCLUSÕES	106
6. CONSIDERAÇÕES GERAIS	107
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	109

PRODUTOS NATURAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE E NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE MANGAS 'PALMER'

RESUMO – O objetivo do trabalho foi avaliar produtos alternativos, considerados naturais, como o extrato de própolis verde e óleos essenciais, no controle pós-colheita da antracnose em mangas 'Palmer'. Foram extraídos dez óleos essenciais de plantas e avaliados, inicialmente, quanto ao potencial antifúngico contra o *Colletotrichum gloeosporioides in vitro*. Dentre os óleos testados, os de *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon citratus* e *Eucalyptus globulus* foram selecionados pelos seus destacados efeitos inibitórios. Na etapa *in vitro* foram realizados quatro experimentos, em que foram testadas concentrações de extrato de própolis verde e dos óleos, utilizando seis repetições por tratamento. Na etapa *in vivo*, foram realizados quatro experimentos em que mangas 'Palmer', foram imersas em cera associada a diferentes concentrações de extrato de própolis verde e dos três óleos essenciais selecionados na etapa anterior. Após a secagem e formação dos revestimentos, os frutos tratados com própolis foram armazenados 12 °C por 12 dias e mais 3 dias em temperatura de ambiente (22± 2 °C e 65± 5% UR), e os tratados com óleos essenciais por 14 dias sob refrigeração, e por mais 3 dias a temperatura de ambiente. Os resultados foram submetidos à análise de variância e o efeito dos tratamentos, quando significativo, por meio do Teste F. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey (P≤0,05). O própolis verde a partir de 2%, o óleo de capim-limão a partir de 250 ppm e o de tomilho a partir de 10 ppm, se mostraram eficientes em controlar o crescimento do *C. gloeosporioides in vitro*. O óleo de eucalipto comum retardou, mas não inibiu o crescimento do *C. gloeosporioides in vitro*. Todos os óleos se mostraram eficientes em inibir a germinação de esporos de *C. gloeosporioides*. Os tratamentos com cera e cera associada aos óleos ou extrato de própolis reduziram o crescimento da lesão *in vivo*, sendo que a maior inibição (70%) do patógeno foi conseguida com o extrato de própolis verde na concentração de 2,5%. Todos os produtos testados se mostraram eficientes na manutenção da qualidade de frutos de mangas 'Palmer' inoculadas com *C. gloeosporioides*.

Palavras-chaves: controle alternativo, doenças de pós-colheita, extrato de própolis, óleos essenciais, *Colletotrichum gloeosporioides*.

NATURAL PRODUCTS IN THE CONTROL OF ANTHRACNOSE AND IN THE POST-HARVEST QUALITY OF MANGOS 'PALMER'

ABSTRACT – The objective was to evaluate alternative products, considered natural such as green propolis extract and essential oils, in the post-harvest control of anthracnose in 'Palmer' mangos. Ten essential oils from plants were extracted and evaluated, initially, for their potential as antifungal agents against *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro. Among the oils tested, the *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon citratus* and *Eucalyptus globulus* were selected for their outstanding inhibitory effects. In the *in vitro* stage four experiments were conducted, in which green propolis extract and oil concentrations were tested using six replicates per treatment. In the *in vivo* phase, four experiments were performed in which 'Palmer' mangos were dipped in wax associated with different concentrations of green propolis extract and the three essential oils selected in the previous step. After the drying process and formation of coatings, the fruits treated with propolis were stored at 12°C for 12 days and then another 3 days at room temperature ($22 \pm 2^\circ\text{C}$ and $65 \pm 5\%$ RH), and those treated with essential oils were stored for 14 days under refrigeration and for 3 days at room temperature. The results were subjected to variance analysis and a review of the effect of treatments, when significant, by test F. Means were compared by Tukey test ($p \leq 0.05$). The green propolis from 2%, lemongrass oil from 250 ppm and thyme from 10 ppm were effective in controlling the growth of *C. gloeosporioides* in vitro. Common eucalyptus oil was inhibited, but it did not inhibit the growth in vitro of *C. gloeosporioides*. The procedures with wax and associated wax with oil or propolis extract reduced the growth *in vivo* of the injury, and the greater inhibition (70%) of the pathogen was achieved with green propolis extract at 2,5% concentration. All products tested have proven effective in maintaining fruit quality of 'Palmer' mangos inoculated with *C. gloeosporioides*.

Keywords: alternative control, post-harvest diseases, propolis extract, essential oils, *Colletotrichum gloeosporioides*.

1. INTRODUÇÃO

As mudanças nos hábitos alimentares dos consumidores e a preocupação em manter uma alimentação saudável, tem aumentado o consumo de frutas *in natura*. Dentre as mais consumidas pode-se destacar a manga, por ser uma fruta rica em nutrientes, com excelente sabor, aroma e coloração exótica.

No Brasil, a região Nordeste é responsável pela maior produção brasileira. O estado de São Paulo produziu, em 2013, 214 mil toneladas da fruta (AGRIANUAL, 2016). Entretanto, parte dessa produção é perdida devido problemas ocorridos após a colheita.

Uma das grandes causas de perdas desta fruta é sua suscetibilidade às doenças fúngicas, a qual pode-se destacar a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. A antracnose é uma das principais doenças que afetam as frutas após a colheita, cujos sintomas se manifestam na forma de pontuações de coloração escura e formato circular na casca dos frutos, que evoluem podendo ultrapassar a casca e atingir a polpa. Nos meses mais quentes do ano sua incidência pode atingir 70 a 100% dos frutos na ausência de medidas de controle, ocasionando sérios prejuízos pois compromete a comercialização do produto.

O controle da doença é feito, normalmente, por métodos químicos, o que pode gerar resíduos tóxicos e prejuízos ao ambiente e à saúde humana. Esse fato é especialmente importante quando a produção é destinada ao mercado externo, uma vez que os países importadores possuem legislações específicas quanto a qualidade e resíduos de produtos químicos em alimentos. Somente em 2014, 99,5 milhões de toneladas de manga produzidas no Brasil, tiveram como destino a União Européia e outras 22,7 milhões de toneladas seguiram para aos Estados Unidos (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2015). Nesse contexto, o estudo e o desenvolvimento de métodos alternativos de controle de doenças de pós-colheita é de extrema importância.

Uma das tecnologias que vem sendo empregada é a utilização de recobrimentos comestíveis, os quais criam uma atmosfera modificada ao redor do fruto, com a função de reduzir o metabolismo do vegetal, retardando o processo de

senescência. Além disso, esses recobrimentos podem ser associados a aditivos alimentares e produtos naturais, tais como óleos essenciais, permitindo efeito combinado no controle de doenças de pós-colheita, sem deixar resíduos ou apresentar riscos à saúde ou ao meio ambiente.

Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar produtos alternativos, considerados naturais, no controle de antracnose (*in vitro* e *in vivo*) e na qualidade pós-colheita de mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A CULTURA DA MANGA

A mangueira (*Mangifera indica* L.) é originária da Ásia oriental (Myanmar, Birmânia e Assam, Índia) e é uma das mais importantes culturas tropicais. A manga representa a segunda maior produção das frutas tropicais comercializadas, depois da banana, e a quinta, dentre as frutas produzidas no mundo (FAO, 2016). O Brasil produziu no ano de 2013, um total de 1,2 milhão de toneladas da fruta, sendo a região Nordeste responsável pela maior produção (784 mil toneladas), representado pelo estado da Bahia como seu maior produtor. A região Sudeste é a segunda maior produtora, com uma produção estimada de 363 mil toneladas, sendo o estado de São Paulo seu maior produtor com 214 mil toneladas produzidas (AGRIANUAL, 2016).

Essa fruta se destaca pelo seu excelente sabor, aroma e coloração exótica. Possui importante valor nutricional devido ao teor de carboidratos, de vitamina C e de compostos carotenoides, principalmente o betacaroteno, que é uma substância antioxidante relacionada ao fator de prevenção de algumas doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer (RIBEIRO et al., 2007).

A manga é uma fruta climatérica, ou seja, completa o amadurecimento mesmo depois de colhido, processo que geralmente leva de três a oito dias em condições de ambiente (CUNHA; SAMPAIO, 1994). A temperatura usada para o armazenamento das mangas é em torno de 12 °C, o que estende sua comercialização por três ou quatro semanas. Nesta fase, devido à diminuição da resistência da casca, ao amolecimento da polpa e à disponibilidade maior de água e açúcares, a manga se torna suscetível à infecção por patógenos que ocasionam podridões (PFAFFENBACH et al., 2003).

Dentre as cultivares produzidas, uma que tem ganhado destaque no mercado é a Palmer, devido as suas características de qualidade e preferência pelos consumidores (TEIXEIRA; DURIGAN, 2011). A 'Palmer', que foi introduzida no início da década de 90, apresentando frutos que pesam de 400 a 450g, forma alongada, casca grossa, de coloração alaranjada clara com laivos brilhantes na superfície e as

lenticelas são relativamente grandes e volumosas. A polpa é firme, com pouca fibra, de coloração amarelada. Quando maduras as mangas apresentam pH de 3,85, teor de sólidos solúveis de 14,70 °Brix e acidez de 0,47% (BLEINROTH et al., 1985). De acordo com DONADIO et al., (1992), os frutos da 'Palmer' apresentam produção regular e pouca suscetibilidade às doenças oídio e antracnose. Entretanto, Ploetz et al. (1994) classificam mangas 'Palmer' como suscetíveis à antracnose.

2.2. PERDAS PÓS-COLHEITA - ANTRACNOSE

De acordo com a Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), em estudos que ocorreram entre agosto de 2010 a janeiro de 2011, aproximadamente um terço dos alimentos produzidos no mundo para o consumo humano é perdido ou desperdiçado anualmente, o que representa cerca de 1,3 bilhões de toneladas por ano (GUSTAVSSON et al., 2011). De acordo com o ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA (2015), estima-se que a quantidade de manga desperdiçada no Brasil é de 28% do total produzido.

Uma das causas das perdas de pós-colheita de frutas e vegetais frescos é devido a sua alta umidade, tornando-se suscetíveis ao ataque de fungos e bactérias fitopatogênicas, bem como ao avanço do processo de senescência durante o período entre a colheita e o consumo (ZAMBOLIM, 2002).

Dentre as doenças, as que ocorrem com maior frequência e atividade são as causadas por fungos, sendo responsáveis por 80 a 90% do total de perdas causadas por fitopatógenos (DANTAS et al., 2003). Esses microrganismos penetram, na maioria das vezes, através de ferimentos acidentais provocados durante a colheita, transporte e armazenamento, ou pelas aberturas naturais do fruto ou estruturas florais, permanecendo em estado quiescente até o amadurecimento, quando então causam podridões (IPPOLITO; NIGRO, 2000).

A antracnose causada pelo gênero *Colletotrichum* é a principal doença de frutos em pós-colheita, principalmente em mangas e goiabas, sendo considerada uma doença de elevada importância econômica no Brasil (SERRA; SILVA, 2004). O sintoma típico da doença é caracterizado por lesões arredondadas, grandes, necróticas, com o centro dos tecidos deprimidos, onde são produzidas massas de

conídios de coloração alaranjada (BAILEY et al., 1992), podendo ocorrer uma podridão-mole nos frutos, prejudicando a sua comercialização (LIMA FILHO et al., 2003). Essas lesões nos frutos, ainda acabam por beneficiar infecções por fungos oportunistas e insetos (SALES JÚNIOR et al., 2004).

Segundo Nascimento et al. (2000) a antracnose é encontrada em todas as áreas produtoras de manga do mundo, variando a severidade da doença com níveis de umidade do ambiente. Conforme Lima Filho et al., (2003), nos meses mais quentes do ano, na ausência de medidas de controle, sua incidência pode atingir 70 a 100% dos frutos. Há menção de grandes perdas causadas por essa doença na Índia, Filipinas, Austrália, África, América do Sul e Caribe. No Brasil, ela está amplamente disseminada em todas as regiões produtoras de manga, especialmente na região Nordeste (SERRA; SILVA, 2004).

O fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.), na fase teleomórfica, corresponde a *Glomerella cingulata* (Stonem.). As colônias de *C. gloeosporioides* são variáveis, de cinza claro a cinza escuro, com micélio aéreo. Os conídios são formados em massas de cor salmão, são retos, cilíndricos, de ápice obtuso, base truncada e dimensões de 12-17 µm x 3,5-6 µm (TAVARES, 2004).

A antracnose tem maior incidência em temperaturas próximas a 28 °C e elevada umidade relativa do ar (ao redor de 95%) (BAILEY et al., 1992). Como a penetração do fungo pode ocorrer no fruto imaturo, o patógeno é capaz de sobreviver na forma quiescente, manifestando-se na fase de maturação do fruto.

O manejo e o controle da antracnose são controvertidos e enfocam, principalmente, o controle químico. O uso inadequado do controle químico tem induzido o aparecimento de isolados resistentes e, portanto, este tipo de controle não tem sido eficiente (SOARES et al., 2008).

Segundo Silva (2005) o tratamento pós-colheita mais recomendado para o controle dessas doenças é o tratamento hidrotérmico, com a imersão dos frutos em água quente a 55° C ou combinada com fungicidas.

O tratamento hidrotérmico para o controle de fungos é prática recomendada para mangas cujo destino é a exportação à Europa e ao Canadá. O tratamento é feito mantendo-se as frutas imersas em água a 55 °C por 5 minutos. Além disso, é

uma exigência quarentenária para o controle de mosca-das-frutas por alguns países importadores como Estados Unidos, Japão e Chile. Nesse caso, recomenda-se o tratamento, que consiste na imersão do fruto em água a 46,1 °C durante 75 a 90 minutos, tornando-se mais eficientes quando seguidos pela aplicação de um fungicida (ALVES et al., 2002).

Entretanto, o tratamento térmico pode promover respostas indesejáveis como a inibição do amadurecimento de frutas climatéricas, devido à inibição da síntese de etileno; decréscimo na taxa de amolecimento de frutas em função da inibição da síntese de enzimas hidrolíticas da parede celular (poligalacturonase e pectinametilsterase); alteração do sabor; diminuição da acidez; aumento do teor de açúcares; aumento na taxa respiratória e prevenção de distúrbios fisiológicos como dano pelo frio (“chilling injury”) em frutas subtropicais e tropicais (LURIE, 1998). Os danos pelo calor, conhecidos como escaldadura, podem se manifestar externamente com o escurecimento da casca da fruta ou manchas, podendo ocorrer um aumento na incidência de podridões, ou internamente, pela descoloração ou escurecimento da polpa ou amolecimento anormal.

2.3. RECOBRIMENTOS COMESTÍVEIS

Os recobrimentos comestíveis têm sido bastante estudados, pois criam uma atmosfera modificada na superfície do fruto, constituindo uma barreira semipermeável ao vapor de água e a gases, melhorando a aparência e a preservação dos mesmos, tornando-se, assim, uma alternativa interessante quanto aos filmes plásticos (ROJAS-ARGUDO et al., 2005). De acordo com Dhall (2013), os revestimentos comestíveis devem apresentar as seguintes características: 1) ser estável e impermeável à água; 2) não causar diminuição excessiva da concentração de O₂ ou acúmulo excessivo de CO₂; 3) ter permeabilidade seletiva ao vapor de água; 4) melhorar o brilho e aparência dos frutos; 5) não ser pegajoso e ter bom desempenho na secagem; 6) manter a qualidade dos produtos frescos sem exalar odores indesejáveis; 7) ter baixa viscosidade e ser economicamente viável; 8) ter homogeneidade; e 9) ser translúcido.

Os materiais mais utilizados em sua composição são os lipídios (ceras de parafina, de abelhas e de carnaúba e óleos vegetais e minerais), os polissacarídeos (celulose, pectina, amido, carragena, quitosana) e as proteínas (caseína e gelatina) (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Esses materiais devem permitir a aplicação em produtos nos quais se consome a casca, por serem atóxicos e serem considerados seguros pelos órgãos internacionais responsáveis pela segurança alimentar de cada país (HAGENMAIER; BAKER, 1994).

O uso de emulsão aquosa à base de cera de carnaúba é uma prática empregada comercialmente, como tratamento pós-colheita em mangas, com o propósito de repor a barreira natural cuticular removida pelas operações de lavagem ou tratamento térmico (ASSIS, 2004). Trata-se de um produto obtido de uma palmeira brasileira (*Copernicia prunifera* (Mill.) H. Moore), comercializado sob várias marcas, em diferentes concentrações e misturas. Esses revestimentos são utilizados principalmente para melhorar a aparência de alimentos e preservação da fruta, uma vez que pode fornecer barreiras seletivas à respiração contra a perda de umidade, e senescência.

Para aumentar a eficiência destes revestimentos pode se adicionar agentes antimicrobianos, antioxidantes, acidulantes, minerais e até mesmo vitaminas para melhorar a qualidade dos alimentos revestidos (AVILA-SOSA; LÓPEZ-MALO, 2008; OLIVAS; PÉREZ-GAGO, 2012). O tratamento da fruta com estes compostos pode ser feito por meio de imersão ou de pulverização (DHALL, 2013).

A associação de óleos essenciais com revestimentos à base de cera tem demonstrado efeito no controle de patógenos em manga (CRUZ et al., 2012), citros (KOUASSIA; BAJJI; JIJAKLI, 2012), nectarinas e ameixas (GONÇALVES et al., 2006) e abacates (REGNIER et al., 2010).

2.4. PRODUTOS NATURAIS

Entre os produtos com potencial no uso pós-colheita, encontra-se o própolis, que é uma substância resinosa, coletada pelas abelhas *Apis mellifera*, de diversas partes da planta. Sua composição química é bastante complexa e variada, estando intimamente relacionada com a ecologia da flora de cada região visitada pelas

abelhas. É conhecido, principalmente, por suas propriedades antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, entre outras (BANKOVA et al., 1989; PARK et al., 2000; ISLA et al., 2001).

Scheffer et. al. (2015) avaliaram o potencial da própolis verde na germinação de esporos de *Colletotrichum musae*, agente causal da antracnose em banana, e *C. gloeosporioides*, isolado de frutos de abacate. Foi testado na forma de extrato etanólico nas concentrações de 0,05; 0,1; 0,5; 1; 2,5; 5 e 10%, no qual constataram que o extrato etanólico de própolis apresentou elevada atividade microbiana em ambas as espécies de fitopatógenos, sendo que a partir da concentração de 0,5% do extrato de própolis a inibição da germinação foi de 100%.

Mattiuz et al., (2015) estudaram a eficácia do tratamento própolis e quitosana no controle da antracnose em mangas da variedade Kent. Mangas infectadas com suspensão de esporos de *C. gloeosporioides* e imersas em própolis a 1,5% e quitosana a 1,5%, demonstraram que, após armazenadas durante 14 dias a 12°C e mais 7 dias a 23 °C, tanto o própolis quanto a quitosana são eficazes no controle da antracnose. No entanto, o própolis apresentou resultados inferiores ao encontrados para quitosana no controle da antracnose.

Marino (2015) utilizando própolis (0%; 1,0%; 1,5% e 2,0%) associado à quitosana (1,0% e 1,5%), para inibir o crescimento *in vitro* e *in vivo* de *C. gloeosporioides*, em abacates da cv. Hass, obtiveram resultados satisfatórios. O mesmo autor verificou que a quitosana a 1,5%, e esta combinada com o própolis a 1,5% e 2,0%, reduziram a severidade da antracnose nos frutos mantendo a qualidade dos abacates, comprovada pela menor taxa respiratória e produção de etileno, maior firmeza, teor de sólidos solúveis e luminosidade da polpa.

De acordo com a ISO 9235:1997, óleos essenciais são produtos obtidos de partes de plantas por meio de destilação por arraste com vapor d'água, bem como os produtos obtidos pelo processamento mecânico do pericarpo de frutos cítricos (SANTURIO, 2011). Os óleos essenciais geralmente são incolores ou levemente amarelados, com sabor ácido e picante, pouco estáveis em presença de luz, calor e ar, além de serem pouco solúveis em água. Constituem-se em complexas misturas de substâncias voláteis, geralmente lipofílicas (SIMÕES; SPITZER, 1999), cujos

componentes incluem hidrocarbonetos terapêuticos, álcoois simples, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, etc., em diferentes concentrações, nas quais, um composto farmacologicamente ativo é majoritário.

Embora os óleos essenciais e extratos botânicos são comercialmente disponível como fungicidas pré-colheita para agricultura orgânica (DAYAN et al., 2009), poucos estudos têm sido conduzidos para aplicação pós-colheita. Muitos óleos essenciais apresentam atividade antifúngica *in vitro* (SHARMA, 2006), mas nem sempre são eficazes quando aplicados *in vivo*.

Plaza et al. (2004) identificaram vários óleos essenciais capazes de inibir *in vitro* espécies do gênero *Penicillium*, mas nenhum destes óleos foram eficazes contra os patógenos *in vivo*. Inúmeros trabalhos são realizados com objetivo de encontrar óleos que consigam inibir o crescimento de fungos e assim retardar o aparecimento dos sintomas de doenças e que, ao mesmo tempo, consigam atingir uma grande variedade de espécies (PIMENTEL et al., 2010).

Dentre os diversos produtos naturais já testados, há um interesse no meio científico pela utilização de óleos essenciais extraídos de vegetais por serem produtos cuja matéria prima é facilmente encontrada na natureza e por se mostrarem eficientes no controle de diversos fungos em doses homeopáticas, tornando sua aplicação menos onerosa (MELO et al., 2009).

O Brasil detém uma flora riquíssima, com uma diversidade enorme de espécies utilizadas na medicina popular. Porém, apenas uma pequena parcela desta flora já foi objeto de estudos químicos e farmacológicos que comprovam parcial ou integralmente sua ação medicinal e na agropecuária (EMBRAPA, 2009).

Pesquisas evidenciam que plantas com propriedades medicinais podem corresponder às expectativas de fungos fitopatogênicos tanto diretamente como por meio de indução de alguns mecanismos de defesa de plantas. Esta pode ser uma alternativa que corresponda às expectativas da agricultura, enfocando melhores condições ecológicas, econômicas e sociais (MESQUINI et al., 2007; SCHWAN-ESTRADA et al., 2002).

A aplicação de vapor de óleo de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) sugeriu que esse óleo essencial pode ser usado como uma alternativa natural de fungicida para o

controle dos fungos *C. gloeosporioides* e *Lasiodiplodia theobromae*, responsáveis pelas doenças pós-colheita mais comuns em abacates (SELLAMUTHU; SIVAKUMAR; SOUNDY, 2013).

O efeito do óleo de tomilho também foi comprovado em outro trabalho com abacates 'Furte' e 'Hass' feridos artificialmente e inoculados com *C. gloeosporioides*, os quais foram tratados com o óleo, aplicado por vaporização na concentração de 66,7 $\mu\text{L L}^{-1}$, resultando na redução da antracnose nos frutos de 100% (frutos do controle) para 8,3% após quatro dias (SELLAMUTHU et al., 2013).

Bosquez-Molina et al. (2010) evidenciaram que o tomilho apresentou melhor potencial fungicida que o óleo de limão mexicano, e que quando incorporados em goma reduz a incidência de doenças causadas por *C. gloeosporioides* e *Rizophus stolonifer* em mamões, além de estender a vida de prateleira.

Óleos essenciais (OE) de *Cymbopogon* spp., *Coriandrum sativum* e *Lippia alba* demonstraram eficiência na inibição de *C. gloeosporioides* em maracujá-amarelo (ANARUMA et al., 2010). Já os OE de plantas das espécies *Cymbopogon citratus* e *Eucalyptus citriodora* a 1%, controlaram *C. gloeosporioides* em mamão (CARNELOSSI et al., 2009).

Souza Junior; Sales; Martins (2009) usando o óleo essencial de *L. sidoides* no controle do *C. gloeosporioides* em maracujazeiro, obtiveram 100% de inibição do crescimento micelial.

A atividade antimicrobiana do *C. citratus* é citada em literatura (MAHMOUD, 1994; MENENDÉ, 1993) e sugere-se que o citral é o principal responsável por esta atividade. A atividade antifúngica do óleo por volatilização frente a diferentes espécies de dermatófitos, dos gêneros *Trichophyton* e *Microsporum*, foi avaliada e verificou-se ação fúngica contra tais fungos (KISHORE et al., 1993; LIMA et al., 1993).

O óleo essencial de canela tem sido relatado como uma fonte de agente antifúngico (BARATTA et al., 1998, DELESPAUL et al., 2000). Estudos de Ranasinghe et al. (2002) para controlar a podridão da coroa, doença da banana, evidenciaram a eficácia do óleo de canela. Esse óleo contém compostos, como o cinamaldeído, o qual já foi testado em muitas frutas frescas tais como tangerina, kiwi

e rambutão para controlar doenças de pós-colheita (SIVAKUMAR; BAUTISTA-BÃNOS, 2002). Asgar Ali; Alderson (2010) verificaram que o óleo de canela na concentração de 0,4% se mostrou mais promissor em suprimir o crescimento micelial e a inibição da germinação de esporos (83,2%) de *C. gloeosporioides* em bananas, retardando a incidência da doença e mantendo a qualidade da fruta durante o armazenamento.

Os tratamentos de óleos essenciais de cagaita e de eucalipto apresentaram efeito fungitóxico intermediário, reduzindo o crescimento micelial dos fungos *Rhizoctonia solani* em 43 e 84% e *Sclerotium rolfsii* em 30 e 77%, respectivamente. Pereira et al. (2011) observaram diminuição do crescimento micelial de *Cercospora coffeicola* quando submetido ao óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*. Souza Júnior; Sales; Martins, (2009), relataram o potencial da atividade antifúngica de diferentes plantas do Cerrado, destacando o uso de extratos e compostos bioativos da cagaita.

Scapin (2010) constatou efeitos fungitóxicos em experimentos realizados *in vitro*, utilizando óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*). Medice et al. (2007) observaram que os óleos de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*), nim (*Azadirachta indica*) e citronela (*Cymbopogon nardus*) inibiram a germinação dos urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*, agente causal da ferrugem asiática da soja.

O OE da planta alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*) demonstrou potencial inibitório no crescimento micelial do fungo *C. gloeosporioides* coletado em frutos de mamoeiro, evidenciando que o mesmo, apresenta compostos fungitóxicos (BONETT et al., 2010). Assim como o óleo essencial de eucalipto-comum (*Eucalyptus globulus*), também apresentou ação antimicrobiana no controle *in vitro* de *Penicillium* sp., responsável pela principal doença pós-colheita em citros (PIATI; SCHNEIDER; NOZAKI, 2011).

Segundo Maqbool et al. (2011), ao estudarem a ação antifúngica do óleo de erva-cidreira, óleo de canela, e suas combinações no controle pós-colheita da antracnose da banana e mamão, verificaram que além do controle do patógeno, a combinação do óleo de canela com goma arábica retardou a maturação do fruto.

Ocorreu ainda a diminuição da massa fresca e aumento da firmeza dos frutos, e manutenção nos teores de sólidos solúveis e acidez titulável, comprovando assim a possibilidade da utilização de goma arábica a 10% combinado com 0,4% de óleo de canela como biofungicida no controle da antracnose pós-colheita destas frutas.

Diante deste contexto, torna-se importante o desenvolvimento de pesquisas que busquem tratamentos alternativos eficientes na redução de perdas, causadas principalmente por patógenos responsáveis pelas doenças em frutos na pós-colheita, em substituição aos tratamentos atualmente utilizados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. MATERIAL VEGETAL

Mangas 'Palmer' foram colhidas na região de Taquaritinga-SP, no estágio fisiológico "de "vez", determinado pela visualização de lenticelas espaçadas e de coloração amarelada na parte inferior do fruto. Foram selecionados frutos sadios e uniformes quanto ao tamanho e coloração. Em seguida, foram transportados ao Laboratório de Tecnologia de Produtos Agrícolas da UNESP, Câmpus de Jaboticabal, onde foram lavados com detergente neutro, enxaguados em água corrente e higienizados em solução de dicloro s. triazinatriona sódica dihidratada (Sumaveg[®]) a 200 mg L⁻¹ de cloro livre, por 5 minutos. Depois de secos ao ambiente, foram novamente selecionados e separados em lotes, para aplicação dos tratamentos.

3.2. PRODUTOS NATURAIS COM AÇÃO ANTIMICROBIANA

Utilizou-se extrato de própolis verde aquoso da marca comercial Propomax[®], contendo 11% p/v de extrato seco, garantido 30% de própolis *in natura*, obtido em farmácia de manipulação.

Foram extraídos 10 óleos essenciais de plantas, selecionados previamente pelos seus compostos majoritários (Tabela 1), no Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da ESALQ.

A extração dos óleos essenciais foi realizada por hidrodestilação, utilizando um destilador tipo Clevenger, um balão volumétrico de 5 litros, manta de aquecimento, dean e condensador. Foram adicionados 400 gramas de folhas e 4 litros de água destilada a um balão volumétrico de 5 litros. O balão foi aquecido por uma manta aquecedora e a hidrodestilação mantida por 3 horas a partir do início de fervura da água.

Tabela 1. Espécies de plantas utilizadas para extração dos óleos essenciais a partir de seus compostos majoritários.

Nome Comum	Espécie	Composto Majoritário
Alecrim-pimenta	<i>Lippia sidoides</i>	Timol
Tomilho	<i>Thymus vulgaris</i>	Timol
Capim-limão	<i>Cymbopogon citratus</i>	Citral
Erva cidreira	<i>Lippia alba</i>	Citral
Eucalipto-Staigeriana	<i>Eucalyptus staigeriana</i>	Citral
Cintronela	<i>Cymbopogon winterianus</i>	Citronellal
Eucalpto-cidró	<i>Corymbia citriodora</i>	Citronellal
Eucalipto-comum	<i>Eucalyptus globulus</i>	1,8 Cineol
Eucalipto-Nitens	<i>Eucalyptus nitens</i>	1,8 Cineol
Alecrim do campo	<i>Baccharis dracunculifolia</i>	Nerolidol

O potencial antifúngico dos óleos essenciais foi determinado pelo método de avaliação da concentração inibitória mínima, com objetivo de verificar a concentração mínima de cada extrato para inibir o desenvolvimento da espécie fúngica avaliada.

A técnica utilizada foi a da microdiluição em caldo (HADACEK; GREGER, 2000). Nesta técnica, diferentes concentrações de cada extrato (0,2 a 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$) foram colocadas em micropoços contendo o caldo extrato de malte 4% (50 μL) esterilizado, seguido da deposição de suspensão contendo 50 μL (10^4 conídios mL^{-1}). As placas contendo os micropoços foram incubadas no escuro a 25 °C por 18h. Os tratamentos foram realizados em triplicata. Depois de decorrido o tempo de incubação, o tamanho da colônia foi mensurado através da técnica da produção da esterase, resultante da conversão do diacetato de fluoresceína a fluoresceína (CHAND et al., 1994). A leitura da fluorescência foi realizada conforme técnica preconizada por Hadacek; Greger (2000).

A porcentagem de inibição do crescimento comparada à testemunha foi determinada segundo a fórmula:

$$\% = \frac{(\text{leitura da amostra} - \text{leitura do branco}) \times 100}{\text{leitura da testemunha} - \text{leitura do branco}}$$

Dentre os óleos testados, os óleos de *T. vulgaris*, *C. citratus* e *E. globulus*, foram selecionados pelos seus destacados efeitos inibitórios.

3.3. AVALIAÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

A caracterização dos óleos essenciais selecionados, também foi feita no Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, ESALQ-USP, a qual foi realizada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, utilizando um equipamento CGMS2010 (SHIMADZU), equipado com detector de massas QP2010 Plus (SHIMADZU) e coluna cromatográfica capilar Difenil Dimetil polissiloxano (5% diphenyl e 95% dimethyl polysiloxane), Rxi-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). A programação de temperatura para o forno foi: 50 °C por 1,5 min, elevada a 4 °C min⁻¹ até 200 °C, e então elevada a 10°C/min⁻¹ até 240 °C, permanecendo nesta temperatura por 7 minutos. A temperatura do injetor foi de 240 °C e 220 °C para fonte de íons e interface. A injeção foi realizada no modo "Split", o volume de amostra injetado foi de 1 µL para óleos. A razão do "Split" foi de 1:20. O gás Hélio foi utilizado como gás de arraste a uma vazão de 1,2 mL min⁻¹. O detector de massas foi configurado no modo *scan*, com faixa de varredura de 40 a 500 m z⁻¹.

Os picos cromatográficos foram identificados pela comparação entre o índice de Kovats (IK) calculado e o observado na literatura (ADAMS, 2007) e também por comparação do espectro de massa observado com o existente no cromatógrafo (NIST05s, NIST107 e WILEY8).

Uma solução padrão contendo os alcanos (C7 a C30) foi injetada no mesmo momento das injeções dos óleos. Foram considerados identificados os picos cromatográficos que apresentaram um espectro de massa idêntico aos da biblioteca existente no cromatógrafo (NIST05s, NIST107 e WILEY8) e que apresentem um IK

igual ou dentro de uma faixa de tolerância de ± 10 unidades ao observado na literatura (ADAMS, 2007).

3.4. RECOBRIMENTOS

Foi utilizada cera comercial da empresa Aruá à base de cera de carnaúba e resina vegetal (colofônia) (Aruá BR-A2 Tropical), contendo 18% de sólidos solúveis.

3.5. OBTENÇÃO DO PATÓGENO

Para padrão da espécie *Colletotrichum gloeosporioides*, foram utilizados isolados pertencentes à coleção do Laboratório de Fitopatologia, do Departamento de Fitossanidade da FCAV-UNESP, identificados molecularmente pelo sequenciamento da região ITS1-5.8S-ITS2 (SOUZA, 2012).

3.6. ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS PRODUTOS NATURAIS NO CONTROLE DE *Colletotrichum gloeosporioides in vitro*

Como produtos naturais foram utilizados os 3 óleos essenciais (*T. vulgaris*, *C. citratus* e *E. globulus*), selecionados na avaliação inicial do potencial antifúngico, e o própolis verde.

Os produtos naturais foram dissolvidos em Tween 80 a 0,01%, (XING et al., 2011), Após isto, foram incorporados em meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar) autoclavado, em diferentes concentrações, que serão descritas a seguir. Em seguida, os meios foram vertidos sob condições assépticas (câmara de fluxo laminar), em placas esterilizadas de 9 cm de diâmetro. Após a solidificação do meio, foram transferidas colônias de 5 mm de diâmetro, retiradas da borda das culturas, para o centro de placas contendo meio BDA. As placas contendo o fungo, foram mantidas a 27 ± 1 °C e fotoperíodo de 12h por 7 dias.

Para o extrato de própolis verde, foram adicionadas as concentrações de 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5% em meio BDA. O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, composto por 6 tratamentos (5 concentrações do própolis verde + testemunha), com 6 repetições.

No caso dos óleos, o óleo essencial de capim-limão (*C. citratus*) foi adicionado em BDA, nas concentrações de 0; 5; 10; 50; 100; 250 $\mu\text{L L}^{-1}$. O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, composto por 6 tratamentos (5 concentrações do óleo + testemunha), com 6 repetições cada.

O óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) foi adicionado em BDA, nas concentrações de 0; 5; 10; 50; 100; 500; 1000 e 1500 $\mu\text{L L}^{-1}$. O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, composto por 8 tratamentos (7 concentrações do óleo + testemunha), com 6 repetições cada.

O óleo essencial de Eucalipto-comum (*Eucalyptus globulus*) foi adicionado em BDA, nas concentrações de 0; 5; 10; 50; 100; 500; 1000; 1500; 2000; 2500 e 3000 $\mu\text{L L}^{-1}$. O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, composto por 11 tratamentos (10 concentrações do óleo + testemunha), com 6 repetições cada.

3.6.1. Avaliações dos experimentos in vitro

O crescimento micelial do fungo foi medido diariamente até que a colônia de um dos tratamentos atingisse a borda da placa. Para calcular a porcentagem de inibição do crescimento micelial foi aplicada a fórmula:

$$I = [(CFC - CFT) / CFC] \times 100 \quad \text{Equ. 1}$$

Em que:

I= porcentagem de inibição;

CFC= crescimento do fungo no controle, aos sete dias;

CFT= crescimento do fungo no tratamento, aos sete dias.

A germinação de conídios foi realizada pela deposição de 150 μL de suspensão conidial do patógeno (2×10^5 conídios mL^{-1}) sobre lâminas contendo ágar-água a 1%. Após a deposição de esporos, foi efetuada a incubação da suspensão por 12 horas a 27 ± 1 °C, para a avaliação da germinação de 100 conídios por lâmina por repetição, considerando-se germinado o conídio que apresentou o tubo

germinativo de tamanho igual ou superior ao do comprimento do esporo (MERCIER et al., 2001).

Paras as análises realizadas *in vitro*, foram utilizadas 6 repetições por tratamento.

3.7. INOCULAÇÃO DE *Colletotrichum gloeosporioides* E AVALIAÇÃO DOS PRODUTOS NATURAIS NO CONTROLE DA DOENÇA E QUALIDADE DOS FRUTOS

Foram desenvolvidos quatro experimentos *in vivo*, um para o extrato de própolis verde e três para os óleos essenciais que apresentaram melhor resultado na etapa anterior, a partir da concentração que inibiu 100% do crescimento.

Para a inoculação, foram realizados quatro ferimentos equidistantes em cada fruto, com 2 mm de profundidade e 6 mm de diâmetro, com auxílio de uma agulha. Em cada abertura foi depositado 25 µL da suspensão conidial de *C. gloeosporioides* (2×10^5 conídios mL⁻¹).

Os frutos foram armazenados por 12h a 22 °C, para estabelecimento do fungo. As mangas foram imersas, por 1 minuto, em solução de cera associada às concentrações estipuladas pelo teste *in vitro*. Em todos os experimentos se utilizou de um tratamento testemunha no qual os frutos foram imersos em água destilada e um segundo controle com frutos imersos somente em cera.

3.7.1. Uso de extrato de própolis verde (EPV)

Utilizaram-se cinco concentrações do EPV (0,5; 1; 1,5; 2,0 e 2,5%) associado à cera de carnaúba. Após a imersão, os frutos foram colocados em temperatura de ambiente para secagem e formação do recobrimento, armazenados a 12 °C e $80 \pm 5\%$ UR por 12 dias. Um grupo de frutos foi avaliado e outro transferido para temperatura de 22° C (condições de ambiente), onde permaneceram por 3 dias (15 dias do início do experimento), para simular a condição de comercialização.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial composto por sete tratamentos (controle; controle

c/ cera; cera + 5 concentrações de EPV) e três datas de avaliação (0, 12 e 15 dias). Foram utilizadas 4 repetições com 2 frutos cada.

3.7.2. Óleo de capim-limão (*Cymbopogon citratus*)

Utilizaram-se três concentrações do óleo de capim-limão (250; 500 e 1000 ppm) associado a cera de carnaúba. Após a imersão, os frutos foram colocados em temperatura de ambiente para secagem e formação do recobrimento, e armazenados a 12 °C e 80 ± 5% UR por 14 dias. Um grupo de frutos foi avaliado e outro transferido para temperatura de 22 °C (condições de ambiente), onde permaneceram por 4 dias (18 dias do início do experimento), para simular a condição de comercialização.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial composto por cinco tratamentos (controle; controle c/ cera; cera + 3 concentrações do óleo) e quatro datas de avaliação (0; 7; 14 e 18 dias). Foram utilizadas 4 repetições com 2 frutos cada.

3.7.3. Óleo de tomilho (*Thymus vulgaris*)

Utilizaram-se quatro concentrações do óleo de tomilho (50; 100; 250 e 500 ppm) associado a cera de carnaúba. Após a imersão, os frutos foram colocados em temperatura ambiente para secagem e formação do recobrimento, e armazenados a 12 °C e 80 ± 5% UR por 14 dias. Um grupo de frutos foi avaliado e outro transferido para temperatura de 22 °C (condições de ambiente), onde permaneceram por 4 dias (18 dias do início do experimento), para simular a condição de comercialização.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial composto por seis tratamentos (controle; controle c/ cera; cera + 4 concentrações do óleo) e quatro datas de avaliação (0; 7; 14 e 18 dias). Foram utilizadas 4 repetições com 2 frutos cada.

3.7.4. Óleo de eucalipto comum (*Eucalyptus globulus*)

Utilizaram-se quatro concentrações do óleo de eucalipto comum (500; 1000; 1500 e 3000 ppm) associada a cera de carnaúba. Após a imersão, os frutos foram

colocados em temperatura de ambiente para secagem e formação do recobrimento, e armazenados a 12 °C e 80 ± 5% UR por 14 dias. Um grupo de frutos foi avaliado e outro transferido para temperatura de 22 °C (condições de ambiente), onde permaneceram por 4 dias (18 dias do início do experimento), para simular a condição de comercialização.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial composto por seis tratamentos (controle; controle c/ cera; cera + 4 concentrações do óleo) e quatro datas de avaliação (0; 7; 14 e 18 dias). Foram utilizadas 4 repetições com 2 frutos cada.

3.7.5. Avaliações dos experimentos *in vivo*

A área da lesão da antracnose foi medida em dois sentidos ortogonais no fruto, com auxílio de um paquímetro.

A porcentagem de inibição foi calculada conforme a Equ. 1, de acordo com as medidas tomadas na área da lesão.

A evolução da perda de massa fresca dos produtos foi quantificada em balança com precisão de 0,01g, expressa em porcentagem, considerando-se a diferença entre a massa inicial do fruto e aquela obtida a cada intervalo de tempo de amostragem.

Os teores de sólidos solúveis dos frutos foram determinados, segundo AOAC (1997), método 932.12, a partir da polpa triturada dos frutos, utilizando gaze para a obtenção do líquido, e quantificado em refratômetro digital modelo PR 101, sendo os resultados expressos em °Brix.

A acidez titulável dos frutos foi determinada em 10 gramas de polpa triturada, que foi diluída em 50 mL de água destilada, por meio de titulação com NaOH a 0,1 M. Para a quantificação utilizou-se a metodologia descrita pela AOAC (1997), método 942.15.

A firmeza da polpa foi determinada na região equatorial dos frutos após a retirada da casca, realizando duas leituras, em lados opostos, utilizando-se penetrômetro marca Bishop FT 327 provido de ponteira de 0,8 cm, sendo os resultados expressos em Newtons (N).

Para a atividade da enzima peroxidase (POD) (EC 1.11.1.7) foi realizada a extração da amostra pelo método de Lima; Brasil; Oliveira (1999), utilizando-se tampão fosfato de potássio (0,2M), e a atividade foi determinada no sobrenadante pelo método de Allain et al. (1974), utilizando-se como reagentes peróxido de hidrogênio e fenol. A leitura da absorbância foi feita em espectrofotômetro a 505 nm. Os resultados foram expressos em μmol de H_2O_2 degradado $\text{g}^{-1} \text{min}^{-1}$.

Para a atividade da enzima polifenoloxidase (PPO) (EC 1.14.18.1) utilizou-se o mesmo extrato preparado para a determinação da peroxidase, e para a determinação da atividade se utilizou apenas o fenol como reagente. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 420 nm. Os resultados foram expressos em μmol de fenol degradado $\text{g}^{-1} \text{min}^{-1}$.

A atividade enzimática da fenilalanina amônia-liase (PAL) (EC 4.3.1.5) foi determinada pelo método de Peixoto et al. (1999), na qual o extrato com tampão borato e fenilalanina foi incubado a 36 °C por 60 minutos, adicionado solução de ácido clorídrico para paralisar a atividade enzimática e leitura em espectrofotômetro a 290 nm. Os resultados foram expressos em nmol min^{-1} .

A determinação dos polifenóis extraíveis totais nos frutos foi realizada de acordo com Singlenton; Rossi (1965). Para a extração utilizou-se acetona 50% e para a reação foi utilizado 0,1 ml do sobrenadante, no qual foi adicionado 0,9 ml H_2O deionizada, 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu e 2,5 mL de carbonato de sódio a 20%.

A leitura das amostras foi realizada a 725 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico por 100 g de polpa.

O teor de carotenóides na polpa dos frutos foi analisado medindo a absorbância do sobrenadante em espectrofotômetro, em = 663nm para clorofila a e = 646nm para clorofila b; = 470nm para carotenóides. Os cálculos foram obtidos segundo equações desenvolvidas por Lichtenthaler (1987), expressos em mg de carotenoides 100 g^{-1} de polpa.

A mudança da coloração da casca e da polpa foi feita utilizando-se colorímetro MINOLTA CR 400, marca KONICA MINOLTA, onde foram determinados os valores de L^* , h° e C^* , sendo L^* : luminosidade (100 = branco; 0 = preto), h° : ângulo Hue e

C*:cromaticidade (MINOLTA, 2007). A leitura foi realizada na casca e na polpa em dois pontos diferentes no fruto.

3.8. ANÁLISE DOS DADOS

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e o efeito dos tratamentos, quando significativo, por meio do Teste F. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. AVALIAÇÃO INICIAL DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

A concentração inibitória mínima foi considerada aquela que inibisse 90% da germinação dos esporos do fungo a partir da menor concentração do óleo (Figura 1). O óleo de tomilho (*Thymus vulgaris*) foi o que apresentou melhor resultado, inibindo mais de 90% da germinação dos esporos, na concentração de 0,045%. Os demais óleos apresentaram comportamento semelhante, passando a inibir 90% da germinação de esporos a partir da concentração de 0,75%. Marques (2015) testando diferentes óleos essenciais na inibição do *C. gloeosporioides* isolados de abacate conseguiu resultados semelhantes. *Thymus vulgaris* apresentou a concentração inibitória mínima para o fungo de 0,047%, seguido das espécies *Cymbopogon citratus*, *Lippia alba*, *Cymbopogon winterianus*, *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus nitens* com 0,75%.

Devido às características inibitórias apresentadas, foram selecionados o óleo de capim-limão (*C. citratus*), tomilho (*T. vulgaris*) e o de eucalipto comum (*E. globulus*), pertencentes a diferentes grupos majoritários para realização do experimento *in vitro* e *in vivo*.

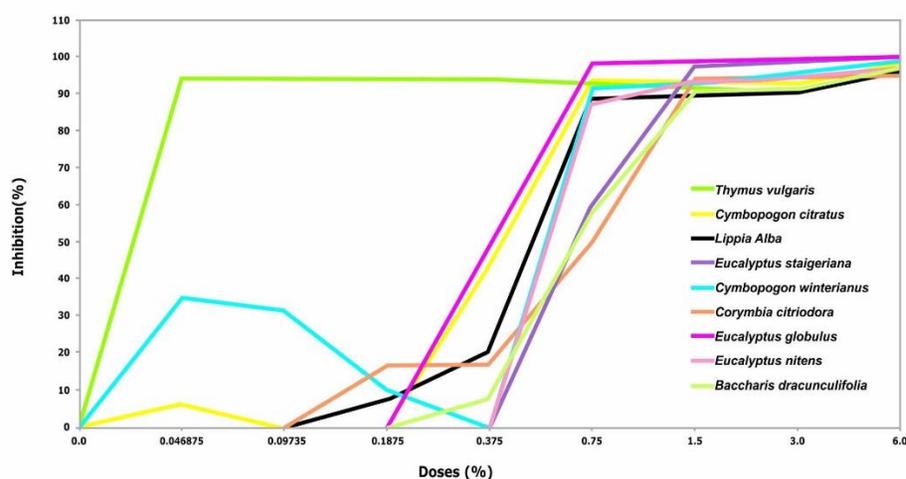


Figura 1. Determinação do potencial antifúngico dos óleos essenciais, pelo método de avaliação da concentração inibitória mínima, no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*.

4.2. COMPOSIÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

4.2.1. Composição do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*)

A composição do óleo essencial de capim-limão, com seu composto majoritário e seus compostos secundários encontram-se agrupados na Tabela 2. Pôde-se verificar que o citral é o componente encontrado em maiores concentrações (majoritário) nesse óleo, composto pelo α -Citral (35,68%) e β -Citral (29,90%), porém não se pode afirmar que o efeito antifúngico desse óleo está associado a esse componente, uma vez que não foram analisados isoladamente nesse trabalho. Vários autores já relataram o citral como sendo o principal componente do óleo de capim-limão (ABEGAZ; YOAHHNES, 1983; EL FATTAH et al., 1992; CARRICONDE et al., 1996).

Tabela 2: Principais componentes do óleo de capim-limão (*Cymbopogon citratus*)

Composto	Tempo de Retenção (TR)	Índice de Kovats (IK)	(%)
Camphene	8.940	1026	1,03
5-Hepten-2-one, 6-methyl	10.201	1089	1,42
4-Nonanone	13.225	1266	1,42
Linalool	14.183	1302	1,87
Carane, 4,5-epoxy	17.150	1385	4,01
α -terpineol	17.509	1396	0,84
β -Citral	19.243	1446	29,90
cis-Geraniol	19.659	1458	7,65
α -Citral	20.267	1476	35,68
Geraniol acetate	23.967	1588	6,72
β -Caryophyllene	25.215	1801	3,60

4.2.2. Composição do óleo essencial de eucalipto-comum (*E. globulus*)

Os dados da composição do óleo essencial de eucalipto comum, com seu composto majoritário e seus compostos secundários encontram-se agrupados na Tabela 3. Pode-se verificar que 1,8-cineole (54,21%), é o componente encontrado

em maiores concentrações, porém não se pode afirmar que o efeito antifúngico deste óleo está associado a este componente uma vez que os mesmos não foram analisados isoladamente nesse trabalho.

Tabela 3. Principais componentes do óleo de eucalipto comum (*Eucalyptus globulus*).

Composto	Tempo de Retenção (TR)	Índice de Kovats (IK)	(%)
α -pinene	8.451	1001	11,85
β -pinene	9.883	1073	0,69
β -myrcene	10.325	1095	0,86
α -felandrene	10.808	1136	0,99
p -cymene	11.526	1201	11,49
α -limonene	11.691	1207	13,73
1,8-cineole	11.792	1211	54,21
γ -terpinene	12.714	1247	4,73

4.2.3. Composição do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*)

Na avaliação da composição química do óleo essencial *T. vulgaris* foram identificados os compostos majoritários de timol (17,30%), β -cymene (19,10%) e carvacrol (20,00%) (Tabela 4). Nessa avaliação foram identificados 23 compostos no óleo essencial de tomilho, representando 98,78% da composição total do óleo.

Tabela 4. Principais componentes do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*).

Composto	Tempo de Retenção (TR)	Índice de Kovats (IK)	(%)
Tricyclene	8.064	967	0,13
Sabinene	8.223	981	0,12
α -Pinene	8.783	1018	5,84
α - Terminene	8.925	1025	4,01
β -Pinene	9.866	1072	0,82
Myrcene	10.306	1094	1,81
α -Fellandrene	10.691	1127	1,18
3-Carene	11.011	1158	0,59
Terpinolene	11.231	1179	0,48
β -Cymene	11.518	1201	19,10
α -limonene	11.652	1206	4,22
1,8-cineole	11.756	1210	2,87
γ -Terpinene	12.739	1248	0,86
α -Terpinolene	13.793	1288	1,00
linalool	14.178	1302	5,51
Camphor	15.866	1349	0,88
Isoborneol	16.300	1362	1,98
Borneol	16.623	1371	4,06
Terpinen-4-ol	17.027	1382	1,65
α -Terpinol	17.503	1395	1,84
Isobornyl acetate	20.825	1492	2,53
Thymol	20.971	1496	17,30
Carvacrol	21.311	1507	20,00

4.3. EFEITO DO PRÓPOLIS VERDE NO CRESCIMENTO MICELIAL E NA GERMINAÇÃO CONIDIAL DE *Colletotrichum gloeosporioides*

Observou-se que todos os tratamentos tem o efeito inibitório do extrato de própolis verde no crescimento micelial (*in vitro*) de *Colletotrichum gloeosporioides*, havendo diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 2). Ao analisar estatisticamente observou-se que os tratamentos 1%, 1,5%, 2% e 2,5% retardaram o

crescimento do fungo até o terceiro dia de incubação a 27 ± 1 °C. A partir do quarto dia de incubação todos os tratamentos apresentaram crescimento micelial, sendo os tratamentos com as maiores concentrações (1,5; 2 e 2,5%) os que proporcionaram maiores valores de inibição ao final do sétimo dia de incubação, indicando, assim, o efeito da concentração do própolis verde na inibição do crescimento micelial do fungo. Pastana et al. (2016) também relataram essa relação entre a diminuição do crescimento micelial com o aumento das doses, quando trabalharam com própolis nas concentrações de 4; 8; 16 e 32 mL L⁻¹ de própolis, *in vitro*, verificando que os melhores resultados no controle de *C. gloeosporioides* de berinjela foram observados com os tratamentos nas maiores concentrações. Mattiuz et al. (2015) trabalhando com própolis no controle do *C. gloeosporioides in vitro* observaram inibição total do crescimento micelial na concentração de 2,5% de própolis em fungos incubados por 7 dias.

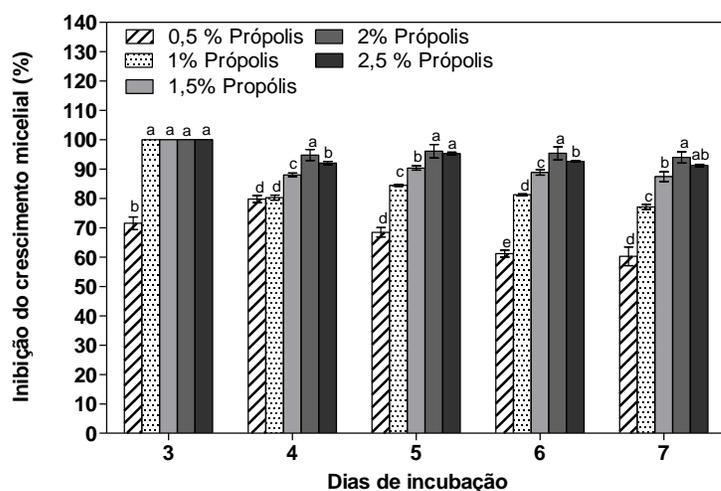


Figura 2. Efeito inibitório do extrato de própolis verde no crescimento micelial *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, durante 7 dias a 27 ± 1 °C. Médias \pm erro padrão com letras iguais, em cada dia, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=6$).

Quando se avaliou o efeito do própolis verde na germinação de esporos do *C. gloeosporioides*, foi possível verificar um decréscimo na germinação à medida que se

aumentou a concentração do própolis verde (Figura 3). Todas as concentrações causaram redução satisfatória na germinação conidial, sendo que as maiores concentrações (2 e 2,5%) apresentaram os menores números de conídios germinados. Resultados com doses inferiores a esta foram encontrados por Scheffer et al. (2015), que, já na concentração de 0,5% do extrato etanólico de própolis verde, constataram 100% na inibição da germinação de *C. gloeosporioides in vitro*. Mattiuz et al. (2015) observaram inibição total na germinação de esporos a partir da concentração de 2% de própolis. O própolis contém compostos flavonoides, ácidos fenólicos, ésteres, quinonas, cumarinas, sesquiterpenos, esteróis, os quais conferem propriedades antifúngicas (MARKHAM et al., 1996). Embora esse trabalho não tenha caracterizado o própolis verde, pode-se supor que os resultados observados são decorrentes da ação desses componentes, pois sabe-se que independente da origem, essas substâncias sempre estarão presentes, em maior ou menor quantidade, conferindo ao própolis a ação antimicrobiana, sendo essa a função primordial para a manutenção da vida na colméia (BANKOVA et al., 1998).

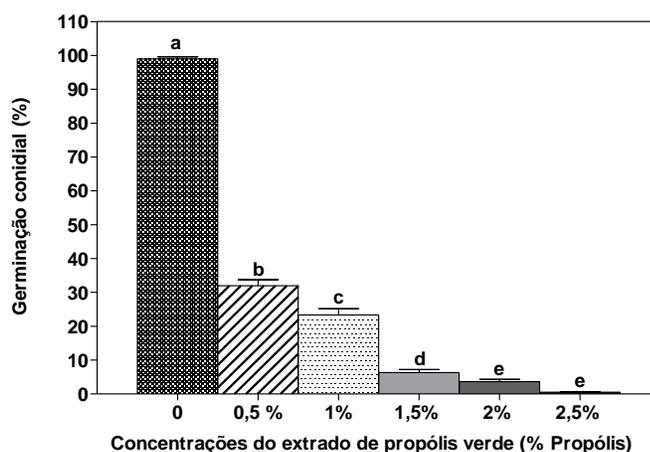


Figura 3. Porcentagem de germinação conidial de *Colletotrichum gloeosporioides in vitro*, tratados com própolis verde e incubado por 10 horas a 27 ± 1 °C. Médias \pm erro padrão com letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=6$).

4.4. EFEITO DO PRÓPOLIS VERDE EM MANGAS 'PALMER' INOCULADAS COM *Colletotrichum gloeosporioides*

Para as mangas armazenadas a 12 °C durante 12 dias verificou-se menores diâmetros de lesão quando comparadas com o diâmetro da lesão ao final do período de armazenamento em temperatura de ambiente (Figura 4A). As mangas submetidas ao tratamento cera + 1% de própolis verde apresentaram menor diâmetro da lesão e, conseqüentemente, maior porcentagem de inibição no 12º dia de armazenamento. Posteriormente, ao retirar os frutos da refrigeração e acondicioná-los à temperatura de ambiente (22±2 °C e 65±5% UR) ocorreu aumento no metabolismo do patógeno, evidenciado pelo maior diâmetro da lesão. Aos 15 dias de armazenamento foi observado que a inibição e o diâmetro da lesão foram menores para os frutos tratados somente com cera e cera + 1,5; 2 e 2,5% de própolis verde (Figura 4B). Mariano (2015) também verificou a eficiência do própolis adicionado ao recobrimento de quitosana no controle da antracnose de abacates armazenados a 22 °C por 7 dias. Mattiuz et al. (2015) verificaram baixa taxa de inibição da lesão (22%) para mangas 'Kent' inoculadas com *C. gloeosporioides*, armazenadas por 14 dias a 12° C e mais 7 dias a 23°C e tratadas com própolis a 1,5%.

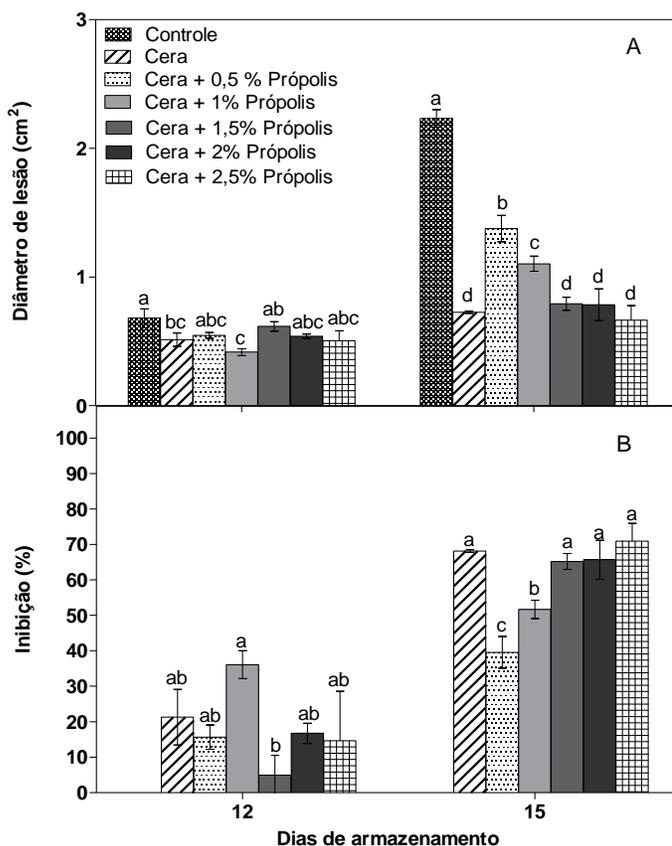


Figura 4. Diâmetro da lesão (A) e porcentagem de inibição (B) da antracnose em mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera de carnaúba e associações de própolis verde, armazenadas por 12 dias a 12 ± 2 °C e mais 3 dias a 22 ± 2 °C e 65 ± 5 UR. Médias \pm erro padrão com letras minúsculas iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Com exceção dos frutos tratados com cera associado a 2 e 2,5% de extrato de própolis verde, os demais tratamentos apresentaram aumento significativo no tamanho da lesão ao longo do período de armazenamento (Tabela 5). Todos os tratamentos apresentaram aumento significativo na porcentagem de inibição ao longo do período de armazenamento.

Tabela 5. Diâmetro da lesão (cm²) e inibição da lesão (%) da antracnose em mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de própolis verde, armazenadas por 12 dias a 12±2 °C e mais 3 dias a 22±2 °C e 65±5% UR.

Tratamento	Dias de armazenamento	
	12	15
	----- Diâmetro da Lesão (cm ²) -----	
Controle	0,68 b	2,23 a
Cera	0,51 b	0,73 a
Cera + 0,5% Própolis	0,55 b	1,38 a
Cera + 1% Própolis	0,42 b	1,10 a
Cera + 1,5% Própolis	0,62 b	0,79 a
Cera + 2% Própolis	0,54 a	0,78 a
Cera + 2,5% Própolis	0,50 a	0,66 a
	----- Inibição (%) -----	
Cera	16,41 b	68,14 a
Cera + 0,5% Própolis	15,68 b	39,58 a
Cera + 1% Própolis	36,10 b	51,68 a
Cera + 1,5% Própolis	4,96 b	65,24 a
Cera + 2% Própolis	16,76 b	65,70 a
Cera + 2,5% Própolis	14,65 b	70,99 a

Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P>0,05) (n=4)

No período de armazenamento refrigerado a 12±2 °C os frutos apresentaram perdas médias de massa fresca de 1,23%, apresentando diferenças significativas ao final desse período, no qual os frutos do tratamento controle foram os que apresentaram as maiores perdas (Figura 5). Em temperatura de ambiente, no 15º dia pode-se observar um aumento na média de perda de massa fresca para 2,24%, provavelmente ocasionada pelo aumento da respiração e transpiração dos frutos à temperatura mais elevada. Os frutos tratados com cera e própolis a 2% e 2,5% foram os que apresentaram menores perdas no final do período de armazenamento em temperatura de ambiente. Provavelmente as maiores concentrações de própolis

associadas à cera proporcionaram a formação de um revestimento mais espesso na superfície das mangas, contribuindo para aumentar a barreira às trocas gasosas dos frutos. Os frutos do controle foram os que apresentaram a maior perda de massa (2,72%). Resultados semelhantes a este foram encontrados por Daiuto et al. (2012), em abacates 'Hass' tratados com cera e própolis e armazenados sob refrigeração (10 ± 1 °C e $90 \pm 5\%$ UR) e mais 3 dias em temperatura de ambiente (23 ± 1 °C e 18% UR). Isso ocorre porque em frutos tratados com revestimentos têm-se a formação de uma cobertura com preenchimento parcial dos estômatos, reduzindo assim a transferência de umidade (transpiração) e as trocas gasosas (respiração) (ASSIS et al., 2009).

Todos os tratamentos sofreram acréscimos significativos de perda de massa fresca ao longo do período de armazenamento (Tabela 6).

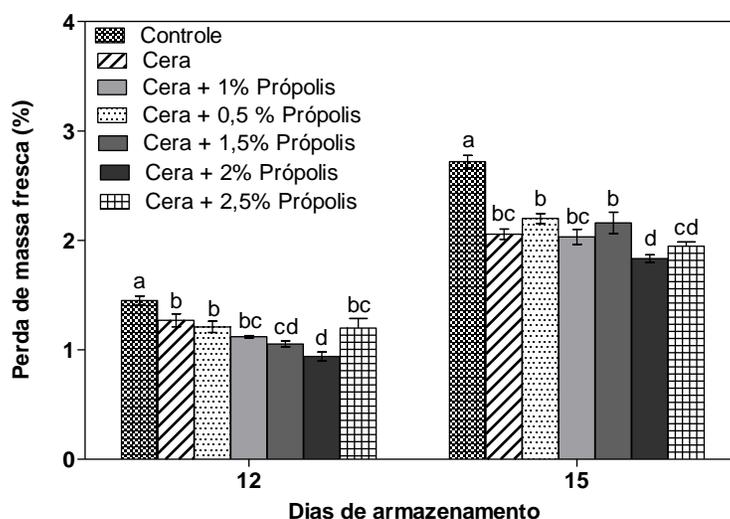


Figura 5. Perda de massa fresca, em porcentagem, de mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de própolis verde, armazenadas por 12 dias a 12 ± 2 °C e mais 3 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras minúsculas iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Tabela 6. Evolução da perda de massa fresca (%), de mangas ‘Palmer’ inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de própolis verde, armazenadas por 12 dias a 12±2°C e mais 3 dias a 22±2 °C e 65±5% UR.

Tratamento	Dias de armazenamento	
	12	15
	----- <i>Perda de massa fresca</i> -----	
Controle	1,45 b	2,72 a
Cera	1,27 b	2,06 a
Cera + 0,5% Própolis	1,21 b	2,20 a
Cera + 1% Própolis	1,12 b	2,03 a
Cera + 1,5% Própolis	1,05 b	2,16 a
Cera + 2% Própolis	0,94 b	1,83 a
Cera + 2,5% Própolis	1,20 b	1,95 a

Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P>0,05) (n=4)

Durante os 12 dias de armazenamento os teores de sólidos solúveis nos frutos mantiveram-se estáveis, próximos ao valor inicial, o que é ocasionado pela redução da temperatura que diminui o metabolismo do vegetal e, conseqüentemente, retarda a maturação dos frutos (Figura 6). Aos 15 dias após o armazenamento e sob à temperatura de 22 °C, observou-se uma pequena variação nas médias, sendo que as mangas revestidas com cera de carnaúba associada ao extrato de própolis a 2,0% foram as que apresentaram menores teores, sendo este, justificado pela menor perda de água, juntamente com o tratamento cera + 2,5 EPV (Figura 5).

Os teores de sólidos solúveis (SS) segundo Chitarra; Chitarra (2005) correspondem a todas substâncias que se encontram dissolvidas em determinado solvente, sendo os açúcares o seu principal representante. Uma vez que os frutos perdem água (solvente) ao longo do período de armazenamento, era de se esperar um acréscimo nos teores de SS.

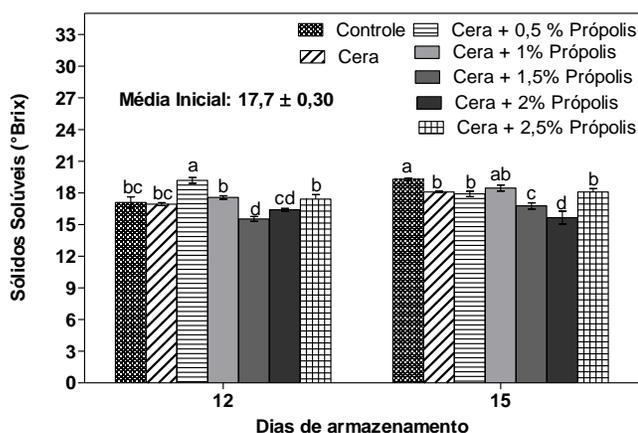


Figura 6. Teores de Sólidos solúveis (°Brix) de mangas ‘Palmer’ inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de própolis verde, armazenadas por 12 dias a 12 ± 2 °C e mais 3 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras minúsculas iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Para a acidez titulável houve decréscimo do teor em todos os tratamentos, ao longo do período de armazenamento quando comparado com a média inicial (Figura 7A). Verificou-se, entretanto, que as mangas tratadas com cera associadas a 1; 1,5 e 2% de extrato de própolis, foram as que apresentaram maiores valores de acidez até os 12 dias de armazenamento refrigerado.

Após o 3º dia de armazenamento a 22 °C observou-se redução na acidez dos frutos tratados com cera associada ao extrato de própolis verde (1; 1,5; 2 e 2,5%), sendo que os frutos do controle foram os que apresentaram maior acidez, seguido pelos tratamentos com cera e cera associada a 0,5% de extrato de própolis. Daiuto et al. (2012) também verificaram oscilações na acidez ao longo do período de armazenamento para abacates tratados com cera e extrato de própolis, ocorrendo redução dos valores após o terceiro dia de armazenamento, com posterior elevação nos teores após o 15º dia, quando os frutos foram transferidos para temperatura de ambiente. A redução da acidez é decorrência natural da evolução da maturação dos frutos, na qual os ácidos orgânicos são metabolizados na via respiratória e convertidos em moléculas não-ácidas (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Já o aumento

da acidez pode ocorrer devido ao crescimento desigual dos fungos nos frutos que utilizam dos açúcares presentes, como substrato, elevando a concentração de ácidos (PECH, 2002). Esse aumento, segundo Costa e Balbino (2002) deve-se à formação do ácido galacturônico no processo de degradação da parede celular que ocorre durante o amadurecimento de frutos.

Aos 12 dias de armazenamento, os teores de ácido ascórbico nos frutos de manga aumentaram quando comparados à média inicial (45,64 mg de ácido ascórbico 100 g⁻¹ de polpa), exceto para os frutos tratados com cera+0,5% de própolis (Figura 7B). Contudo, após os 3 dias de armazenamento a 22 °C, os tratamentos apresentaram comportamentos distintos, pois alguns mantiveram os teores (controle), enquanto outros apresentaram acréscimos (cera + 0,5 própolis) e os demais apresentaram decréscimos no conteúdo de ácido ascórbico durante esse período. Os frutos tratados com cera+1,5% de própolis foram os que apresentaram menor conteúdo de ácido ascórbico.

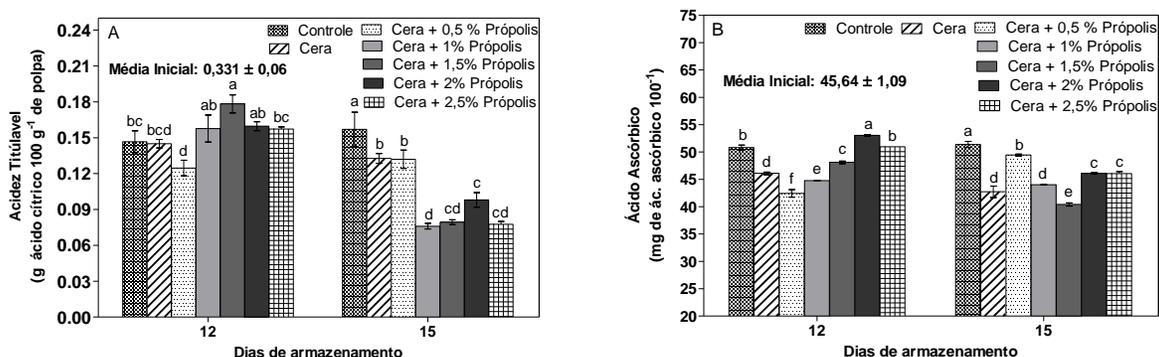


Figura 7. Teores de Acidez titulável (A) e de ácido ascórbico (B), de mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de própolis verde, armazenadas por 12 dias a 12±2 °C e mais 3 dias a 22±2 °C e 65±5% UR. Médias ± erro padrão com letras minúsculas iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P > 0,05) (n=4).

Para todos os frutos observou-se um decréscimo em relação ao valor inicial da firmeza, durante o período de armazenamento (Figura 8). Para o período de armazenamento em temperatura de refrigeração (12 °C) foi verificada a menor manutenção da firmeza nas mangas tratadas com cera+2 e 2,5% de própolis (22,05

e 26,62 N respectivamente). Após serem colocadas sob temperatura de ambiente (22 °C) por 3 dias, observou-se perda significativa da firmeza para todos os tratamentos, principalmente, para os frutos do tratamento controle. Os frutos tratados com cera associada a 1; 1,5; 2 e 2,5% de própolis mostraram-se mais resistentes quanto a perda de firmeza quando comparados aos demais frutos, resultados esses que podem ser explicados pela menor perda de massa fresca, promovendo assim maior turgidez das células. A firmeza de frutos de abacate também foi maior ao final dos 7 dias de armazenamento a 22°C, quando tratados com própolis associado a quitosana nas concentrações de 1,5% (MARQUES, 2015). Mattiuz et al. (2015) não encontraram diferenças significativas para firmeza de frutos de manga inoculados com *C. gloeosporioides* e tratados com própolis, armazenados por 21 dias.

A diminuição da firmeza é decorrente do processo de amadurecimento, devido à degradação da parede celular por meio do aumento de atividade das enzimas pectinolíticas, associada a outros processos, como hidrólise de amido e perda de água (Chitarra; Chitarra, 2005). Esse processo pode ter sido intensificado pela maior proliferação dos fungos inoculados nestes frutos quando comparados com os demais tratamentos, que degradaram ainda mais as estruturas da parede celular.

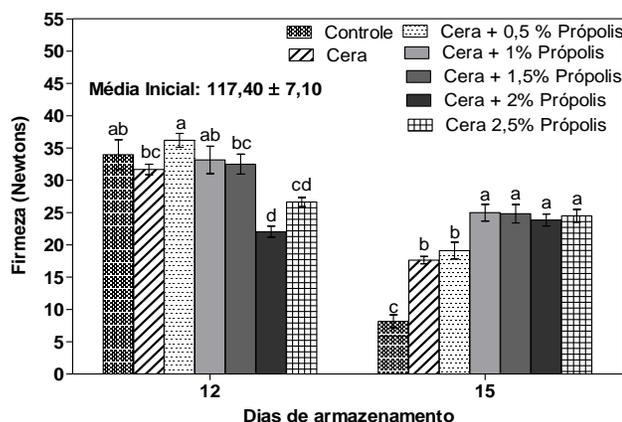


Figura 8. Firmeza de mangas ‘Palmer’ inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de própolis verde, armazenadas por 12 dias a 12±2 °C e mais 3 dias a 22±2 °C e 65±5% UR. Médias ± erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P > 0,05) (n=4).

Os teores de carotenoides aumentaram desde o início do armazenamento refrigerado. Aos 12 dias verificou-se que os tratamentos diferiram significativamente entre si (Figura 9). Após a transferência para temperatura de ambiente, mesmo ocorrendo variação entre as médias dos tratamentos, os mesmos não apresentaram diferenças significativas.

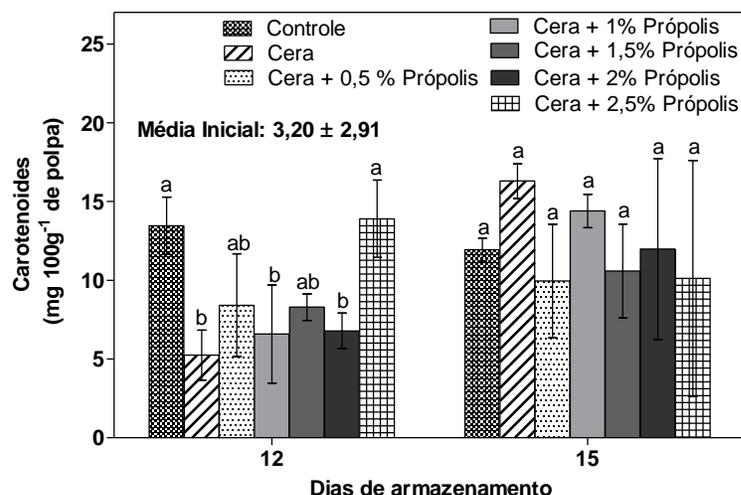


Figura 9. Carotenoides de mangas ‘Palmer’, inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de própolis verde, armazenadas por 12 dias a 12±2 °C e mais 3 dias a 22±2 °C e 65±5% UR. Médias ± erro padrão com letras minúsculas iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Para coloração da casca observou-se que os frutos não sofreram influência dos tratamentos, nem do período de armazenamento, não apresentando diferenças significativas para as variáveis de luminosidade, de cromaticidade e ângulo Hue (Figura 10). Já Marino (2015) verificou alterações no ângulo Hue e a cromaticidade dos frutos de abacate tratados com própolis associado a quitosana, no qual essa associação se mostrou eficiente em atrasar a maturação dos frutos comparados com os frutos do controle e dos tratados apenas com quitosana. Mattiuz et al. (2015) não constataram eficiência na manutenção da coloração com 1,5% de própolis, mas

constaram eficiência na manutenção da coloração de mangas 'Kent', inoculadas com *C. gloeosporioides* e armazenadas por 21 dias, tratadas com quitosana a 1,5%.

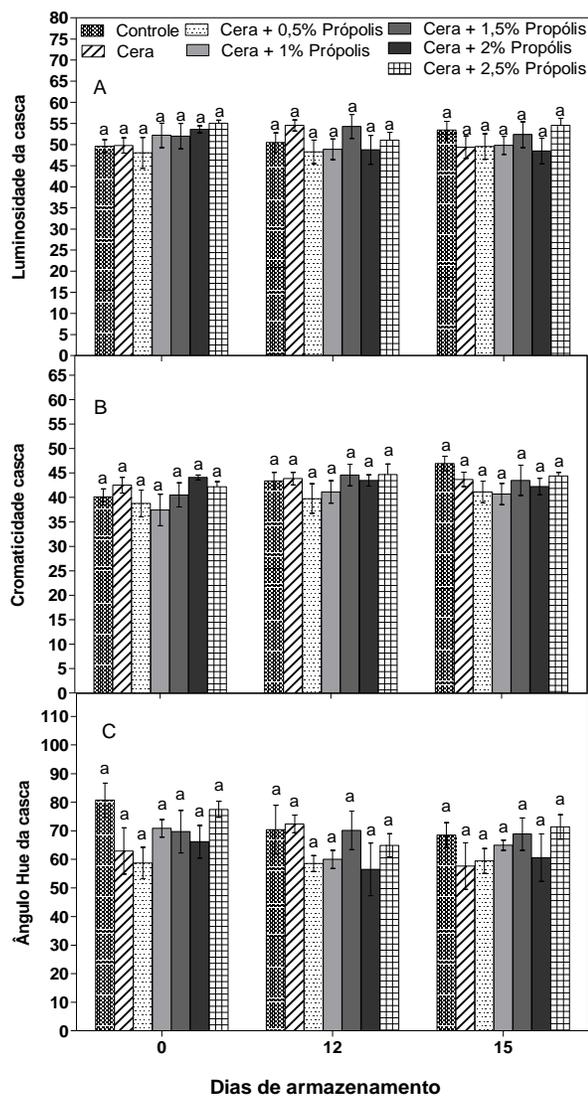


Figura 10. Coloração da casca de mangas 'Palmer', expressa em luminosidade (A), Cromaticidade (B) e ângulo Hue (C), inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de própolis verde, armazenadas por 12 dias a 12 ± 2 °C e mais 3 dias a 22 ± 2 °C e $65\pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras minúsculas iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Quanto a coloração da polpa é possível verificar variações ao longo do período de armazenamento. Para a luminosidade da polpa, houve acréscimos nos valores quando comparados com a média inicial (50,73), porém ao final do 15º dia de armazenamento foram encontrados valores semelhantes para os tratamentos (Figura 11A). Para cromaticidade observou-se um incremento nos seus valores, até o 12º dia de armazenamento, quando comparado com a média inicial (Figura 11B). O controle, a cera e cera + 0,5% de EPV foram os que apresentaram os maiores acréscimos. Quando transferidos para temperatura ambiente, todos os tratamentos apresentaram comportamento semelhantes, não diferindo significativamente entre eles.

Com relação ao ângulo Hue (Figura 11C) foi possível verificar que os frutos não apresentaram grandes variações ao longo do período de armazenamento, sendo que os frutos do controle diferiram dos demais tratamentos aos 12 dias de armazenamento. A média para ângulo Hue no 15º dia de armazenamento para todos os tratamentos foi de 84,28. Marino (2015) também verificou essas alterações na coloração da polpa para frutos de abacates, onde os frutos do controle apresentaram as menores médias para a luminosidade e cromaticidade da polpa, diferindo dos frutos tratados com quitosana 1,5% e com própolis associado à quitosana nas concentrações de 1,5%. Isso significa que a polpa dos abacates controle estava mais escura, provavelmente por estes já terem iniciado o processo de amadurecimento evoluindo para senescência, fato este evidenciado neste trabalho.

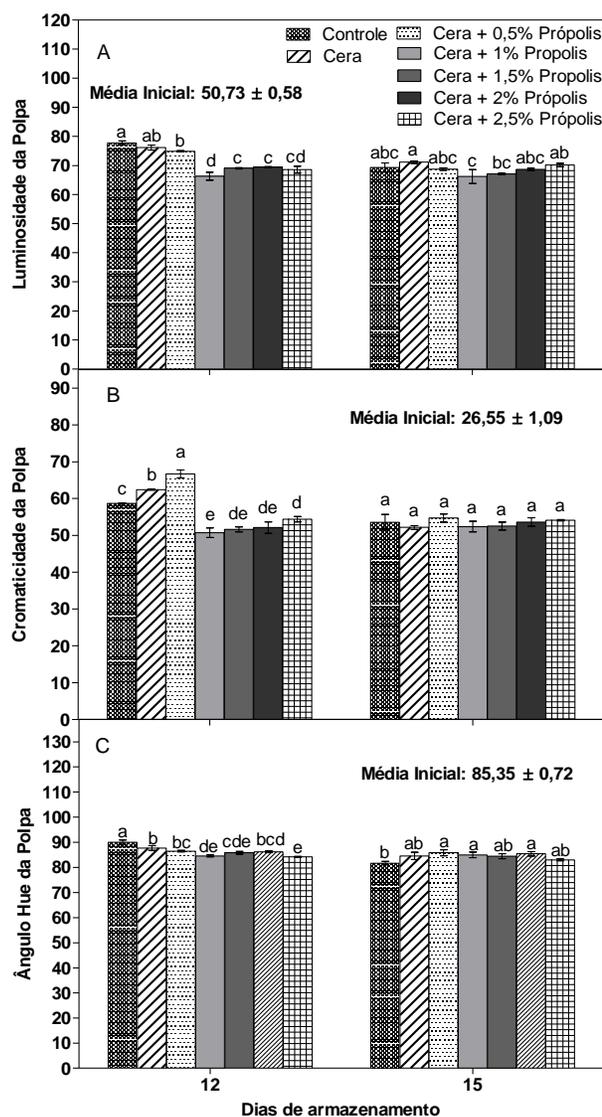


Figura 11. Coloração da polpa de mangas ‘Palmer’, expressa em luminosidade (A), Cromaticidade (B) e ângulo Hue (C), inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de própolis verde, armazenadas por 12 dias a 12 ± 2 °C e mais 3 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras minúsculas iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

A fenilalanina amônia-liase apresentou comportamento distinto dentre os tratamentos ao longo do período de armazenamento (Figura 12). É possível verificar um decréscimo na atividade desta enzima para os frutos tratados com cera + 0,5% de própolis e cera + 1% de própolis aos 12 dias de armazenamento refrigerado quanto comparados com a atividade inicial desta enzima.

Depois de transferidos e mantidos por três dias em temperatura de ambiente somente os frutos tratados com cera + 0,5% EPV, diferiram significativamente dos frutos do controle. A atividade da PAL registrada por Marques (2015) na polpa de abacates inoculados e tratados com cera + óleo de tomilho, aumentou até os 17 dias de armazenamento, sendo a maior atividade encontrada nos frutos do controle imersos somente em água, diferindo dos resultados encontrados nesse trabalho.

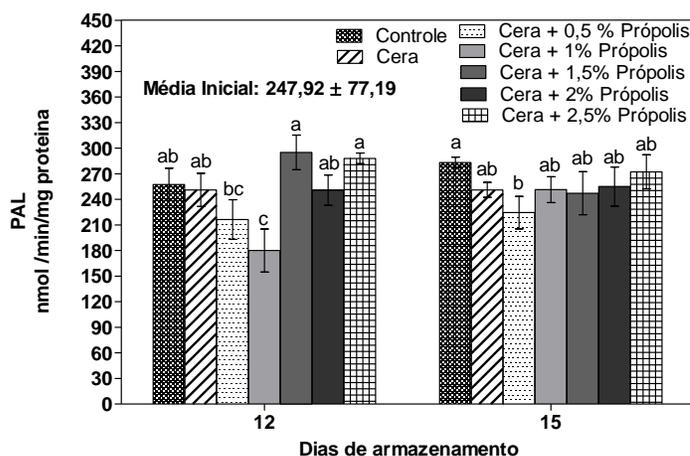


Figura 12. Atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) em mangas ‘Palmer’ inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de própolis verde, armazenadas por 12 dias a 12 ± 2 °C e mais 3 dias a 22 ± 2 °C e $65\pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras minúsculas iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

O teor de polifenóis extraíveis totais do controle e de todos os frutos tratados, diminuiram durante os 12 dias de armazenamento quando comparado com a média inicial (Figura 13). Os valores diferiram significativamente entre os tratamentos.

No 15º dia de armazenamento, é possível verificar uma variação significativa entre os tratamentos, sendo que os frutos do controle e cera + 1% de própolis foram os que apresentaram os maiores teores de polifenóis (9,23 e 8, respectivamente). Esse maior teor de polifenóis dos frutos do controle podem estar relacionados com o maior diâmetro da lesão (Figura 4), que conseqüentemente ativa as atividades da enzima PAL (Figura 12) que acaba gerando uma maior produção de polifenóis. Marques (2015) também verificou resultados satisfatórios aos encontrados nesse trabalho, onde os menores valores para polifenóis extraíveis totais da polpa de abacate inoculados, foram encontrados nos frutos tratados com as maiores concentrações de quitosana, a 1,0%; 1,5% e 2,0%. Os frutos do controle somente não diferiram dos frutos tratados com cera associada a 1,5% de própolis verdes no final do período de armazenamento, em temperatura de ambiente. Estes valores estão relacionados aos encontrados para as enzimas POD e PPO (Figura 14A e 14B), uma vez que atividade destas enzimas no tecido injuriado pela ação dos fungos, ativa o metabolismo secundário das células, que é uma das rotas formadoras de compostos fenólicos (DING et al., 2001).

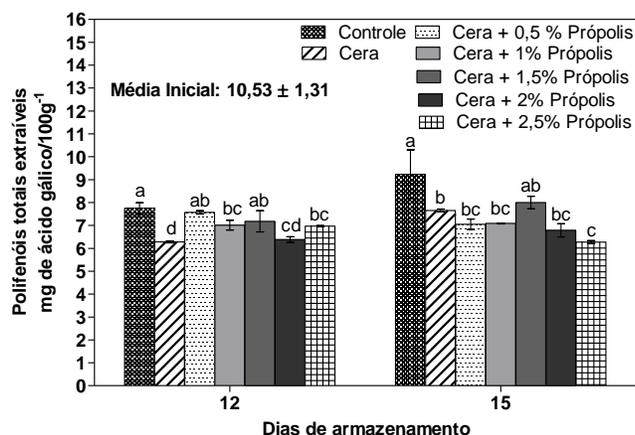


Figura 13. Polifenóis extraíveis totais em mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de própolis verde, armazenadas por 12 dias a 12 ± 2 °C e mais 3 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras minúsculas iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Para todos os tratamentos pode-se observar um pequeno acréscimo na atividade da enzima polifenoloxidase quando comparada com a média inicial (Média final $0,108 \mu\text{mols de H}_2\text{O}_2 \text{ degradados g}^{-1} \text{ min}^{-1}$) (Figura 14A). Como os frutos estavam inoculados era de se esperar um aumento na atividade dessa enzima, pois geralmente apresentam grande atividade em tecidos injuriados, relacionadas com as reações de defesa induzidas em vegetais (AGRIOS, 2005; MAYER, 2006).

No 12º dia de armazenamento, os frutos tratados somente com a cera de carnaúba e armazenados a 12°C apresentaram baixa atividade enzimática, diferindo significativamente somente dos frutos do controle. Esta menor atividade enzimática pode estar relacionados com os menores teores de polifenóis (Figura 13), que servem como substratos para atividades desta enzima. Aos 15 dias de armazenamento e em temperatura de ambiente não ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos, mantendo-se estável a atividade da polifenoloxidase neste período.

A atividade da enzima peroxidase aumentou nos tratamentos quando comparado com a média inicial ($0,018 \mu\text{mols de H}_2\text{O}_2 \text{ degradados g}^{-1} \text{ min}^{-1}$). Os frutos submetidos aos tratamentos com cera e cera associada ao própolis tanto sob refrigeração quanto em temperatura de ambiente apresentaram atividade enzimática menor que o controle. Novamente os frutos tratados somente com cera apresentaram as menores médias para atividade da POD, diferindo significativamente somente dos frutos do controle, fato este evidenciado pela menor quantidade de polifenóis presente nestes frutos (Figura 13).

O aumento da atividade durante os 3 dias em que os frutos foram armazenados em temperatura de 22°C pode ser devido ao aumento no metabolismo dos frutos, em decorrência do aumento da temperatura, acelerando o amadurecimento e o aumento da incidência da antracnose nos frutos inoculados (Figura 14B).

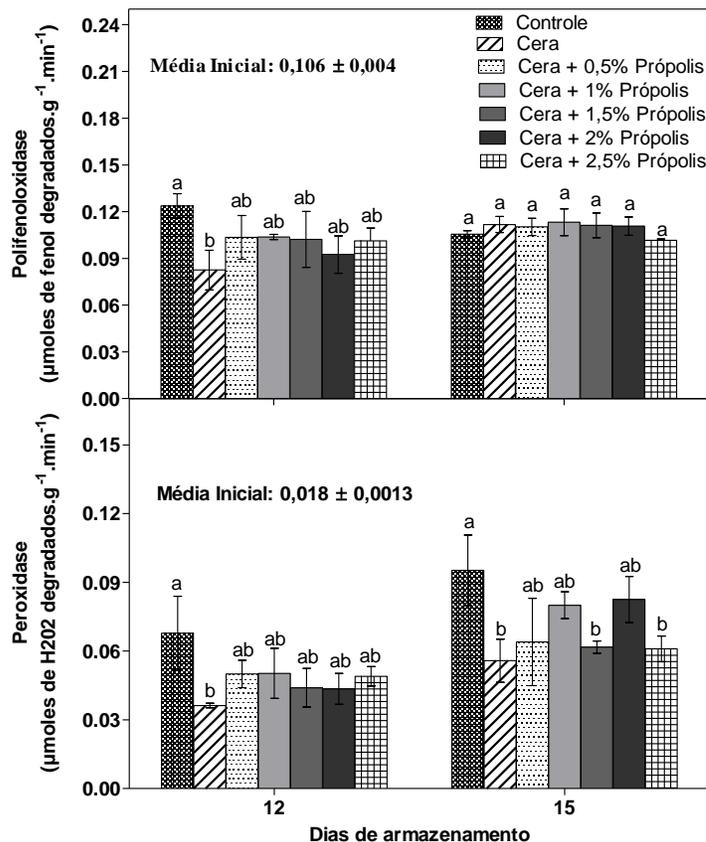


Figura 14. Atividade da polifenoloxidase (A) e da peroxidase (B), de mangas ‘Palmer’ inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de própolis verde, armazenadas por 12 dias a 12±2 °C e mais 3 dias a 22±2 °C e 65±5% UR. Médias ± erro padrão com letras minúsculas iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Pelos resultados obtidos, foi possível verificar a eficiência do extato de própolis verde no experimento *in vitro*, tanto para crescimento micelial quanto para germinação de esporos de *C. gloeosporioides*, no qual, a partir da menor concentração testada (0,5%) houve inibição de 70% no crescimento micelial até o 7 dia de incubação e uma porcentagem de germinação de esporos abaixo dos 40%.

No experimento *in vivo* foi possível verificar a eficiência da cera associada ou não ao extrato de própolis verde, principalmente na inibição do diâmetro da lesão,

perda de massa fresca, polifenóis e firmeza, nos quais seus valores apresentam diferenças significativas, comparados com o controle no final do período de armazenamento.

4.5. EFEITO DO CAPIM-LIMÃO (*Cymbopogon citratus*) NO CRESCIMENTO MICELIAL E NA GERMINAÇÃO CONIDIAL DE *Colletotrichum gloeosporioides*

O tratamento com 250 ppm de capim-limão inibiu em 100% o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* ao longo dos 7 dias de incubação (Figura 15), diferindo significativamente dos demais tratamentos. Guimarães; Cardoso (2007) trabalhando com capim-limão verificaram inibição de 100% do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* a partir da concentração de 500 ppm, resultados estes duas vezes maior ao encontrado neste estudo. Já Carnelossi et. al. (2009) obtiveram 100% de inibição a partir da concentração de 10 ppm, concentração bem inferior às encontradas neste trabalho. Esta diferença nas concentrações, pode ser justificada pela diferença na composição de cada óleo, uma vez que a atividade antimicrobiana do *C. citratus* é definida principalmente pela quantidade do composto citral presente em cada óleo (GUIMARÃES; CARDOSO, 2008). Já as concentrações de 5; 10 e 50 ppm do óleo de capim-limão foram as menos eficiente na inibição do crescimento micelial no período de incubação, não apresentando diferença significativa entre si. Em relação ao tratamento com 100 ppm, observou-se 100% de inibição do crescimento micelial apenas nos dois primeiros dias de incubação. Após, a taxa de inibição esteve abaixo dos 50%, mostrando assim um efeito retardatório no crescimento micelial de *C. gloeosporioides*.

Experimentos *in vitro*, com diferentes concentrações são muito importantes por permitir a identificação de óleos essenciais, e suas concentrações, que são eficazes na inibição de microrganismos patogênicos (COMBRINCK; REGNIER; KAMATOU, 2011).

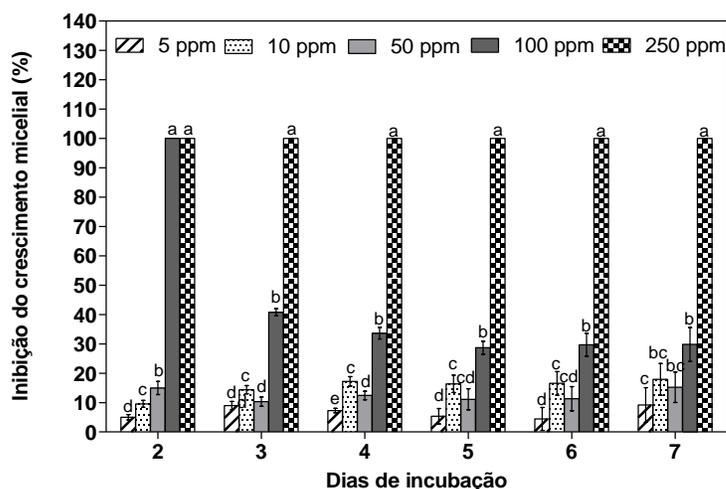


Figura 15. Efeito inibitório do capim-limão no crescimento micelial *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, durante 7 dias a 27 ± 1 °C. Médias \pm erro padrão com letras iguais, em cada dia, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=6$).

Para a germinação conidial (Figura 16), foi possível verificar o efeito inverso da concentração em relação à germinação, em que à medida que se aumenta a concentração do capim-limão diminui a germinação conidial. Pode-se verificar que todas as concentrações foram eficientes em diminuir a taxa de germinação dos conídios, sendo as maiores concentrações (1000 e 1500 ppm) as que apresentaram as menores taxas de germinação, não apresentando diferenças significativas entre si. Marques (2015) obteve resultados satisfatórios no controle da germinação de *C. gloeosporioides*, agente etiológico da antracnose de abacates, com óleo de capim-limão nas maiores concentrações (1000 e 2000 $\mu\text{L L}^{-1}$).

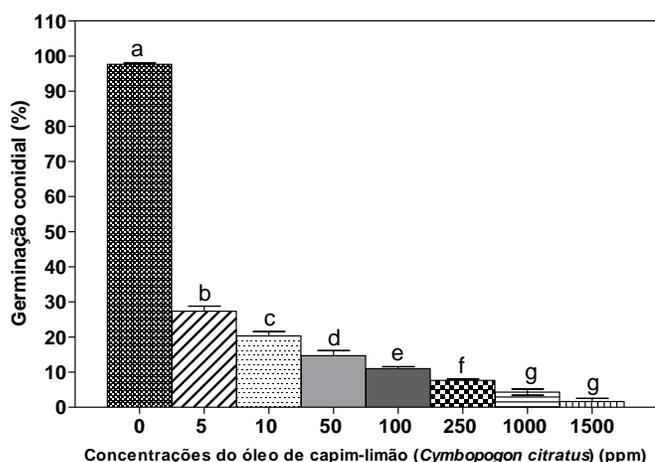


Figura 16. Porcentagem de germinação conidial de *Colletotrichum gloeosporioides*, *in vitro*, tratados com capim-limão e incubado por 10 horas a 27 ± 1 °C. Médias \pm erro padrão com letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=6$).

4.6. EFEITO DO CAPIM-LIMÃO (*Cymbopogon citratus*) EM MANGAS 'PALMER' INOCULADAS COM *Colletotrichum gloeosporioides*

Os frutos inoculados do controle e do tratamento com cera associada a 250 ppm de capim-limão apresentaram o maior diâmetro de lesão no 7º e 14º dia de armazenamento a 12 °C, diferindo significativamente dos demais tratamentos (Figura 17A).

Quando armazenados por 4 dias a 22 °C os frutos de todos os tratamentos apresentaram tendência de acréscimo no diâmetro da lesão, sendo os frutos do controle os que apresentaram os maiores valores, diferindo significativamente dos demais tratamentos. Isso demonstra a eficiência da aplicação de cera de carnaúba associada ou não ao capim-limão. Pôde-se verificar ainda que os frutos tratados com cera e cera associada a 1000 ppm de capim-limão foram os que apresentaram os menores diâmetros de lesão no final do período de armazenamento. Marques (2015) trabalhando com abacates 'Hass' inoculados com *C. gloeosporioides*, tratados com cera e associações de capim-limão e armazenados por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 3 dias a 22 ± 2 °C e $65\pm 5\%$ UR também obteve resultados satisfatórios, como os deste

trabalho, no qual a maior concentração apresentou os menores diâmetros de lesão, não diferindo significativamente dos frutos tratados somente com cera.

Pela porcentagem de inibição (Figura 17B), ao comparar os tratamentos com os frutos do controle, observou-se que o tratamento com cera, cera associada a 500 e 1000 ppm de capim-limão apresentaram as maiores porcentagens de inibição da antracnose no 7º dia de armazenamento a 12 °C e os frutos tratados com cera e cera associada a 1000 ppm os que apresentaram a maior porcentagem de inibição ao final do 18º de armazenamento em temperatura de ambiente. A principal vantagem da aplicação de óleos essenciais incorporados aos revestimentos é o contato do produto com a superfície do fruto por um período de tempo maior, retardando ou inibindo o desenvolvimento do patógeno (SIVAKUMAR; BAUTISTA-BAÑOS, 2014).

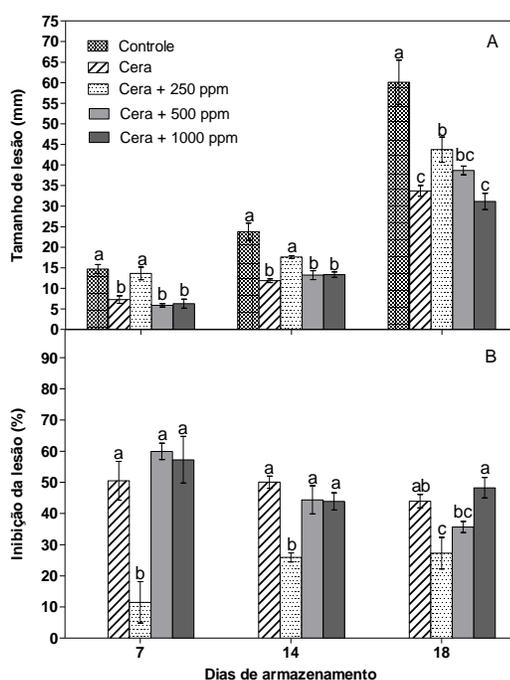


Figura 17. Diâmetro da lesão (A) e porcentagem de inibição da antracnose (B) em mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e óleo de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), armazenados por 14 dias a 12±2 °C e mais 4 dias a 22±2 °C e 65±5% UR. Médias ± erro padrão com letras iguais no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P > 0,05) (n=4).

Todos os tratamentos apresentaram acréscimos no diâmetro da lesão ao longo do período de armazenamento (Tabela 7). Os maiores acréscimos foram observados entre os 14 e 18 dias quando os frutos foram transferidos da temperatura refrigerada para de ambiente. Os frutos tratados com cera e cera associada a 500 e 1000 ppm óleo de capim-limão não apresentaram diferenças significativas entre o 7° e 14° dia de armazenamento.

Os frutos tratados com cera + 500 ppm de óleo de capim-limão, foram os únicos que apresentam decréscimos na porcentagem de inibição ao longo do período de armazenamento.

Tabela 7. Diâmetro da lesão (cm²) e inibição da antracnose (%) em mangas ‘Palmer’ inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e óleo de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), armazenados por 14 dias a 12±2 °C e mais 4 dias a 22±2 °C e 65±5% UR.

Tratamento	Dias de armazenamento		
	7	14	18
	----- Diâmetro da Lesão (cm ²) -----		
Controle	15,70 b	23,79 b	60,12 a
Cera	7,27 c	11,89 b	33,70 a
Cera + 250 ppm	13,64 b	17,63 b	43,72 a
Cera + 500 ppm	5,89 c	13,23 b	38,67 a
Cera + 1.000 ppm	6,29 c	13,35 b	31,11 a
	----- Inibição da lesão -----		
Cera	50,52 a	50,03 a	43,95 a
Cera + 250 ppm	11,48 a	25,91 a	27,28 a
Cera + 500 ppm	59,95 a	44,40 b	35,67 b
Cera + 1.000 ppm	57,25 a	43,88 a	48,26 a

Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P>0,05) (n=4)

Foram observados acréscimos na perda de massa fresca dos frutos durante todo o período de armazenamento, comparados com a média inicial (Figura 18), tanto a 12 °C quanto a 22 °C. As mangas do tratamento controle foram as que apresentaram maior perda de massa fresca, diferindo significativamente dos demais

tratamentos, evidenciando assim o efeito benéfico dos recobrimentos comestíveis aplicados nos frutos. Esse resultado pode ser atribuído à modificação da atmosfera ao redor do fruto proporcionada pelo recobrimento formado pela cera, que reduz a intensidade da respiração e da transpiração do produto, reduzindo a perda de água pelo vegetal e conseqüentemente sua perda de peso (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2011; SIVAKUMAR; BAUTISTA-BAÑOS, 2014).

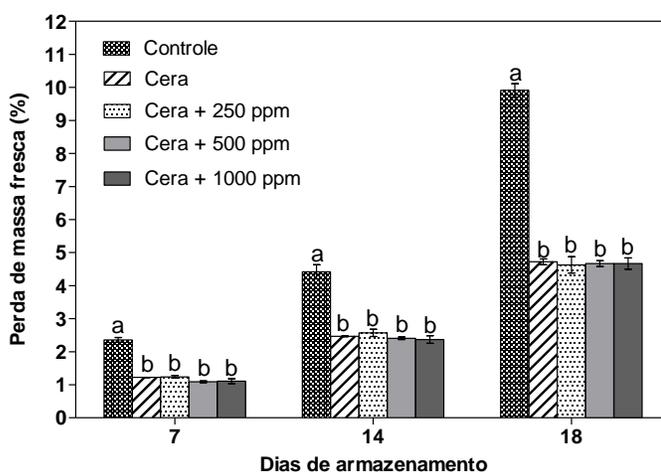


Figura 18. Perda de massa fresca, em porcentagem, de mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de capim-limão, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65\pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Todos os tratamentos apresentaram acréscimos na porcentagem de perda de massa fresca ao longo do período de armazenamento (Tabela 8). Marques (2015) trabalhando com abacates inoculados e tratados com cera e óleo de capim-limão, também verificou acréscimo nas perdas de massa fresca ao longo do período de armazenamento.

Tabela 8. Evolução da perda de massa fresca, em porcentagem, de mangas ‘Palmer’ inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de capim-limão, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65\pm 5\%$ UR.

Tratamento	Dias de armazenamento		
	7	14	18
	----- <i>Diâmetro da Lesão (cm²)</i> -----		
Controle	2,36 c	4,42 b	9,91 a
Cera	1,22 c	2,46 b	4,72 a
Cera + 250 ppm	1,24 c	2,57 b	4,63 a
Cera + 500 ppm	1,09 c	2,41 b	4,67 a
Cera + 1000 ppm	1,11 c	2,37 b	4,67 a

Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P>0,05$) ($n=4$)

Os teores de sólidos solúveis dos frutos, durante o armazenamento a 12 °C variaram entre 10 e 12 °Brix no 7º dia e entre 13 e 15 °Brix no 14º dia (Figura 19). Após os 4 dias de armazenamento a 22 °C, o maior teor de sólidos solúveis foi encontrado nas mangas do tratamento controle, o qual diferiu significativamente dos demais tratamentos. O aumento no teor de sólidos solúveis é parte do processo normal de amadurecimento em mangas, sendo decorrente dos processos de degradação dos polissacarídeos (KNEE; BARTLEY, 1981). Miguel (2012) também relatou aumento no conteúdo de sólidos solúveis em mangas ‘Palmer’, durante o armazenamento refrigerado.

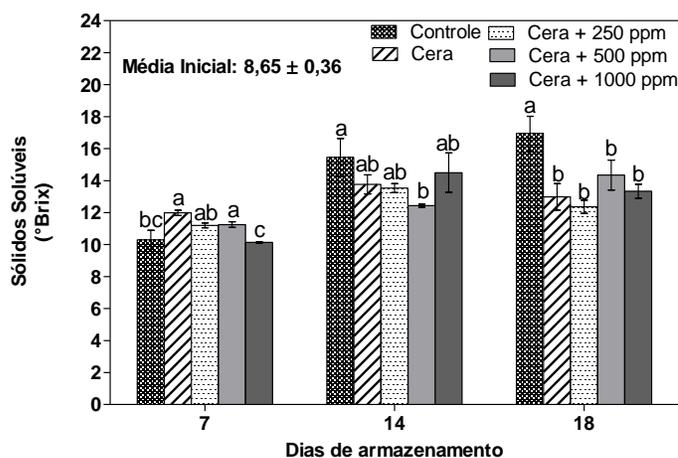


Figura 19: Teor de sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix), de mangas ‘Palmer’ inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de capim-limão, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 $^{\circ}$ C e mais 4 dias a 22 ± 2 $^{\circ}$ C e $65\pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

O maior valor médio de ácido ascórbico no 7^o dia de armazenamento foi encontrado nas mangas dos tratamentos cera associada a 250 e 500 ppm de capim-limão, e o menor nas mangas do tratamento com cera associada a 1000 ppm não diferindo dos controles (Figura 20A). No 14^o dia o maior teor foi encontrado nas mangas tratadas com cera + 250 ppm de capim-limão, diferindo significativamente dos demais tratamentos.

Após transferir os frutos para 22 $^{\circ}$ C por 4 dias, as mangas do tratamento cera associada a 500 ppm de capim limão, foram as que apresentaram os menores teores de ácido ascórbico, diferindo dos demais tratamentos com exceção do tratamento somente com cera. Os valores de ácido ascórbico deste trabalho não são coerentes aos encontrados por Miguel (2012), que trabalhando com mangas ‘Palmer’ armazenadas por 12 dias a 12 $^{\circ}$ C e transferidas por 3 dias a temperatura de ambiente, encontrou ao final do período de armazenamento média de 50 a 71 mg de ácido ascórbico 100 g^{-1} .

Quanto à acidez titulável é possível verificar um decréscimo ao longo do período de armazenamento para todos os tratamentos, comparados com a média inicial (Figura 20B). De acordo com Fischer et al. (2009), a relação de resistência ou suscetibilidade à antracnose está associada ao teor de acidez titulável em mangas, pois o aumento de infecção da doença gera a diminuição da acidez dos frutos.

No 14º dia de armazenamento a 12 °C os frutos não apresentaram diferença significativa entre os valores de acidez. Porém, ao final do período de armazenamento a 22° C, o tratamento controle e os tratamentos com cera associadas a 250, 500 ou 1000 ppm de capim-limão não diferiram entre si, apresentando as menores médias. Resultados distintos a estes foram encontrados por Marques (2015) que verificou maior acidez dos frutos de abacates do controle, aos 14 dias de armazenamento; porém, aos 17 dias, a acidez dos frutos tratados com cera associada aos óleos foi significativamente maior.

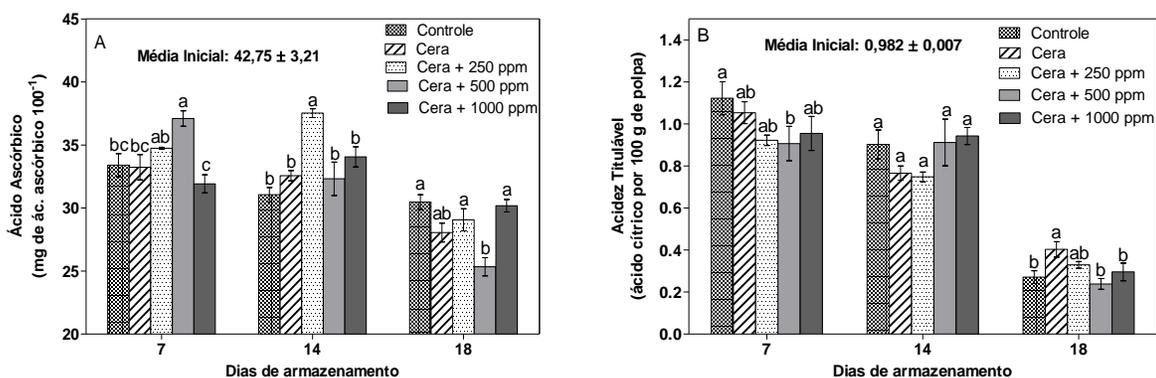


Figura 20. Teor de ácido ascórbico (A) e acidez titulável (B) em mangas ‘Palmer’ inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de capim-limão, armazenadas por 14 dias a 12±2 °C e mais 4 dias a 22±2 °C e 65±5% UR. Médias ± erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Todos os tratamentos apresentaram perda de firmeza comparadas com a média inicial, ao longo do período de armazenamento (Figura 21). Aos 7 dias de armazenamento, as mangas do controle foram as que apresentaram menores

valores de firmeza, diferindo significativamente somente dos frutos tratados com cera associada a 250 e 1000ppm. No final do período de armazenamento refrigerado aos 14 dias, os frutos do tratamento cera associado a 500 ppm, foram os que apresentaram os maiores valores, diferindo significativamente dos frutos do controle com água e somente cera. Após a transferência para temperatura de ambiente os frutos tratados com as maiores concentrações de óleo de capim limão foram os que apresentaram os maiores valores de firmeza (500 e 1000ppm), diferindo significativamente dos frutos do controle e somente cera.

Esses resultados evidenciam a propriedade lipofílica dos óleos essenciais no recobrimento, que diminui a permeabilidade dos gases e vapor de água. Isto acarreta no prolongamento da vida útil dos frutos, uma vez que o amaciamento dos tecidos de frutas é consequência do processo de amadurecimento e senescência (TOIVONEN; BRUMMELL, 2008). Resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho foram obtidos por Marques (2015), em abacates inoculados com *C. gloeosporioides* tratados com cera e associação de capim-limão.

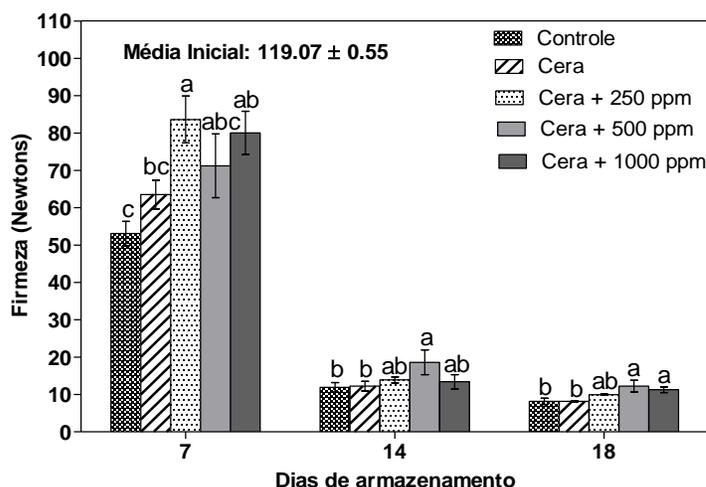


Figura 21. Firmeza de mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de capim-limão, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Quanto ao conteúdo de carotenoides nas mangas, não houve diferença significativa entre os tratamentos até o 14º dia de armazenamento (Figura 22). Já no 18º dia de armazenamento, foi encontrada diferença somente entre os tratamentos com cera e cera associada a 250 ppm de capim-limão, sendo os frutos tratados somente com cera os que apresentaram as menores médias. O conteúdo de carotenoides encontrados neste trabalho foi superior ao encontrado em trabalhos de Bhaskarachary et al. (1995) e Mercadante et al., (1997), com médias de 1.510 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ e 1.710,0 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$, respectivamente. Outro estudo constatou teores de carotenoides de 608,39 $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ em manga “Tommy Atkins” (RIBEIRO et al., 2007). Pode-se observar uma variação entre os estudos, o que pode ser justificado por diversos fatores que, de uma maneira geral, afetam o conteúdo de componentes nutricionais em vegetais: variedade, estágio de maturação, local e condições de cultivo das frutas analisadas (OLIVEIRA et al., 2011).

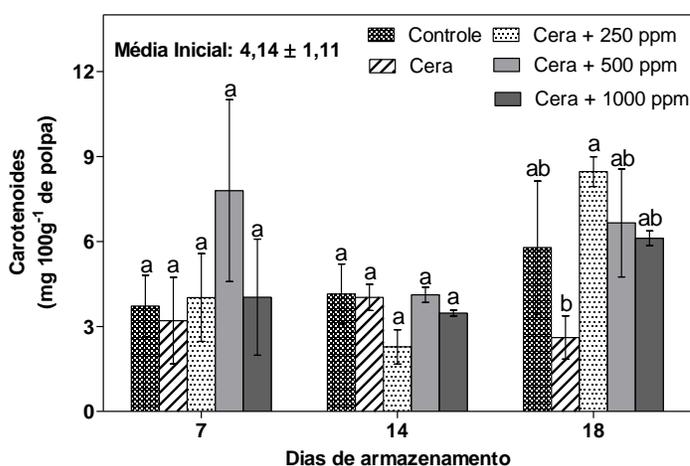


Figura 22. Carotenoides de mangas ‘Palmer’ inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de capim-limão, armazenadas por 14 dias a $12 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e mais 4 dias a $22 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Quanto a evolução da coloração da casca, para a variável luminosidade é possível verificar uma manutenção ao longo do período de armazenamento

refrigerado, comparado com os valores iniciais (Figura 23A). No 14º dia de armazenemto os tratamentos não apresentavam diferenças significativas entre si.

Ao final do 18º dia de armazenamento (4 dias à 22°C), os frutos do tratamento controle apresentavam os maiores valores de luminosidade, diferindo significativamente dos demais tratamentos, evidenciando assim um amadurecimento pelos frutos deste tratamento. Miguel (2012) trabalhando com mangas 'Palmer' tratadas com radiação UV-C, revestidas com cera ou quitosana e armazenadas a 5 °C por 4 dias, seguido de armazenamento em condição de ambiente a 22,6 °C (52,3% UR), por até 12 dias, constatou o escurecimento das frutas, independente dos tratamentos aplicados, expressa pela diminuição significativa nos valores de luminosidade. Apesar da autora se referir a maturação das frutas expressas pela diminuição da luminosidade, em que valores próximos de 0 (cores escuras ou opacas) e valore próximos de 100 (cores brancas ou de máximo brilho) no caso de magas, especialmente 'Palmer', com os passar dos dias as mangas saem de um coloração verde opaca para um amalero brilhante, o que faz com que o acréscimos nos valores de luminosidade expressem um amadurecimento das frutas.

Para os valores de cromaticidade da casca foram somente constatadas diferenças significativas entre os tratamentos, no dia inicial (Figura 23B). Os frutos do controle apresentaram acréscimo com diferença significativas, iniciado em 19,42 e finalizando, no dia 18, com 23,14; enquanto os demais tratamentos não apresentaram diferença significativa ao longo do período de armazenamento (Tabela 5). Não foi constatado efeito dos tratamentos no dia de análise, no qual a partir do 7º dia de armazenamento os frutos não apresentaram diferenças significativas entre si.

Para o ângulo Hue da casca (Figura 23C), não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos no dia 0, 7 e 14. Foi observado um decréscimo nas médias dos tratamentos, de 117,46 a 109,38 ao longo do período de armazenamento. No final do período de armazenamentos foi possível verificar o efeito dos tratamentos no fruto, onde todos os tratamentos diferiram significativamente dos frutos do controle, que apresentaram as menores médias.

Pode-se concluir que houve efeito da cera, associada ou não ao óleo de capim-limão na manutenção da coloração dos frutos de manga 'Palmer' inoculados

com *C. gloeosporioides*, em que os frutos do controle apresentaram menor ângulo Hue e maior luminosidade, evidenciando assim maior amadurecimento dos frutos do controle.

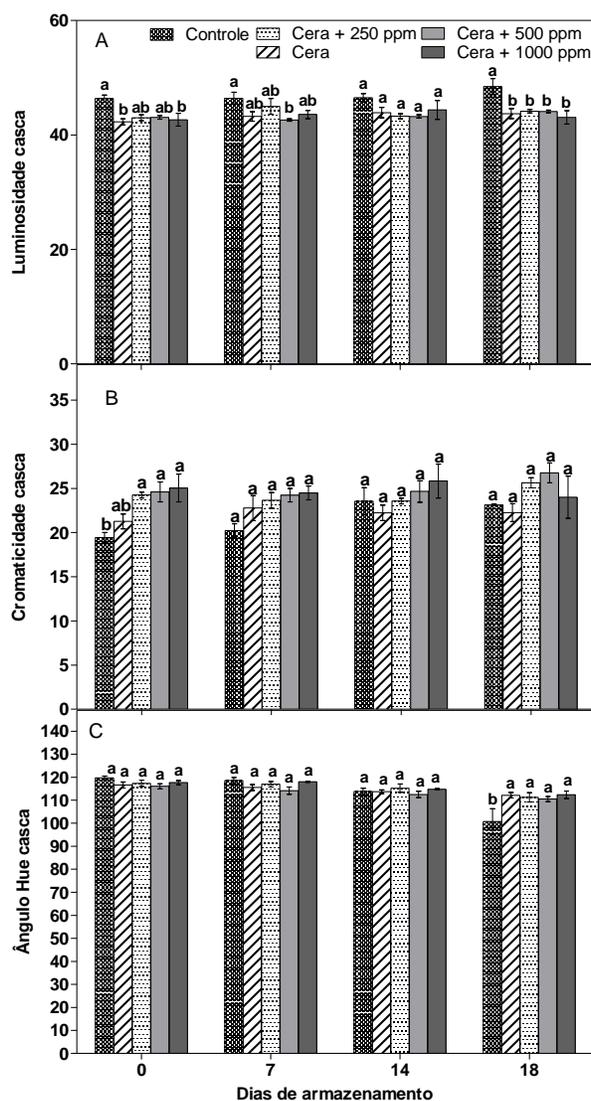


Figura 23. Coloração da casca de mangas 'Palmer', expressa em luminosidade (A), Cromaticidade (B) e ângulo Hue (C), inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de capim-limão, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras minúscula iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Somente os frutos do controle apresentam acréscimos significativos nos valores de cromaticidade ao longo do período de armazenamento (Tabela 9). Resultados diferentes aos encontrados neste trabalho foram observados por Marques (2015), no qual constou acréscimos significativos em todos os tratamentos para os valores de cromaticidade.

Os frutos tratados com cera apresentaram manutenção do ângulo Hue ao longo do período de armazenamento, sendo os frutos do controle os que apresentaram os menores valores no final do período de armazenamento. Marques (2015) constatou eficiência na concentração de 2000 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo de capim-limão na manutenção do ângulo Hue de abacates 'Hass'. Sendo assim, é possível verificar o amadurecimento dos frutos ao longo do período de armazenamento, sendo os frutos do controle os que apresentaram a maior mudança na coloração da casca.

Tabela 9. Cromaticidade e ângulo Hue da casca de manga 'Palmer', inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de capim-limão, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65\pm 5\%$.

Tratamento	Dias de armazenamento			
	0	7	14	18
----- Cromaticidade -----				
Controle	19,42 c	20,21 bc	23,53 a	23,14 ab
Cera	21,26 a	22,77 a	22,22 a	22,25 a
Cera + 250ppm	24,23 a	23,64 a	23,55 a	25,62 a
Cera + 500 ppm	24,60 a	24,23 a	24,65 a	26,75 a
Cera + 1000ppm	25,04 a	24,47 a	25,82 a	24,00 a
----- Ângulo Hue -----				
Controle	119,66 a	118,55 ab	113,80 b	100,76 c
Cera	116,61 a	115,50 a	113,69 a	112,11 a
Cera + 250ppm	117,34 a	116,90 a	115,17 ab	111,22 b
Cera + 500 ppm	116,01 a	114,14 ab	112,46 ab	110,49 b
Cera + 1000ppm	117,60 a	117,97 a	114,76 ab	112,33 b

Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P>0,05$) ($n=4$).

Para coloração da polpa foi possível verificar um decréscimo nos valores de luminosidade ao longo de todo período de armazenamento, em relação a luminosidade inicial (Figura 24A), sendo que ao final do período de armazenamento em temperatura de ambiente, os tratamentos não apresentaram diferenças significativas (média final de 70,92). Estes resultados foram inferiores aos encontrados por Miguel (2012), para mangas 'Palmer', tratadas com cera e armazenadas por 14 dias, que foi de 76,07. A autora verificou que a luminosidade da polpa não foi influenciada pelo uso de coberturas ou pelo tempo de conservação, diferindo deste trabalho que ao final do período de armazenamento foi possível verificar o efeito dos tratamentos.

As maiores médias para a cromaticidade da polpa foram verificadas nos tratamentos cera associada a 250 e 1000 ppm aos 14 dias, e cera associada a 500 e 1000 ppm de capim limão aos 18 dias de armazenamento. (Figura 24B).

Os tratamentos apresentaram decréscimo nos valores de ângulo Hue da polpa ao longo do período de armazenamento em relação a média inicial, sendo os frutos do controle e cera + 500 ppm de óleo de capim-limão os que apresentaram polpa mais amarelada no 18° dia de armazenamento, devido as menores médias para esta variável (Figura 24C).

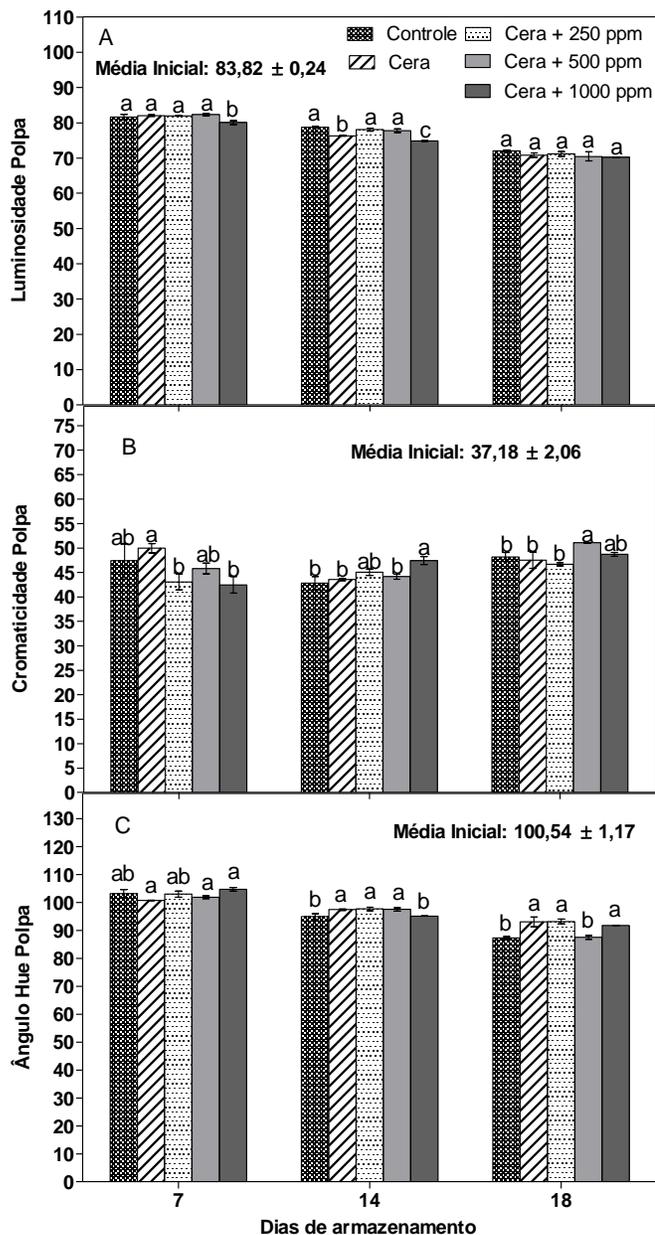


Figura 24. Coloração da polpa de mangas ‘Palmer’, expressa em luminosidade (A), Cromaticidade (B) e ângulo Hue (C), inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de capim-limão, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Para atividade da fenilalanina amônia-liase observou-se uma manutenção ao longo do período de armazenamento para frutos tratados com cera associadas a capim-limão (Figura 25). No 7º dia de armazenamento a menor atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) foi observada no tratamento com cera associada à 1000 ppm de capim-limão, diferindo significativamente dos demais tratamentos. Já no 14º e no 18º dia de armazenamento não houve diferença significativa entre os tratamentos para a atividade da PAL. Marques (2015) relatou aumentou significativo na atividade da enzima PAL para frutos dos tratamentos controle (imersos somente em água), comparado aos tratamentos com o óleo de cera e capim-limão em frutos de abacate aos 17 dias de avaliação, indicando uma relação da infecção pelo patógeno nesses frutos. A autora relacionou o aumento na atividade desta enzima como uma resposta da infecção por *C. gloeosporioides* nos abacates, conforme já descrito por Beno-Moualem; Prusky (2000).

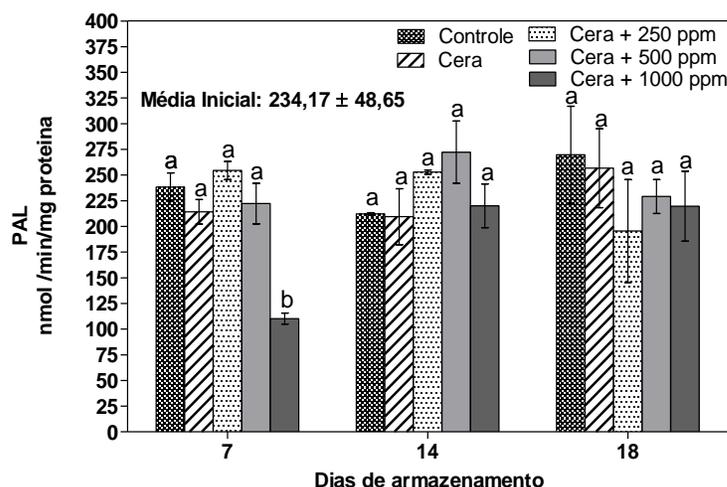


Figura 25. Atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) em mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de capim-limão, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e 65 ± 5 % UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Houve acréscimos para os valores de polifenóis extraíveis totais para todos os tratamentos e em todas as datas de avaliação, comparados com os valores iniciais (Figura 26). O aumento da produção de polifenóis pelos frutos está relacionado à formação de compostos fenólicos que podem ser sintetizados pelos vegetais em resposta a algum estresse, como o ataque de patógenos e insetos (NACZK; SHAHIDI, 2004).

O único tratamento que diferiu significativamente dos frutos do controle aos 7 dias de armazenamento, foi o tratamento somente com cera, que apresentou os maiores valores não diferindo significativamente dos frutos tratados com cera associada a 250 e 500 ppm OCL. No 14º dia foi observado resultado oposto, cujo maior conteúdo de fenóis foi obtido nas mangas do controle, sendo o único tratamento a diferir do tratamento somente com cera, as quais mostraram os menores valores.

No 18º dia de armazenamento a 22 °C não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para conteúdo de polifenóis extraíveis totais.

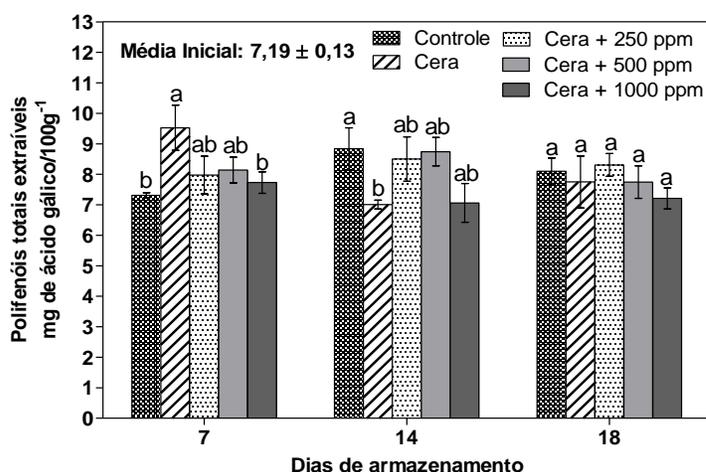


Figura 26. Polifenóis extraíveis totais em mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de capim-limão, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos para a atividade da polifenoloxidase e da peroxidase no 7º dia de armazenamento (Figura 27). No 14º dia a maior atividade da polifenoloxidase foi encontrada nas mangas do tratamento controle, seguido pelas mangas tratadas com cera + 1000 ppm de capim-limão e por último, as mangas dos demais tratamentos (Figura 27A). No final do período de armazenamento a 22° C os frutos tratados com cera associada a 250 e 1000 ppm de capim-limão foram as que apresentaram a menor atividade para a polifenoloxidase. Miguel (2012) trabalhando com mangas 'Palmer' armazenadas a 2, 5 e 12 °C por 7, 14 e 21 dias, seguido de armazenamento em condição de ambiente a 22,3 °C, por 1, 3 e 5 dias, também verificou aumento na atividade da polifenoloxidase (PPO), evidenciando maior ocorrência de reações oxidativas na polpa dos frutos. Após a transferência das mangas para a condição de ambiente, esta tendência de incremento na atividade dessa enzima se repetiu.

Todos os tratamentos apresentaram incrementos na atividade da enzima peroxidase ao longo do período de armazenamento em relação ao valor inicial (Figura 27B). Em relação à atividade da peroxidase, no 14º dia de armazenamento houve diferenças somente entre os tratamentos controle e o com cera.

No armazenamento de ambiente, as maiores atividades da enzima POD foram verificadas nas mangas do tratamento controle e cera + 1000 ppm OCP, que diferiram significativamente das mangas tratadas com cera, cera + 250 ppm e cera + 500 ppm de capim-limão. Marques (2015) não encontrou diferenças significativas para atividade dessa enzima, ao trabalhar com abacates 'Hass' inoculados e tratados com diferentes concentrações de óleo de capim-limão.

Existe uma explicação dos valores do tratamento controle sempre estarem entre os mais elevados para atividade destas enzimas, uma vez que os frutos do controle apresentaram maior diâmetro de lesão (Figura 17), isso induz a atividade destas enzimas, consumindo os polifenóis e conseqüentemente defendendo o fruto e escurecendo a polpa.

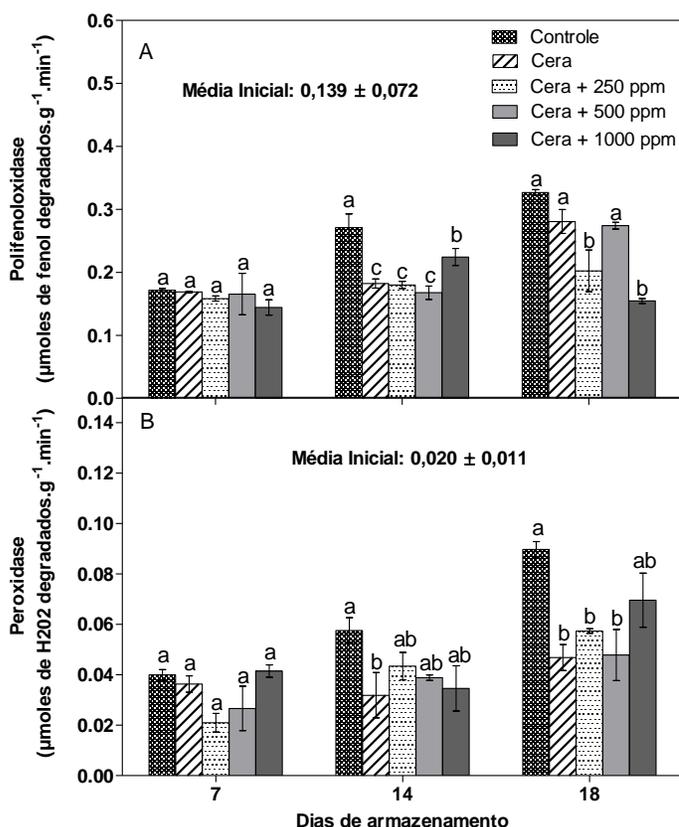


Figura 27. Atividade da polifenoloxidase (A) e da peroxidase (B) em mangas ‘Palmer’ inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de capim-limão, armazenadas por 14 dias a 12±2 °C e mais 4 dias a 22±2 °C e 65±5% UR. Médias ± erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P > 0,05) (n=4).

A cera associada ou não ao óleo essencial de capim limão se mostrou eficiente em diminuir o diâmetro da lesão em frutos de manga ‘Palmer’ inoculadas com *C. gloeosporioides*, não apresentando diferença significativas com as concentrações de capim-limão. Foi possível constatar a eficiência do capim-limão no controle do *C. gloeosporioides*, pois na concentração de 250 ppm ocorreu inibição de 100% do crescimento micelial durante todo o período de incubação.

4.7. EFEITO DO ÓLEO DE TOMILHO (*Thymus vulgaris*) NO CRESCIMENTO MICELIAL E NA GERMINAÇÃO CONIDIAL DE *Colletotrichum gloeosporioides*

Na Figura 28 verificou-se que o óleo essencial de tomilho (OT) em concentração a partir de 10 ppm inibiu 100% o crescimento micelial *in vitro* do fungo *C. gloeosporioides*. Resultados menos promissores foram encontrados na inibição de outros fungos (*Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* e *Rhizopus stolonifer*), utilizando o óleo essencial de tomilho, que inibiu em somente em 50% o crescimento micelial dos patógenos, responsáveis por importantes doenças na pós-colheita de pêssegos (ARREBOLA et al., 2010). Marques (2015) constatou doses maiores para inibição de *C. gloeosporioides* de abacate, a partir de 200 $\mu\text{L L}^{-1}$ do óleo de tomilho, inibindo em 90% a germinação do patógeno. Combrinck, Regnier e Kamatou (2011) ao avaliarem as propriedades antifúngicas de dezoito óleos essenciais *in vitro*, verificaram que o óleo de tomilho na concentração de até 1000 $\mu\text{L L}^{-1}$ foi o mais eficaz na inibição de quatro dos cinco patógenos avaliados, sendo um deles o *C. gloeosporioides*.

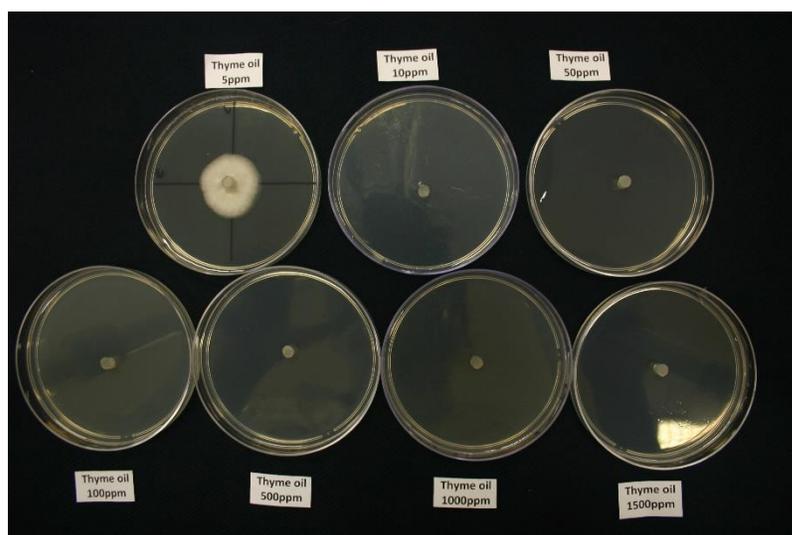


Figura 28. Efeito inibitório do óleo de tomilho no crescimento micelial *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, após 7 dias, incubados a $27\pm 1^\circ\text{C}$.

Na figura 29 é possível verificar o efeito inibitório do óleo essencial de tomilhoa (OET) na germinação conidial de *C. gloeosporioides* após 10 horas de incubação, em que a partir da concentração 50 ppm já inibiu totalmente o processo germinativo do fungo. Efeito similar também foi verificado por Marques (2015), que obteve inibição e germinação conidial de *C. gloeosporioides* de abacate a partir da concentração de 200 $\mu\text{L L}^{-1}$. Resultados similares também foram encontrados por Arrebola et al. (2010) que verificaram 50% de inibição do crescimento dos fungos *B. cinerea* e *P. expansum* em pêssegos ao utilizarem o OT; e por Carnelossi et al. (2009) com inibição do *C. gloeosporioides* em mamão. Outros autores verificando o efeito inibitório de diferentes doses de 18 óleos essenciais no controle de *Lasiodiplodia theobromae*, *C. gloeosporioides*, *A. citrii*, *B. cinerea* e *P. digitatum*, observaram que o OET na concentração de 1000 $\mu\text{L L}^{-1}$ foi eficiente para inibir 100% do crescimento micelial dos fungos avaliados com exceção do *P. digitatum* (COMBRINCK, REGNIER, KAMATOU, 2011), ressaltando assim, mais uma vez a eficiência do OET na inibição de fungos patogênicos.

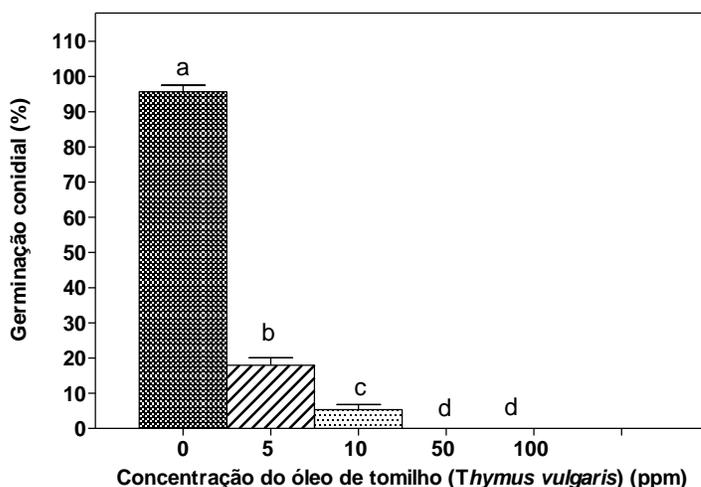


Figura 29. Porcentagem de germinação conidial de *Colletotrichum gloeosporioides*, *in vitro*, tratados com óleo de tomilho, incubado por 10 horas a $27 \pm 1^\circ\text{C}$. Médias \pm erro padrão com letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=6$).

4.8. EFEITO DO ÓLEO DE TOMILHO (*Thymus vulgaris*) EM MANGAS 'PALMER' INOCULADAS COM *Colletotrichum gloeosporioides*

Aos 7 dias, os frutos tratados somente com cera, cera associada a 50 e 100 ppm de óleo de tomilho mantidos a 12 ± 2 °C apresentavam os menores valores de diâmetro de lesão e maior porcentagem de inibição (Figura 30A e 30B). No final do período de armazenamento refrigerado de 14 dias, os frutos tratados com cera associada a 100 e 250 ppm de OT, foram os únicos que diferenciaram dos frutos do tratamento controle, apresentado as menores médias. Após a transferência para temperatura de ambiente, não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos, tanto para o diâmetro como para a inibição do crescimento das lesões. Esses resultados sugerem que doses maiores de óleo essencial de tomilho devem ser testadas desde o início do armazenamento dos frutos, com o objetivo de prevenir os frutos contra o aparecimento da antracnose por períodos mais longos de armazenamento ou mesmo, em locais com temperaturas mais elevadas. Resultados diferentes destes foram encontrados por Marques (2015) em abacates 'Hass' inoculados com *C. gloeosporioides*, tratados com OT e armazenados por 14 dias a 12° C e mais 4 dias a 22 °C, onde verificou que o OT na concentração de 500 e 1000 $\mu\text{L L}^{-1}$, foram eficientes em diminuir o diâmetro da lesão, evidenciando assim o poder antifúngico do óleo de tomilho.

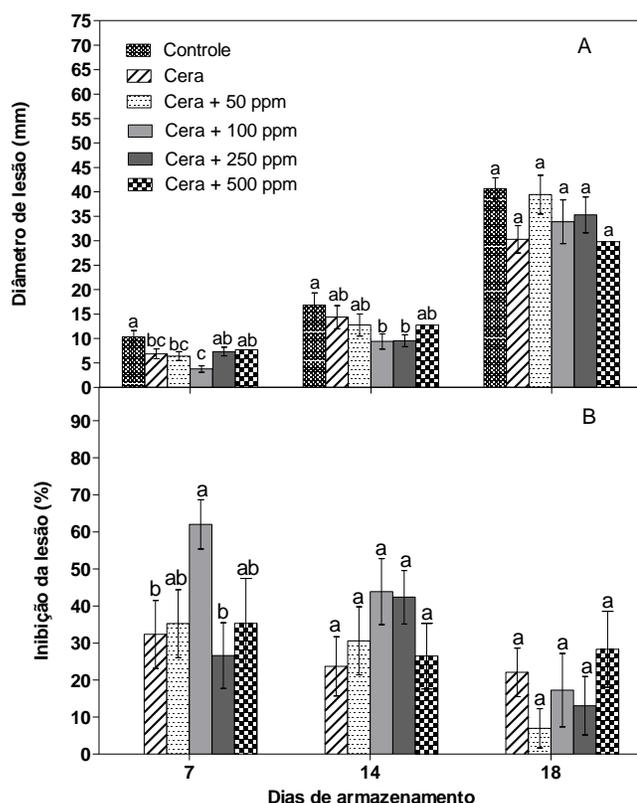


Figura 30. Diâmetro da lesão (A) e porcentagem de inibição (B) da antracnose em mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de tomilho, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65\pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Todos os tratamentos apresentaram aumento no diâmetro da lesão ao longo do período de armazenamento (Tabela 10). Quanto à porcentagem de inibição da antracnose foi possível verificar comportamentos distintos entre os tratamentos ao longo do período de armazenamento, sendo somente os frutos tratados com cera + 100 ppm e cera + 250 ppm de OT, os que apresentaram diminuição na porcentagem de inibição ao longo do período de armazenamento.

Tabela 10. Diâmetro da lesão (A) e porcentagem de inibição (B) da antracnose em mangas ‘Palmer’ inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de tomilho, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65\pm 5\%$ UR.

Tratamento	Dias de armazenamento		
	7 dias	14 dias	18 dias
	----- <i>Diâmetro da Lesão (cm²)</i> -----		
Controle	10,37 b	16,83 b	40,66 a
Cera	6,88 c	14,38 b	30,28 a
Cera + 50 ppm	6,42 bc	12,77 b	39,43 a
Cera + 100 ppm	3,76 bc	9,39 b	33,88 a
Cera + 250 ppm	7,33 bc	9,57 b	35,28 a
Cera + 500 ppm	7,70 bc	12,77 b	29,77 a
	----- <i>Inibição da lesão (%)</i> -----		
Cera	32,33 a	23,71 a	22,08 a
Cera + 50 ppm	35,23 a	30,59 a	6,98 a
Cera + 100 ppm	62,02 a	43,86 ab	17,27 b
Cera + 250 ppm	26,60 ab	42,25 a	13,07 b
Cera + 500 ppm	35,32 a	26,49 a	28,31 a

Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P>0,05$) (n=4)

Os tratamentos com cera e cera em associação ao óleo de tomilho foram capazes de reduzir a perda da massa fresca dos frutos ao longo de todo o período de armazenamento em todas as doses testadas, em relação ao controle (Figura 31). Segundo Sánchez-González (2011) e Sivakumar (2014), a combinação de cera e o OT são capazes de modificar a atmosfera ao redor do fruto, reduzindo a perda de água na forma de vapor ao longo do período de armazenamento. As menores perdas de massa fresca foram observadas para o tratamento cera associada a 100 ppm, em todos os períodos de avaliação (7, 14 e 18 dias de armazenamento), com perdas de 1,09, 2,35 e 4,74%, respectivamente. As maiores perdas de massa fresca foram registradas pelos frutos do controle durante todo o período de armazenamento. Resultados semelhantes a este foram observados por Marques (2015), que, embora

tenha verificado efeito da cera sobre a redução da perda de massa fresca em abacates, não verificou efeito do OT na preservação da massa fresca dos frutos.

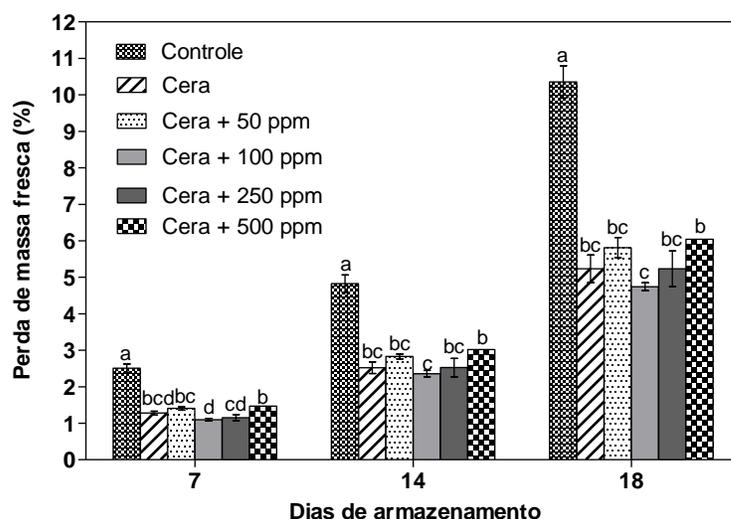


Figura 31. Perda de massa fresca, em porcentagem, de mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de tomilho, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Todos os tratamentos apresentaram comportamentos similares quanto à porcentagem de perda de massa fresca, sofrendo acréscimos em seus valores ao longo do período de armazenamento (Tabela 11). Não foi observada melhoria na redução da perda de massa pelos frutos com a adição dos óleos essenciais avaliados, apesar da natureza lipofílica destes produtos proporcionarem uma maior resistência à perda de vapor de água pelos frutos (SIVAKUMAR; BAUTISTA-BAÑOS, 2014).

Tabela 11. Evolução da perda de massa fresca (%), de mangas ‘Palmer’ inoculadas com *Colleotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de tomilho, armazenadas por 14 dias a 12±2°C e mais 4 dias a 22±2 °C e 65±5% UR.

Tratamento	Dias de armazenamento		
	7	14	18
	----- Perda de massa fresca -----		
Controle	2,51 c	4,83 b	10,36 a
Cera	1,28 c	2,52 b	5,23 a
Cera + 50 ppm	1,41 c	2,83 b	5,81 a
Cera + 100 ppm	1,10 c	2,36 b	4,74 a
Cera + 250 ppm	1,15 c	2,53 b	5,23 a
Cera + 500 ppm	1,47 c	3,02 b	6,05 a

Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P>0,05) (n=4)

Foi possível verificar um acréscimo nos teores de sólidos solúveis em relação aos teores iniciais, para todos os tratamentos ao longo do período de armazenamento (Figura 32). Aos 14 dias de armazenamento somente os frutos tratados com cera associado a 250 ppm de óleo diferiram significativamente do controle demonstrando eficiência em promover a manutenção da qualidade dos frutos. Já na temperatura de 22 °C, ao final do período de armazenamento, somente os frutos tratados com cera associada a 50 ppm de OT diferenciaram significativamente dos frutos do controle. Marques (2015) não constatou diferenças entre os frutos de abacate recobertos com cera e associação de diferentes concentrações do óleo de tomilho para os frutos do controle imersos em água.

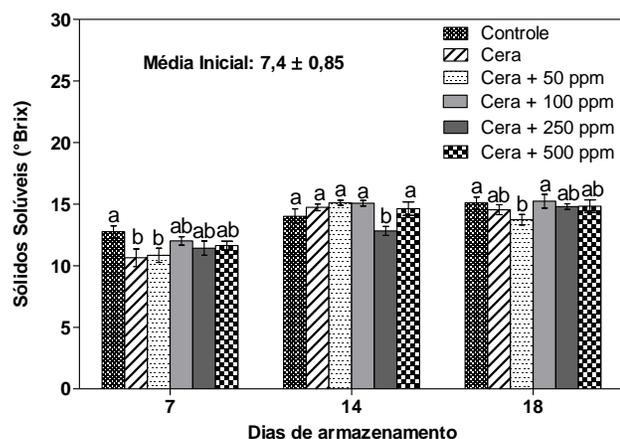


Figura 32. Sólidos solúveis (°Brix), de mangas Palmer inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de tomilho, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Os teores de ácido ascórbico sofreram decréscimo ao longo do período de armazenamento, em relação a média inicial, (Figura 33A). Aos 7 dias de armazenamento somente os frutos tratados com cera associada a 500 ppm OT, diferiram significativamente dos frutos do controle, o que se estendeu até o 14° dia de armazenamento. No 18° dia de armazenamento os frutos do controle, cera e cera + 250 ppm de OT, foram os que apresentaram os maiores teores de ácido ascórbico.

Observou-se decréscimo nos valores de acidez titulável quando comparados com a média inicial (Figura 33B), decorrência natural da evolução da maturação dos frutos, na qual os ácidos orgânicos são utilizados como substrato no processo respiratório (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Para acidez titulável não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos no final do período de armazenamento. A diminuição da acidez do fruto é associada ao amadurecimento dos mesmos (CHITARRA; CHITARRA, 2005), mas também ao aumento na infecção por antracnose (FISHER et al., 2009).

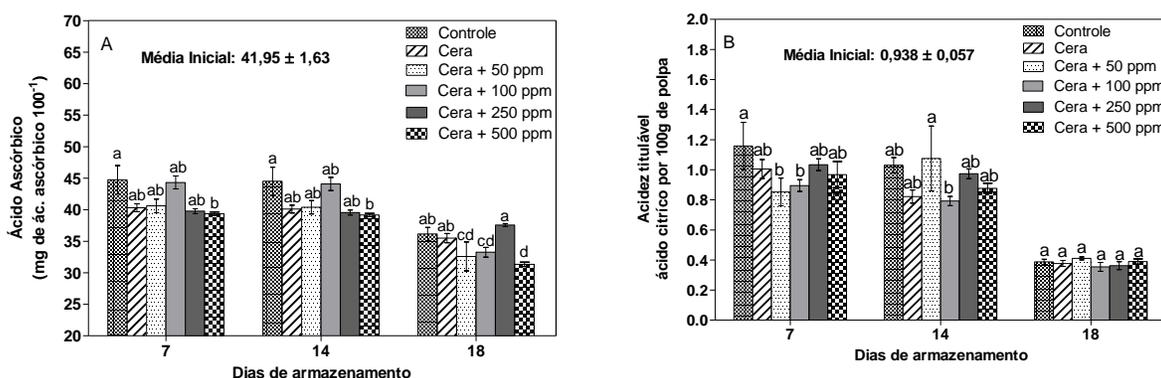


Figura 33. Teor de ácido ascórbico (A) e acidez titulável (B) em mangas Palmer inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de tomilho, armazenadas por 14 dias a 12±2 °C e mais 4 dias a 22±2 °C e 65±5% UR. Médias ± erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) (n=4).

A firmeza das mangas diminuiu em relação à média inicial, ao longo do período de armazenamento para todos os tratamentos (Figura 34). Nenhum dos tratamentos foi eficiente na manutenção da firmeza dos frutos, sendo verificado que, durante todo o período de armazenamento os tratamentos não apresentaram diferença significativa entre si. Cobertura com cera e o OT mantiveram os valores de firmeza, prolongando a vida útil de abacates (MARQUES, 2015). A perda de firmeza dos frutos está associada ao amadurecimento e senescência dos mesmos, assim como ocorre em maiores períodos de armazenamento (TOIVONEN; BRUMELL, 2008). Este processo de perda de firmeza ao longo do período de armazenamento ocorre principalmente pela perda de umidade (massa fresca), em que as células vegetais perdem sua turgidez, acarretando na perda de firmeza (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

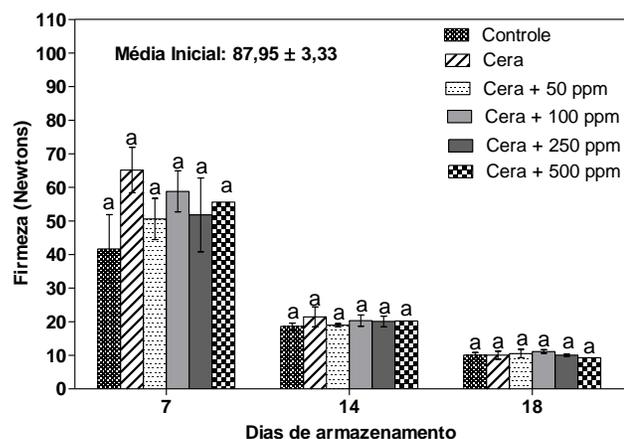


Figura 34. Firmeza de mangas Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de tomilho, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

A concentração de carotenoides pode ser indicativa da manutenção da coloração dos frutos ao longo do período de armazenamento, uma vez que permanece praticamente constante até o processo de senescência (UENOJO et al., 2007), o que não foi observado no presente trabalho, pois ocorreram variações ao longo do período de armazenamento (Figura 35). Concentrações de 50, 100 e 500 ppm de óleo essencial de tomilho associado à cera apresentaram as menores concentrações de carotenoides aos 7 dias de armazenamento, diferindo do controle, enquanto que, aos 14 dias, não foram verificadas diferenças entre os tratamentos. Aos 18 dias, todas as concentrações de carotenoides foram menores do que a média inicial, sendo o tratamento cera associado a 100 ppm o que apresentou a menor concentração, diferindo significativamente do controle.

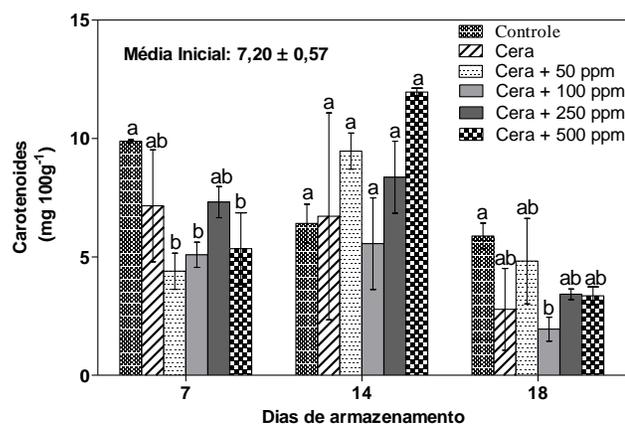


Figura 35. Carotenoide em mangas ‘Palmer’ inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de tomilho, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

No dia inicial as mangas apresentavam homogeneidade na luminosidade (Figura 36A), não apresentando diferença significativas entre si. No final do período de armazenamento refrigerado, as frutas do tratadas com cera + 250 e 500 ppm OT, foram as que apresentaram as menores médias diferindo significativamente do controle. No 18 dia de armazenamento todos os tratamentos se mostraram eficientes na manutenção da luminosidade, apresentando valores inferiores aos frutos do controle. Estes incremento nos valores de luminosidade do controle, demonstram uma alteração no brilho destas frutas que estão saindo da coloração opaca para brilhantes, evidenciando assim o amadurecimento das mesmas. Diferentes autores relatam o amadurecimento de frutos evidenciados pela diminuição na luminosidade, fato este diferente neste trabalho. Miguel (2012) em mangas e Marques (2015) em abacates observaram maior escurecimento dos frutos controle quando comparado com os demais tratamentos, expresso pela diminuição da luminosidade.

Para o parâmetro cromaticidade da casca verificou-se uma manutenção por parte dos tratamentos ao longo do período de armazenamento. Os tratamentos não apresentam diferenças significativas entre si ao final do período de armazenamento

(Figura 36B). Para o ângulo Hue foram verificadas pequenas variações ao longo do tempo de armazenamento (Figura 36C). No final do período de avaliação, o tratamento cera + 500 ppm de OT, foi o único que diferiu significativamente dos frutos do controle para ângulo Hue. Os demais tratamentos não apresentaram diferenças significativas comparados com os frutos do controle, indicando que o processo de senescência dos frutos não tratados foram inibidos.

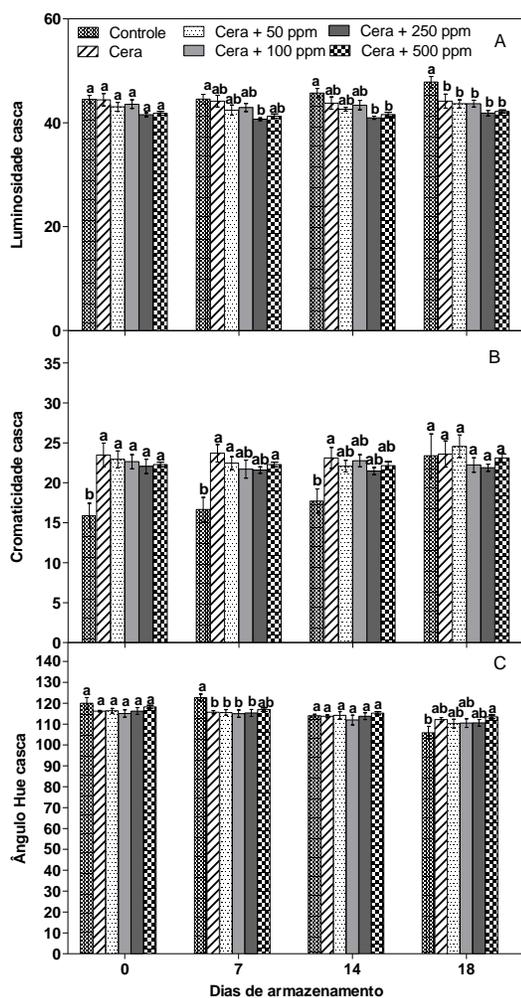


Figura 36. Coloração da casca de mangas 'Palmer', expressa em luminosidade (A), cromaticidade (B) e ângulo hue (C), inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de tomilho, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

De modo geral, os tratamentos foram eficientes em manter a luminosidade da casca dos frutos de manga ao longo do período de armazenamento (Tabela 12), com exceção do controle que sofreram acréscimos significativos ao longo do período de armazenamento, indicando assim a mudança de coloração de verde-escuro opaco para amarelo brilhante. Para cromaticidade somente os frutos do controle apresentaram diferenças significativas em seus valores ao longo do período de armazenamento, ocorrendo diferenças significativas entre os valores iniciais e os valores apresentados no 18º dia de armazenamento. Todos os tratamentos apresentaram variações nos valores para ângulo Hue, sendo os frutos do controle os que apresentam as maiores oscilações.

Por meio dos dados de ângulo Hue foi possível verificar a evolução da coloração ao longo do período de armazenamento, processo normal este, durante o amadurecimento dos frutos, sendo evidenciado o efeito dos tratamentos no retardamento desta modificação na coloração, quando comparados com os frutos do controle no dia de análise (aos 18º de armazenamento para luminosidade e Hue) e ao longo do período de armazenamento (luminosidade e cromaticidade). Marques (2015) também verificou essa mudança na coloração em frutos de abacates tratados com cera e óleo de tomilho armazenados por 17 dias.

Tabela 12. Luminosidade, cromaticidade e ângulo Hue da casca de manga ‘Palmer’, inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de tomilho, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65\pm 5\%$

Tratamento	Dias de armazenamento			
	0	7	14	18
----- <i>Luminosidade</i> -----				
Controle	44,49 c	44,52 c	45,73 b	47,83 a
Cera	44,420 a	44,18 a	43,78 a	44,16 a
Cera + 50 ppm	43,06 ab	42,45 b	42,60 b	43,64 a
Cera + 100 ppm	43,57 a	42,92 a	43,38 a	43,69 a
Cera + 250 ppm	41,55 ab	40,70 b	40,96 ab	41,87 a
Cera + 500 ppm	41,82 a	41,27 a	41,58 a	42,20 a
----- <i>Cromaticidade</i> -----				
Controle	15,86 b	16,64 b	17,70 b	23,36 a
Cera	23,46 a	23,69 a	23,09 a	23,58 a
Cera + 50 ppm	22,93 ab	22,46 b	22,07 b	24,56 a
Cera + 100 ppm	22,63 a	21,70 a	22,75 a	22,22 a
Cera + 250 ppm	22,05 a	21,59 a	21,47 a	21,88 a
Cera + 500 ppm	22,29 a	22,28 a	22,13 a	23,09 a
----- <i>Ângulo Hue</i> -----				
Controle	119,93 a	122,62 a	114,02 b	105,87 c
Cera	116,19 a	115,65 ab	113,65 ab	112,13 b
Cera + 50 ppm	116,32 a	115,54 a	114,14 a	110,22 b
Cera + 100 ppm	115,08 a	114,99 a	111,92 ab	110,45 b
Cera + 250 ppm	116,21 a	115,30 a	113,75 ab	110,57 b
Cera + 500 ppm	118,18 a	116,89 ab	115,20 ab	113,45 b

Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P>0,05$) ($n=4$)

A luminosidade da polpa das mangas não foi afetada pelos tratamentos no 7º dia de armazenamento (Figura 37A), mas o tempo de armazenamento levou a redução na luminosidade e ângulo Hue (Figura 37C), e aumento na cromaticidade (Figura 37B), todos comparados com as médias iniciais, indicando que os frutos, no

início do experimento, apresentavam polpa com coloração amarelada, que se intensificou durante o período de armazenamento. Para o parâmetro cromaticidade, após o período total de avaliação, todos os tratamentos apresentaram resposta similar ao do controle. As alterações verificadas no ângulo Hue para a polpa foram significativas para os tratamentos ao longo do tempo, exceto aos 14 dias, quando todas as médias não tiveram diferenças significativas. As alterações na coloração da polpa foram menos intensas do que as verificadas para a coloração da casca.

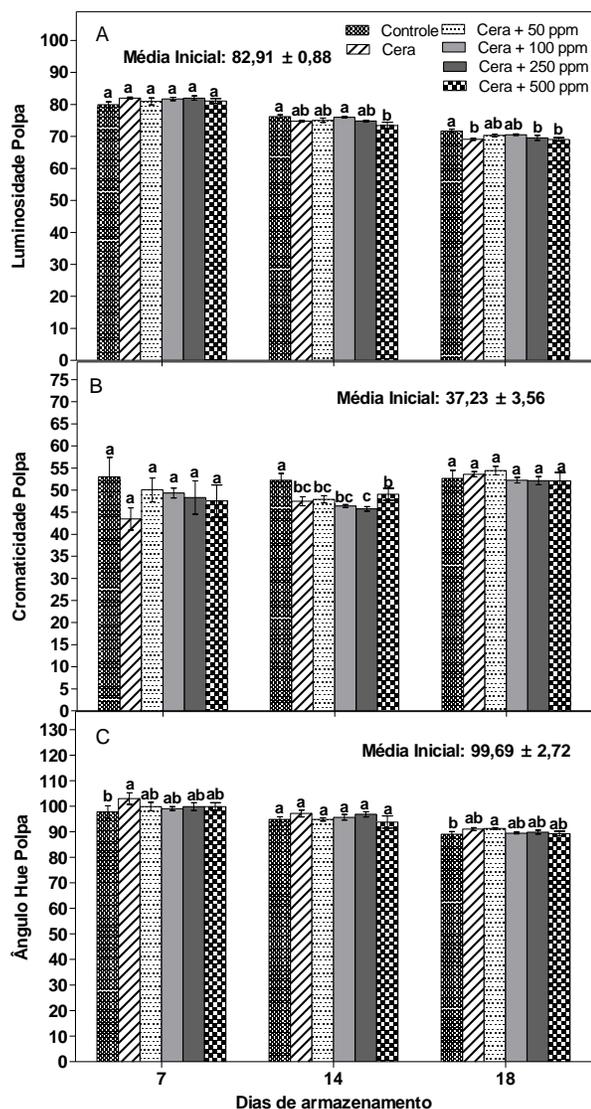


Figura 37. Coloração da polpa de mangas ‘Palmer’, expressa em luminosidade (A), cromaticidade (B) e ângulo hue (C), inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de tomilho, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Na Figura 38 foi possível observar que a atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) aumentou em todos os tratamentos, em relação à média da concentração inicial, até o 14º dia de avaliação, o que é evidenciado pelo aumento no diâmetro da

lesão para estes tratamentos neste período (Figura 30), uma vez que está enzima é relacionado a defesa do frutos a ataque de patógenos. Após a transferência dos frutos para temperatura de ambiente aos 18 das de armazenamento foi possível verificar concentrações inferiores à inicial, para os tratamentos cera associadas a 100 e 500 ppm. A enzima PAL é considerada uma enzima-chave para indicar situações de estresse, como o provocado pela inoculação de patógenos (RIVERO et al., 2001; MACAGNAN et al., 2012) e sua atividade pode ser mensurada pela concentração desta. A indução da atividade da PAL tem sido relatada em resposta a ferimentos, como infecção por *C. gloeosporioides* em abacates, conforme o descrito por Beno-Moualem; Prusky (2000).

Verificaram-se maiores atividades dessa enzima para os frutos do controle e os frutos tratados com cera + 50 ppm de óleo de tomilho aos 18 dias de armazenamento, o que deveria ser justificado pelo aumento no diâmetro da lesão, mas, que não aconteceu nesse trabalho, uma vez que os tratamentos não apresentaram diferenças significativas entre si para diâmetro de lesão no 18º dia de armazenamento.

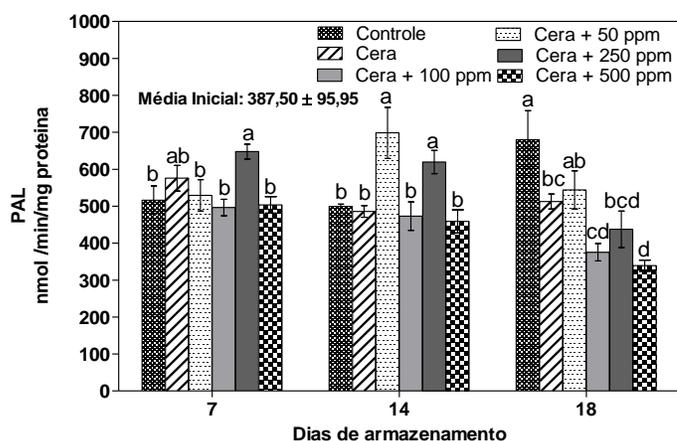


Figura 38. Atividade da fenilalanina amônia-liase em mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de tomilho, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e 65 ± 5 % UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Verificou-se acréscimo nos valores dos polifenóis extraíveis totais de todos os tratamentos ao longo do período de armazenamento, em relação a média inicial (Figura 39). Os maiores valores nos teores de polifenóis extraíveis totais foram encontrados no tratamento controle ao final do período de armazenamento, diferindo dos demais tratamentos com exceção do tratamento cera associado a 50 ppm.

Esse maior valor apresentado pelas frutas do controle no final do período de armazenamento, pode ser explicado pela maior atividade da enzima PAL neste período (Figura 38), uma vez que PAL tem sua atividade aumentada nos vegetais submetidos a situação de estresse por fungos (DELOIRE, et al., 2002) e sendo PAL, enzima-chave na síntese de polifenóis (SMART, 1987).

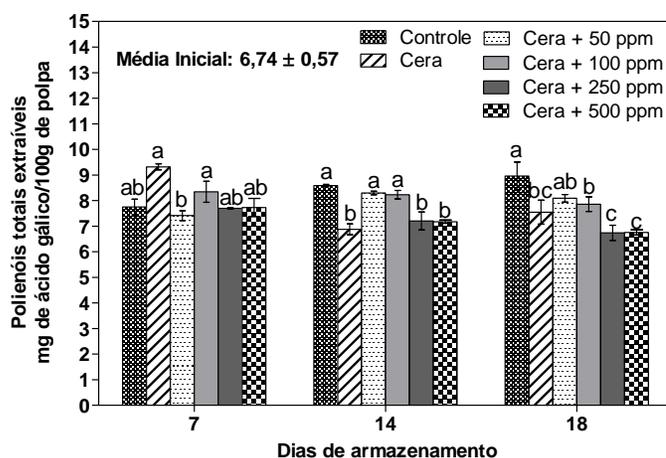


Figura 39. Polifenóis extraíveis totais em mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de tomilho, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65\pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) (n=4).

Observou-se incremento na atividade da enzima polifenoloxiadase (PPO) e da peroxidase (POD), ao longo do período de armazenamento, em relação a média inicial (Figura 40A e 40B).

A atividade da enzima polifenoloxidase (PPO) aos 14 dias de armazenamento foi maior para o tratamento controle, comparado com os demais frutos tratados com cera e cera associada a óleo de tomilho. No 18° dia de armazenamento, exceto o tratamento apenas com cera, todas as concentrações do óleo de tomilho foram inferiores ao controle, sendo as menores atividades desta enzima verificadas pelos frutos tratados com cera associada a 100, 250 e 500 ppm de óleo de tomilho. Constatou-se maior atividade desta enzima para os frutos do controle já a partir do 14° dia de armazenamento, fato este que pode estar relacionado com a defesa do vegetal em tecidos injuriados (MAYER, 2006), bem como a maior concentração de polifenóis (Figura 39), substratos para atividade enzimática da PPO.

A atividade da enzima POD foi menor nos tratamentos cera associada a 50 ppm e 500 ppm, em relação ao tratamento controle no 7° dia de armazenamento. Aos 14 dias todos os tratamentos apresentaram menor atividade enzimáticas em relação aos frutos do controle. No 18° dia de armazenamento o controle ainda apresentava as maiores taxas de atividade da enzima peroxidase, diferenciando dos demais tratamentos. Os frutos tratados com cera + 250 ppm de OT foram os que apresentaram a segunda maior atividade para esta enzima, também diferenciando dos demais tratamentos no 18° dia de armazenamento. Marques (2015) também observou aumento significativo dos valores nos tratamentos controle, em água, ao final do armazenamento, diferindo daqueles com óleo de tomilho, indicando redução da atividade dessa enzima com a aplicação do óleo essencial, resultados estes coerentes aos encontrados neste trabalho. Esta maior atividade enzimática dos frutos do controle, estão relacionados ao escurecimento da polpa e da casca (Figura 36 e 37) uma vez que as reações oxidativas dos fenóis por estas enzimas causam a produção de pigmento escuro, promovendo assim o escurecimento do fruto (JIMENEZ; GARCÍA-CARMONA, 1996).

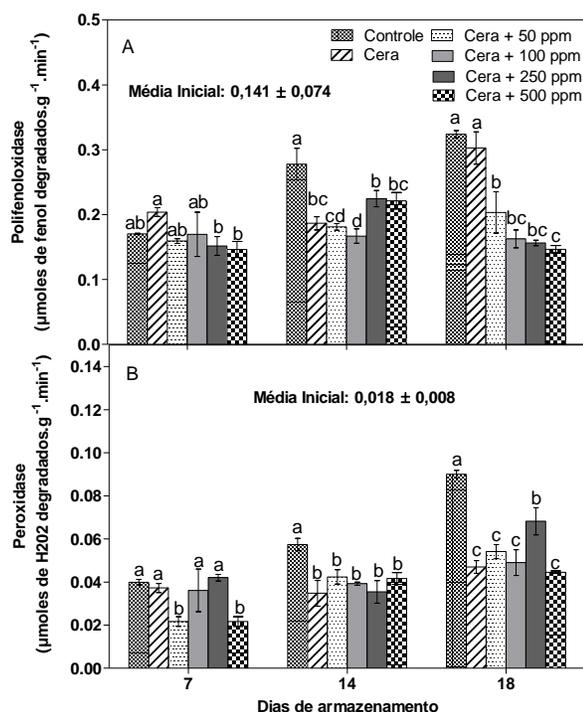


Figura 40. Atividade da polifenoloxidase (A) e da peroxidase (B), de mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de tomilho, armazenadas por 14 dias a 12±2 °C e mais 4 dias a 22±2 °C e 65±5% UR. Médias ± erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) (n=4).

Neste estudo, constata-se que o óleo de tomilho já na concentração de 10 ppm se mostrou eficiente em inibir 100% do crescimento micelial do fungo estudado durante os 7 dias de incubação, bem como reduzir em 80% a germinação de esporos. Entretanto, esse óleo não se mostrou eficiente em reduzir o diâmetro da lesão em frutos de mangas inoculados com *C. gloeosporioides*, não diferenciando dos frutos do controle em nenhuma das concentrações testadas. Apesar disso, o óleo de tomilho se mostrou eficiente em reduzir a atividade das enzimas PAL, polifenoloxidase, peroxidase e teor de polifenóis, diretamente relacionados com defesa do fruto quanto a ataque de patógenos.

4.9. EFEITO DO ÓLEO DE EUCALIPTO COMUM (*Eucalyptus globulus*) NO CRESCIMENTO MICELIAL E NA GERMINAÇÃO CONIDIAL DE *Colletotrichum gloeosporioides*

O óleo de eucalipto comum inibiu o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* *in vitro* de maneira dependente da dose, sendo que as concentrações de 2000 e 3000 ppm tiveram ação no crescimento do fungo até o final do período de incubação (Figura 41).

Observou-se que o eucalipto proporcionou um retardo no crescimento micelial do *C. gloeosporioides*, no qual apresentaram maiores taxas de inibição no 2º dia de incubação e, com o passar dos dias, ocorreu uma diminuição do efeito inibitório. Esse efeito retardatório pode ser justificado pelos danos que os OE podem causar à membrana citoplasmática dos microrganismos, uma vez que atravessam sua parede celular e a membrana citoplasmática afetando suas estruturas e tornando-a mais permeável (BAKKALI et al., 2008).

As concentrações de 50 e 1000 ppm não apresentaram inibição quanto ao crescimento micelial no final do período de incubação, evidenciando uma vez mais, que as demais concentrações utilizadas no trabalho, se deixado em contato por mais tempo, talvez também não apresentariam efeito inibitório.

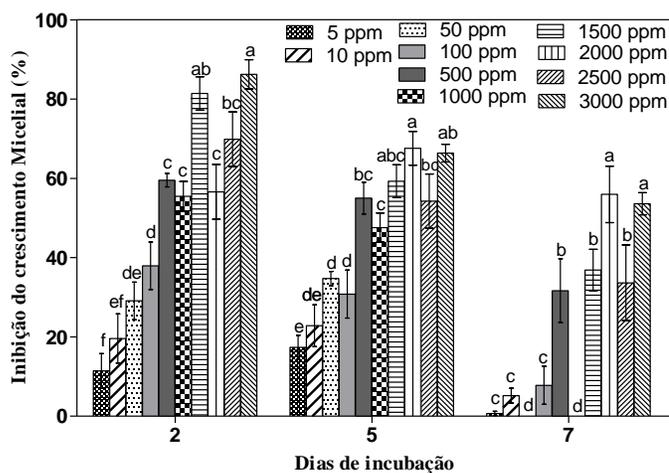


Figura 41. Efeito inibitório de óleo de eucalipto comum no crescimento micelial *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, durante 7 dias a 27 ± 1 °C. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Quanto ao efeito do eucalipto na germinação conidial, verificou-se que o produto, em todas as concentrações, foi eficiente em diminuir a taxa de germinação, e as maiores concentrações (2500 e 3000 ppm) proporcionaram os menores valores de germinação (Figura 42).

Estes resultados evidenciam que o óleo de eucalipto foi mais eficiente em diminuir a germinação conidial do que inibir o crescimento micelial do *C. gloeosporioides*.

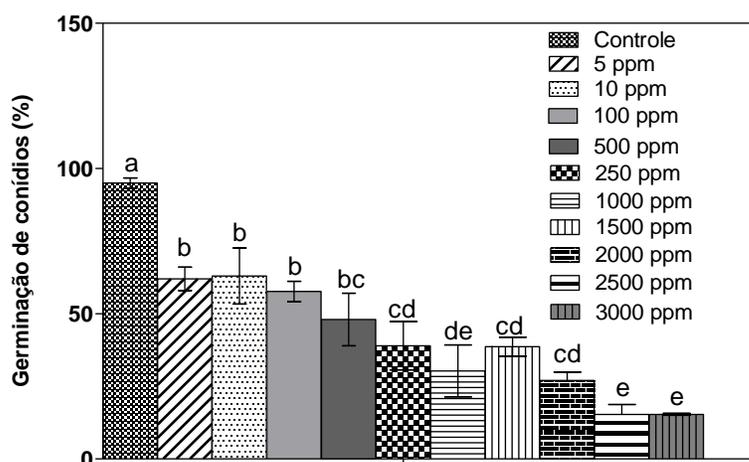


Figura 42. Porcentagem de germinação conidial *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides* isolado de mangas 'Palmer', tratados com eucalipto comum e incubado por 10 horas a $27\pm 1^\circ\text{C}$. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

4.10. EFEITO DO EUCALIPTO COMUM (*Eucalyptus globulus*) EM MANGAS 'PALMER' INOCULADAS COM *Colletotrichum gloeosporioides*

O óleo de eucalipto na concentração de 1500 ppm foi eficiente em diminuir o tamanho da lesão nos frutos de manga, diferindo significativamente do controle aos 18 dias de armazenamento (Figura 43A).

Quando calculado a taxa de inibição dos tratamentos, a partir do crescimento da lesão, foi possível verificar que as melhores taxas de inibição foram encontradas para o tratamento cera associada a 1500 ppm de óleo de eucalipto comum (OEC) nas duas datas de avaliação (Figura 43B). Os demais tratamentos apresentaram taxas inferiores a 50% de inibição (cera, cera associada a 500, 1000 e 3000 ppm). Essa baixa taxa de inibição do OEC pode ser justificada pelo baixo volume do óleo que permanece aderido na superfície da casca do fruto durante a formação do filme bem como à baixa capacidade de retenção dos componentes dos óleos essenciais pelo fruto, fatores estes que o tornam ineficientes no controle de patógenos (KOUASSIA, BAJJI e JIJAKLI, 2012). O efeito do uso de óleos essenciais foi

confirmado em abacates inoculados com *C. gloeosporioides* e *Lasiodiplodia theobromae*, nos quais o óleo de *Lippia scaberrima*, associado ao recobrimento com cera, reduziu o desenvolvimento da doença, quando comparados aos frutos dos controles tratados somente com cera ou água (REGNIER et al., 2010). Oliveria et al. (2011) trabalhando com bananas 'Prata' tratadas com 100 µL 100 mL⁻¹ de H₂O de eucalipto comum e depois inoculadas com *Colletotrichum musae* e armazenadas por 7 dias, encontraram uma taxa de inibição de somente 26%.

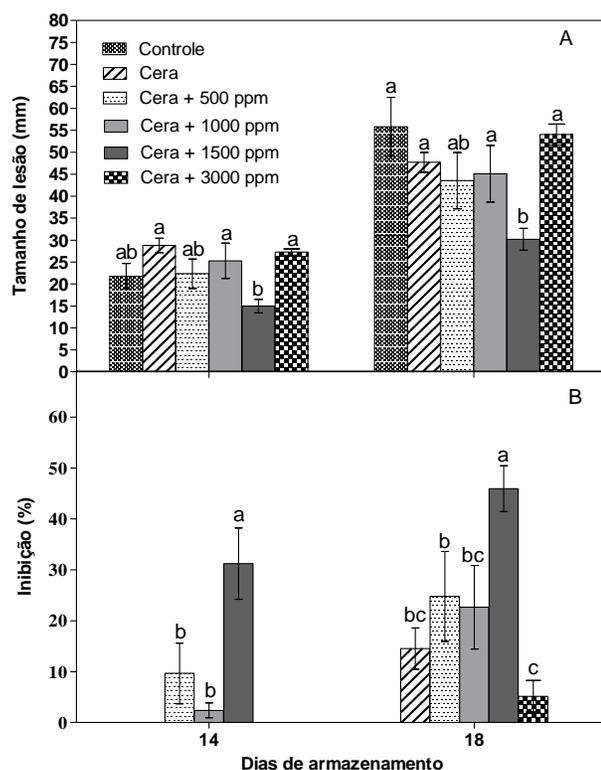


Figura 43. Diâmetro da lesão (A) e porcentagem de inibição da antracnose (B) em mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e óleo de eucalipto comum, armazenados por 14 dias a 12±2 °C e mais 4 dias a 22±2 °C e 65±5% UR. Médias ± erro padrão com letras iguais no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P > 0,05) (n=4).

Foi constatado um aumento no diâmetro da lesão para todos os tratamentos ao longo do período de armazenamento (Tabela 13). Todos os tratamentos também apresentaram acréscimos na porcentagem de inibição ao longo do período de armazenamento, sendo que os frutos recobertos com cera + 1500ppm de óleo de eucalipto comum o tratamento que apresentou a maior porcentagem de inibição no 18° dia de armazenamento, diferindo significativamente dos demais tratamentos (Figura 43).

Tabela 13. Diâmetro da lesão (A) e porcentagem de inibição da antracnose (B) em mangas ‘Palmer’ inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e óleo de eucalipto comum, armazenados por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e 65 ± 5 % UR.

Tratamento	Dias de armazenamento	
	14 dias	18 dias
	----- Diâmetro da Lesão (cm ²) -----	
Controle	21,76 b	55,80 a
Cera	28,79 b	47,69 a
Cera + 500 ppm	22,35 b	43,52 a
Cera + 1000 ppm	25,28 b	45,12 a
Cera + 1500 ppm	14,97 b	30,17 a
Cera + 3000 ppm	27,26 b	54,02 a
	----- Inibição da Lesão (%) -----	
Cera	0 b	14,53 a
Cera + 500 ppm	9,66 a	24,77 a
Cera + 1000 ppm	2,40 a	22,67 a
Cera + 1500 ppm	31,25 a	45,92 a
Cera + 3000 ppm	0 b	5,15 a

Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P>0,05$) (n=4)

Os frutos do controle foram os que apresentaram as maiores perdas de massa fresca em relação aos demais tratamentos aos 7, 14 e 18 dias de armazenamento,

diferindo significativamente dos demais tratamentos (Figura 44). Marques (2015) também constatou menor perda de massa fresca pelos frutos de abacates revestidos com cera e cera associada aos óleos de tomilho, alecrim-pimenta e capim-limão, armazenados por 17 dias.

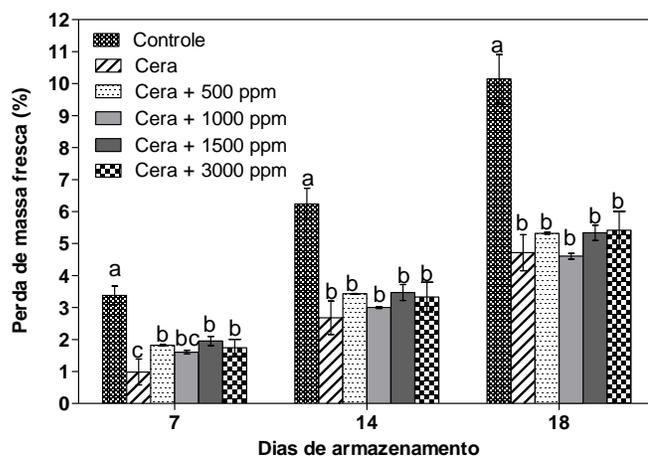


Figura 44. Perda de massa fresca, em porcentagem, de mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de eucalipto comum, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65\pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Para perda de massa fresca todos os tratamentos apresentaram incremento ao longo do período de armazenamento (Tabela 14), sendo os frutos do controle os que apresentaram os maiores incrementos, evidenciando mais uma vez o efeito da cera associada ou não ao OEC na redução da perda de massa fresca. Resultados satisfatórios também foram encontrados por Marques (2015) com abacates inoculados com *C. gloeosporioides* e tratados com cera e associação de diferentes óleos essenciais.

Tabela 14. Evolução da perda de massa fresca (%), em porcentagem, de mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de eucalipto comum, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65\pm 5\%$ UR.

Tratamento	Dias de Armazenamento		
	7	14	18
	----- Perda de massa fresca -----		
Controle	3,38 c	6,24 b	10,15 a
Cera	0,99 bc	2,68 b	4,72 a
Cera + 500 ppm	1,82 c	3,43 b	5,32 a
Cera + 1000 ppm	1,61 c	3,00 b	4,61 a
Cera + 1500 ppm	1,95 c	3,47 b	5,34 a
Cera + 3000 ppm	1,74 b	3,33 b	5,42 a

Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P>0,05$) ($n=4$)

Os teores de sólidos solúveis (SS) apresentaram acréscimos em seus valores ao longo do período de armazenamento, quando comparados com a média inicial (Figura 45). Os frutos do controle apresentaram os maiores valores aos 7 dias de armazenamento. Após a transferência dos frutos para a temperatura de 22 °C, os frutos tratados com cera + 1500 ppm de eucalipto apresentaram médias inferiores aos demais tratamentos. Essa manutenção dos teores de SS nos frutos do tratamento cera + 1500 ppm, pode ser consequência dos menores diâmetros de lesão apresentados pelos frutos deste tratamento (Figura 43). Com isso, houve um menor estresse e, conseqüentemente, menor avanço na maturação destes frutos. Os valores obtidos neste trabalho para sólidos solúveis estão coerentes com Siqueira et al. (1988), que trabalhando com diversas cultivares de manga, encontraram valores de SS que oscilaram de 11,60 a 21,56%.

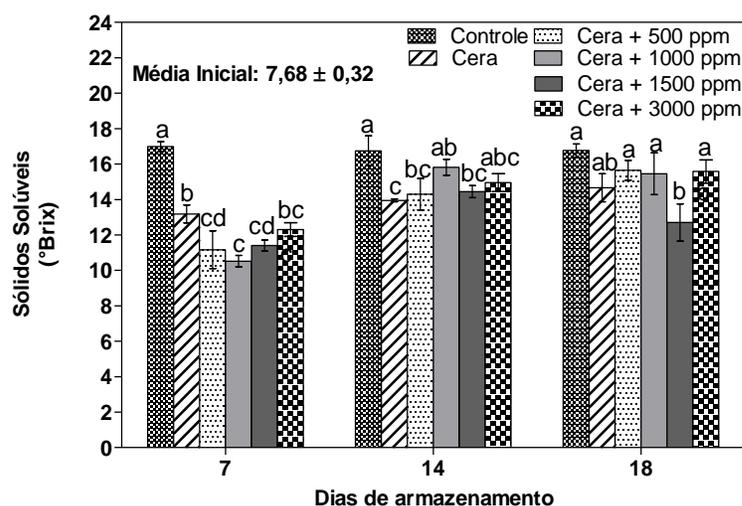


Figura 45. Teor médio de sólidos solúveis (°Brix), de mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de eucalipto comum, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Ocorreu redução da acidez das mangas em relação a média inicial ao longo do período de armazenamento, consequência do amadurecimento dos frutos (Figura 46A). Até o 14° dia de armazenamento refrigerado os frutos do controle era um dos que apresentavam a menor acidez, igualando aos demais tratamentos com exceção do frutos tratados com cera + 1500 OEC que apresentou a maior acidez no 18° dia de armazenamento em temperatura de ambiente. Fischer et al. (2009) relacionaram a redução da acidez dos frutos com o aumento de infecções em manga. Os valores observados neste trabalho estão coerentes aos encontrados por Maia et al. (1986), que para as cultivares de manga Ruby, Palmer e Tommy Atkins, apresentaram valores dentro do intervalo de 0,14 a 0,76 mol L⁻¹.

Foi possível verificar quanto aos teores de ácido ascórbico comportamento distinto entre os tratamentos até o 14° dia de armazenamento, no qual os frutos do controle apresentaram as maiores médias, seguido do tratamento somente com cera

(Figura 46B). No final do período de armazenamento (18 dias) foi possível verificar que não houve diferenças significativas entre os tratamentos.

Apesar da diferença no comportamento nos teores de ácido ascórbico ao longo do período de armazenamento foi possível verificar decréscimo em seus teores para todos os tratamentos (Média final 40,81). Valores estes coerentes aos encontrados por Santos et al. (2010), trabalhando com mangas 'Palmer' armazenadas sob condição ambiente por 12 dias que foi entre 30 e 35 mg ac. ascórbico 100 g^{-1} . Segundo Underhill; Critchley (1992), os teores de ácido ascórbico devem diminuir durante o amadurecimento e escurecimento do fruto, devido à oxidação para a forma inativa (2,3 diceto-gulônico).

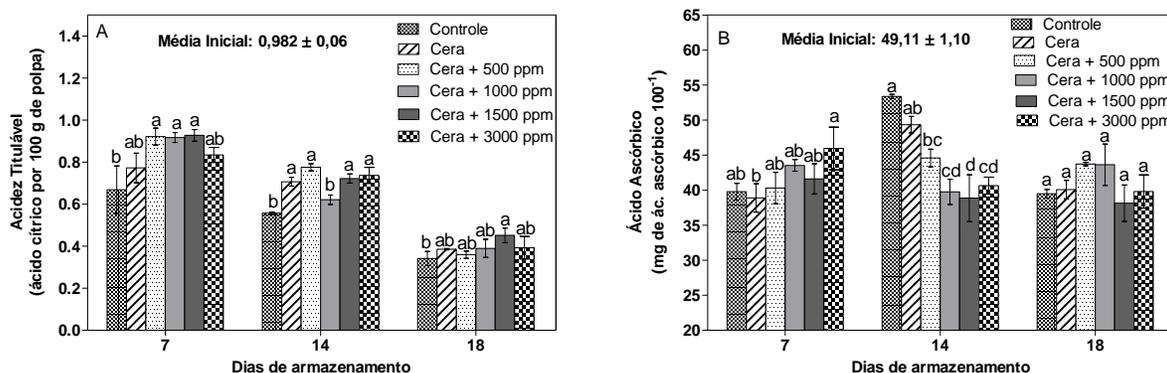


Figura 46. Acidez titulável (A) e teor ácido ascórbico (B) em mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de eucalipto comum, armazenadas por 14 dias a $12\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e mais 4 dias a $22\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $65\pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

No 7º dia de armazenamento verificou-se eficiência por parte dos recobrimentos (associado ou não ao óleo de eucalipto) na manutenção da firmeza, visto que todos os tratamentos diferiram significativamente do controle (Figura 47). Os frutos tratados com cera + 3000 ppm foram os que apresentaram maior firmeza aos 7 dias de armazenamento. Já no 14º dia de armazenamento refrigerado, os frutos tratados com cera e 500 ppm de eucalipto, foram os que apresentaram as

menores taxas de firmeza, diferindo significativamente dos demais tratamentos. Posteriormente, após quatro dias a 22 °C, foi possível verificar a eficiência do eucalipto na manutenção da firmeza, sobretudo nas concentrações de 1000, 1500 e 3000 ppm que diferiram significativamente do controle. Esses resultados evidenciam o efeito da cobertura no prolongamento da vida útil dos frutos, uma vez que o amaciamento dos tecidos de frutas é consequência do processo de amadurecimento e senescência dos vegetais (TOIVONEN; BRUMMELL, 2008). Marques (2015) também relatou maiores valores de firmeza da polpa de abacates ‘Hass’ inoculado e tratados com cera e associação de óleo de tomilho, capim-limão e alecrim pimenta armazenados por 17 dias, em relação aos frutos não tratados com o recobrimento.

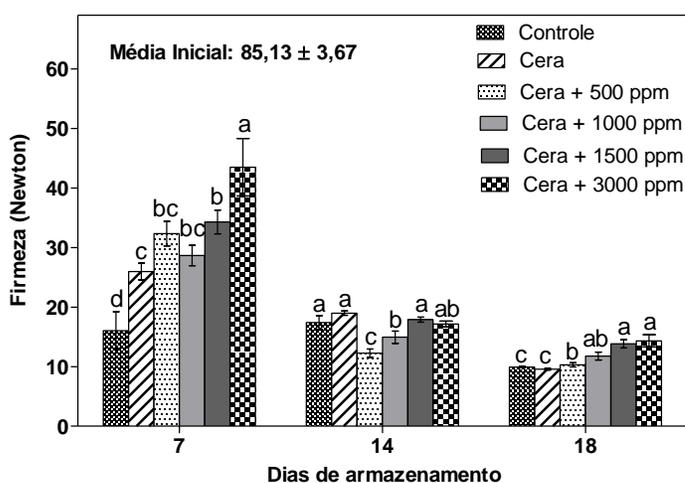


Figura 47. Firmeza de mangas ‘Palmer’ inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de eucalipto comum, armazenadas por 14 dias a 12±2 °C e mais 4 dias a 22±2 °C e 65±5% UR. Médias ± erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Os teores de carotenoides apresentaram decréscimos aos 7 e 14 dias de armazenamento, quando comparados com a média inicial, apesar de não

apresentarem diferenças significativas entre si (Figura 48). Depois de transferidos para temperatura de ambiente, todos os frutos apresentaram acréscimos em seus teores. Os frutos tratados com cera + 1500 e 3000 ppm de OEC, foram os que apresentaram as menores médias, sendo somente os frutos tratados com cera + 3000 ppm os que, diferiram significativamente dos demais tratamentos e controle.

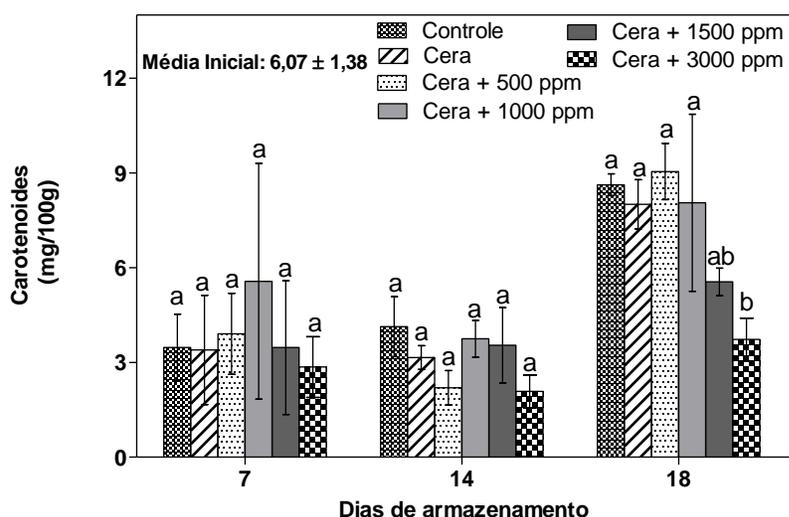


Figura 48. Carotenoides de mangas ‘Palmer’ inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de eucalipto comum, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Aos 7 dias de armazenamento não ocorreu diferenças significativas entre os tratamentos quanto a luminosidade (Figura 49A). Aos 14 e 18 dias de armazenamento os frutos do controle apresentaram as maiores médias diferindo significativamente dos demais tratamentos. Os frutos do controle apresentaram acréscimo nos valores de luminosidade ao longo do período, enquanto que os frutos dos demais tratamentos não apresentaram variação ao longo do período, evidenciando o efeito da cera com ou sem associação dos óleos na manutenção da

luminosidade. Estes acréscimos nos valores do controle mostram uma mudança de opaco para brilhante.

Quanto à cromaticidade (Figura 49B) foi possível verificar manutenção dos valores ao longo de todo período de armazenamento para os frutos tratados com cera associados ou não ao óleo de eucalipto, não apresentando diferenças significativas entre os tratamentos aos 14 e 18 dias.

Observou-se um leve decréscimo nos valores de ângulo Hue ao longo do período de armazenamento para os frutos tratados, com valores variando de 115,01 (média inicial de todos os tratamentos) a 106,46 (média final de todos os tratamentos) (Figura 49C). Os frutos do controle foram os únicos que diferiram significativamente dos demais tratamentos no 18º dia de armazenamento, evidenciando assim o uso da cera para manutenção da coloração. Contudo pode se afirmar que os frutos do controle foram os que mais apresentaram mudanças em sua coloração ao final do período de armazenamento ocasionado pela maior luminosidade e menor ângulo Hue. Segundo Chitarra; Chitarra (2005), as modificações na coloração dos frutos são decorrentes dos processos metabólicos, os quais correspondem a um dos principais critérios para a identificação do amadurecimento em frutas e hortaliças.

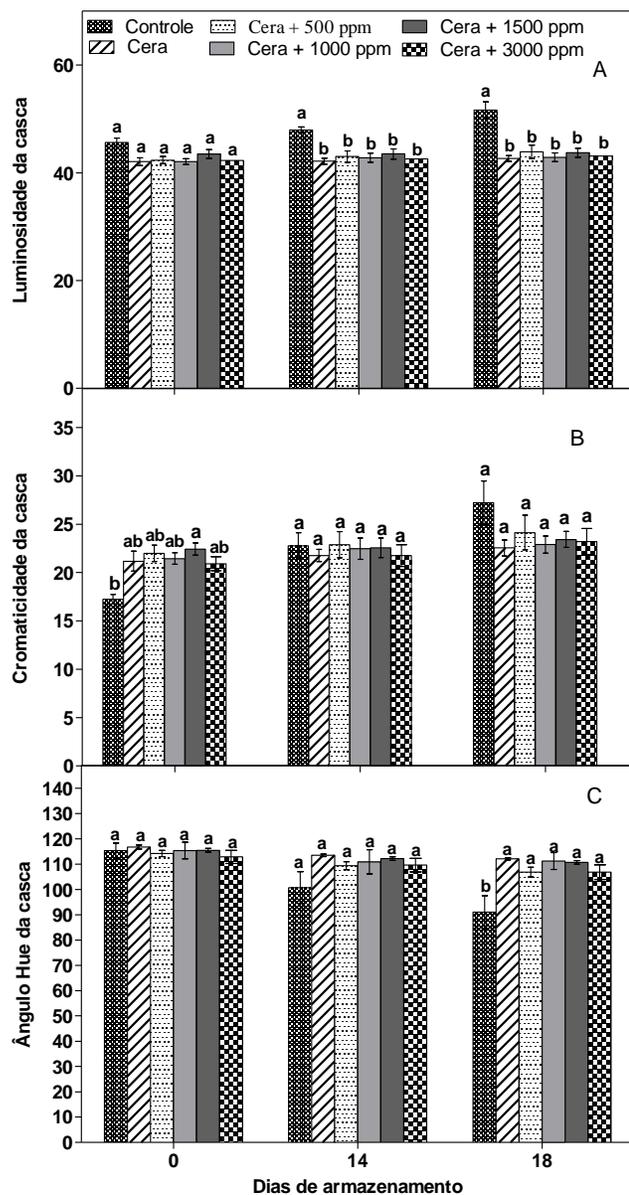


Figura 49. Coloração da casca de mangas 'Palmer', expressa em luminosidade (A), Cromaticidade (B) e ângulo Hue (C), inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de eucalipto comum, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Ainda para luminosidade foi possível verificar que os frutos do controle e os frutos tratados com cera + 500 ppm de OEC, apresentaram acréscimos em seus valores ao longo do período de armazenamento (Tabela 15). Os demais tratamentos foram eficientes na manutenção da luminosidade.

Para cromaticidade os frutos do controle, cera + 500 ppm e cera +3000 ppm de OEC sofreram aumentos em seus valores ao longo do período de armazenamento.

Todos os tratamentos apresentaram decréscimos no ângulo Hue, sendo os frutos do controle, os que apresentaram as maiores mudanças de coloração, ficando visível através das análises destas três variáveis, a eficiência dos tratamentos em retardar a mudança de coloração dos frutos ao longo do período de armazenamento.

Os frutos do controle foram os que apresentaram maiores mudanças para luminosidade, cromaticidade e ângulo Hue, indicando uma mudança de coloração do verde opaco para o amarelo/alaranjado brilhante.

Leandra (2008), também verificou essas mudanças na coloração de mangas 'Tommy Atkins' tratadas com fungicidas, associados ou não com tratamento hidrotérmico (53°C/5 minutos) e armazenadas sob condição ambiente (23°C, 65% UR), onde a coloração da casca evoluiu de verde claro, no primeiro dia de avaliação, para amarelo intenso, ao final do período de armazenamento, indicado por aumento na luminosidade e na cromaticidade (Figuras 3 e 4) e redução no ângulo Hue.

Tabela 15. Coloração da casca de mangas ‘Palmer’, expressa em luminosidade (A), Cromaticidade (B) e ângulo Hue (C), inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de eucalipto comum, armazenadas por 14 dias a 12±2 °C e mais 4 dias a 22±2 °C e 65±5% UR.

Tratamento	Dias de armazenamento		
	0	14	18
----- <i>Luminosidade da casca</i> -----			
Controle	45,62 c	47,94 b	51,65 a
Cera	42,07 a	42,15 a	42,67 a
Cera + 500 ppm	42,35 b	43,00 ab	43,89 a
Cera + 1000 ppm	42,10 a	42,80 a	42,88 a
Cera + 1500 ppm	43,48 a	43,50 a	43,73 a
Cera + 3000 ppm	42,26 a	42,61 a	43,12 a
----- <i>Ângulo Hue casca</i> -----			
Controle	17,22 c	22,76 b	27,21 a
Cera	21,16 a	21,76 a	22,53 a
Cera + 500 ppm	21,97 b	22,87 ab	24,13 a
Cera + 1000 ppm	21,44 a	22,46 a	22,89 a
Cera + 1500 ppm	22,43 a	22,54 a	23,41 a
Cera + 3000 ppm	20,90 b	21,75 ab	23,20 a
----- <i>Ângulo Hue</i> -----			
Controle	115,33 a	100,71 b	91,03 c
Cera	116,77 a	113,46 ab	112,14 b
Cera + 500 ppm	114,23 a	109,39 b	106,84 b
Cera + 1000 ppm	115,38 a	110,89 b	111,21 b
Cera + 1500 ppm	115,45 a	112,17 ab	110,70 b
Cera + 3000 ppm	112,85 a	109,60 ab	106,84 b

Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P>0,05) (n=4)

Os valores de luminosidade da polpa diminuíram ao longo do período de armazenamento em relação a média inicial (Figura 50A), sendo os frutos tratados com cera associada a 1000 ppm de óleo os que apresentaram as maiores reduções,

demonstrando que amadurecimento de mangas torna a coloração da polpa mais escura. Esse resultado está de acordo com a cromaticidade que tende a se tornar mais intensa (CHIUMARELLI et al., 2011).

Houve incremento dos valores de cromaticidade ao longo do armazenamento em relação a média inicial (Figura 50B). É possível verificar incrementos na saturação destes pigmentos, no qual os frutos tratados com cera associada a 1500 ppm de OEC os que apresentaram os menores incrementos não diferindo dos frutos do controle no 18º dia de armazenamento.

Para o ângulo Hue (Figura 50C), verificou-se um decréscimo ao longo do período de armazenamento para todos os tratamentos, partindo de 100,6º (média inicial), para média de 90º ao final do 18º dia de armazenamento, demonstrando assim a mudança de coloração da polpa de amarela para alaranjada, devido ao processo natural de senescência da fruta. O ângulo Hue da polpa diminuiu com os dias de armazenamento, demonstrando a sua tendência de atingir uma tonalidade alaranjada nos últimos dias de armazenamento (ASSIS et al., 2003). Os frutos tratados com cera associada a 1500 ppm de OEC, foram os que apresentaram os maiores valores no 18º dia de armazenamento, diferindo significativamente dos demais tratamentos, apresentando menor modificação na coloração da polpa.

Quando analisado estes fatores de coloração, fica visível a mudança de coloração polpa, acarretado pelo processo de amadurecimento da fruta. Resultados semelhantes com os desse trabalho, foram encontrados por Azerêdo; Silva (2013) trabalhando com mangas 'Tommy Atkins' recobertas com fécula de mandioca associado a erva-doce, orégano e quitosana mantidas por 20 dias a 12°C e por mais 12 dias a 24°C.

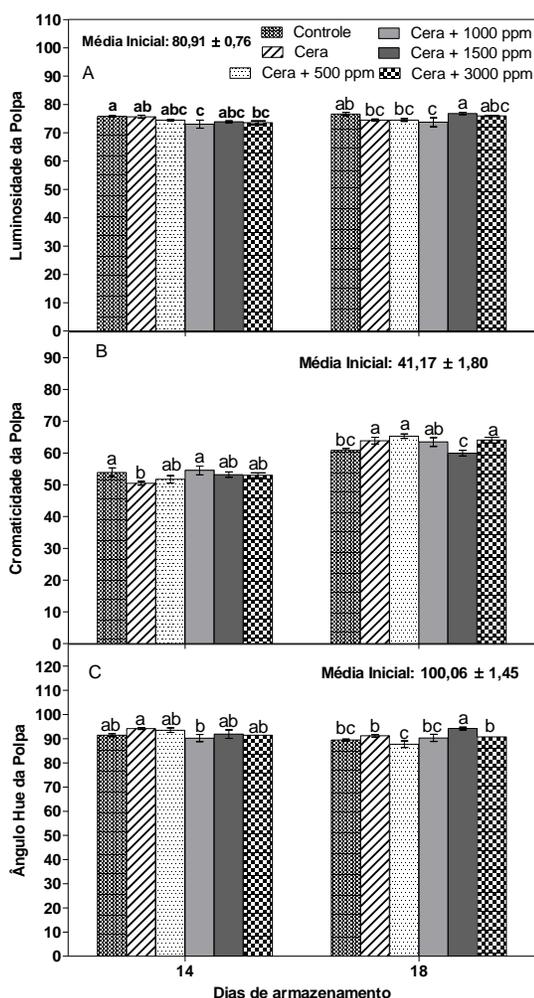


Figura 50. Coloração da polpa de mangas ‘Palmer’, expressa em luminosidade (A), Cromaticidade (B) e ângulo Hue (C), inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de eucalipto comum, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

A atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) na polpa das mangas apresentou aumento ao final do período de armazenamento em relação a média inicial, sendo que, somente os frutos tratados com cera associada a 1500 ppm apresentaram decréscimo em seus valores (Figura 51). O aumento na atividade

desta enzima indica que o tecido vegetal se encontra sob condições de estresse, pela ação de agentes abióticos ou bióticos, como o ataque de patógenos (RIVERO et al., 2001; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Observou-se decréscimo e oscilações nos valores desta enzima até o 14° de armazenamento, coerentes com os valores encontrados para diâmetro de lesão no qual até o 14° de armazenamento os frutos apresentaram pequenas lesões (Figura 43). Os maiores valores para atividade da PAL foram encontrados no 18° dia, quando os frutos estavam em temperatura de ambiente. Esta atividade pode ser justificada pelo maior diâmetro da lesão neste período, indicando que a infecção pelo patógeno pode ter provocado um aumento na atividade como resposta de defesa. Isto por que, o aumento na atividade da enzima PAL é um sinal de que o tecido vegetal está sob condição de estresse como o ataque de patógenos (RIVERO et al., 2001; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os menores valores no 18° dia de armazenamento para atividade da PAL, foram apresentados pelos frutos tratados com cera + 1500 ppm de OEC, que somente apresentou diferença significativa dos frutos tratados com cera + 500 ppm de OEC. Este resultados são justificados pelo menor diâmetro de lesão para este tratamento neste dia de avaliação (Figura 43).

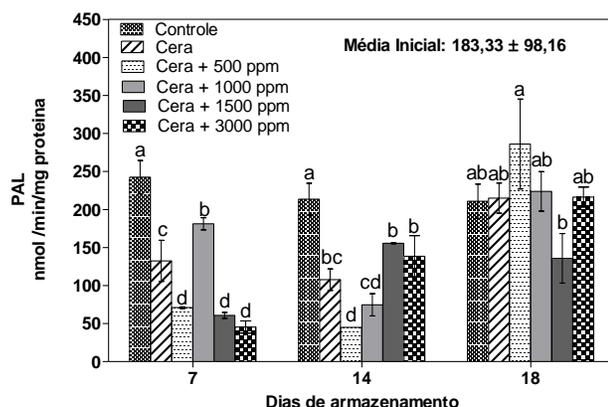


Figura 51. Atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) em mangas ‘Palmer’ inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de eucalipto comum, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

Foi possível verificar pequenos acréscimos nos teores de polifenóis extraíveis totais ao longo do período de armazenamento (Figura 52). O teor de polifenóis pelos frutos está relacionado à formação de compostos fenólicos que podem ser sintetizados pelos vegetais em resposta a algum tipo de estresse, como o ataque de patógenos e insetos (NACZK; SHAHIDI, 2004).

No 14º dia de armazenamento os frutos tratados com cera e cera + 3000 ppm OEC, foram os que apresentaram menores valores para esta variável, diferindo significativamente dos demais tratamentos. No 18º dia de armazenamento os tratamentos não apresentaram diferenças significativas quanto ao teor de polifenóis extraíveis.

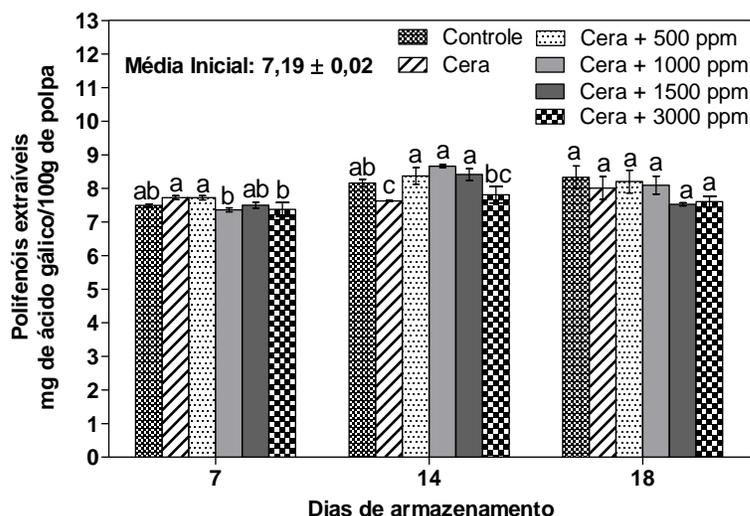


Figura 52. Polifenóis totais extraíveis em mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de eucalipto comum, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65\pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

A atividade da enzima polifenoloxidase apresentou acréscimo em relação a média inicial ao longo de período de armazenamento, para todos os tratamentos (Figura 53A). A atividade dessa enzima está relacionada com respostas do vegetal a estresses, podendo ser desencadeados por processos infecciosos de patógenos (OJAGHIAN et al., 2013). No 14º dia de armazenamento refrigerado e após os 4 dias em temperatura de ambiente, verifica-se que os frutos do controle foram os que apresentaram maior atividade da PPO, diferindo significativamente dos demais tratamentos. Resultados estes semelhantes aos encontrados para atividade da PAL (Figura 51), uma vez que os frutos estavam inoculados e ambas as enzimas atuam na defesa do fruto contra patógenos.

Esta enzima está relacionada principalmente com a defesa do fruto a fatores externos, dentre eles ao ataque de patógenos, devendo a mesma ser coerentes com os resultados de diâmetro da lesão. Neste trabalho, os diâmetros das lesões foram semelhantes para todos os tratamentos ao final do período de armazenamento, diferenciando dos resultados desta enzima, onde, todos os frutos tratados com óleo de eucalipto apresentaram valores inferiores comparados com o controle.

Houve aumento na atividade da peroxidase (POD) ao longo do armazenamento (Figura 53B). A partir do 14º dia de armazenamento já foi possível verificar maior atividade dessa enzima nos frutos do controle, comparados com os demais tratamentos. Ao final do período de armazenamento (18º dia), os valores encontrados para a POD foram menores nos frutos tratados quando comparados com o controle, não havendo diferença significativas entre eles.

Dentre as várias reações a peroxidase pode participar da inativação da vitamina C, catalisar o descoloramento dos carotenóides na ausência de ácidos graxos insaturados (WHITAKER, 1996), o que não foi verificado neste trabalho.

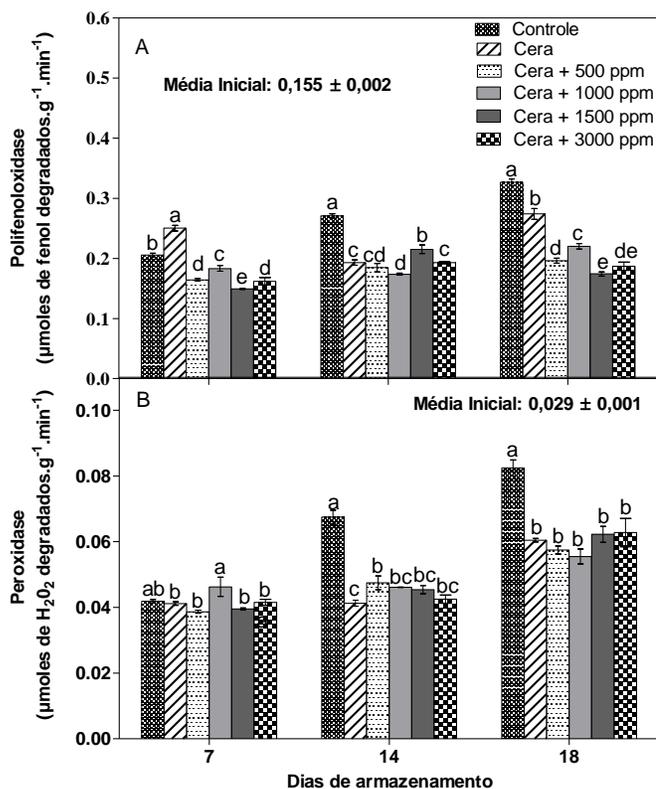


Figura 53. Atividade da polifenoloxidase (A) e da peroxidase (B) em mangas 'Palmer' inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* e tratadas com cera e associações de óleo de eucalipto comum, armazenadas por 14 dias a 12 ± 2 °C e mais 4 dias a 22 ± 2 °C e $65 \pm 5\%$ UR. Médias \pm erro padrão com letras iguais, no dia de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) ($n=4$).

O óleo de eucalipto comum se mostrou pouco eficiente em inibir o crescimento micelial *in vitro* do *C. gloeosporioides*, mas reduziu a porcentagem de germinação dos esporos. No experimento *in vivo*, apenas a cera associada a concentração de 1500 ppm se mostrou eficiente em reduzir o diâmetro da lesão, diferenciando do tratamento controle.

A cera associada ou não ao OEC foram eficientes em diminuir a perda de massa fresca, manter o conteúdo de sólidos solúveis, firmeza e carotenoides, bem como diminuir a atividade das enzimas PAL, PPO e POD, além de manter a coloração da casca dos frutos.

5. CONCLUSÕES

O extrato de própolis verde a partir de 2%, o óleo de capim-limão a partir de 250 ppm e o de tomilho a partir de 10 ppm, se mostram eficientes em controlar o crescimento do *C. gloeosporioides in vitro*.

O óleo de eucalipto comum retardou, mas não inibi o crescimento do *C. gloeosporioides in vitro*.

Todos os óleos se mostram eficientes em inibir a germinação de esporos de *C. gloeosporioides*.

Os tratamentos com cera e cera associada aos óleos ou extrato de própolis reduzem o crescimento da lesão *in vivo*, sendo que a maior inibição do patógeno foi conseguida com o extrato de própolis verde (70%) na concentração de 2,5%.

Todos os produtos testados se mostram eficientes na manutenção da qualidade de frutos de mangas 'Palmer' inoculadas com *C. gloeosporioides*.

6. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Na presente pesquisa, alguns problemas foram enfrentados, servindo de experiência para outras pesquisas, dentre eles podem ser citados:

- A dificuldade em dissolver os óleos nos recobrimentos, uma vez que o recobrimento apresenta alta viscosidade, dificultando a uniformização do mesmo sobre o fruto.
- Testes de qualidade foram efetuados em frutos inoculados, o que faz com que algumas variáveis no trabalho apresente grandes discrepância em seus valores.

Através da experiência obtida com o desenvolvimento da presente pesquisa algumas sugestões para próximas pesquisas devem ser relatadas:

- Ao se trabalhar com frutos inoculados testando controle de doenças deve-se verificar e trabalhar com temperatura e umidade extremamente controladas para evitar interferências destes fatores nos resultados, uma vez que o crescimento destes patógeno é altamente influenciado.
- Ao se incluir produtos naturais em recobrimentos comestíveis deve-se analisar a densidade e pH do produto final, pois os mesmos têm extrema influência sobre o resultado final no controle de doenças e na qualidade de frutas.
- Teste com diferentes recobrimentos devem ser realizados para verificar a melhor dissolução dos produtos testados no mesmo, permitindo assim um melhor espalhamento e aderência do produto na fruta.
- Também devem ser realizados testes de formação de filme pelo produto no fruto em questão, uma vez que cutícula da fruta pode apresentar resistência a aderência de produtos, ainda mais se tratando de óleos.
- Produtos alternativos no controle de doenças devem ser testados como medida de controle bem como de prevenção, uma vez que cada recobrimento e composto adicionado com a finalidade de controlar a

doença apresenta uma propriedade e um mecanismo de atuar sobre o patógeno e até mesmo de realizar o papel de elicitores.

- Concentrações testadas *in vitro* devem ser obrigatoriamente no mínimo duplicada para aplicação *in vivo*, pois se tratando de um organismo vivo como o caso dos frutos, o comportamento é totalmente diferenciado *in vitro*, no qual não se consegue controlar todas as características.
- Em teste *in vitro*, deve-se deixar as placas após os 7 dias de incubação por mais 7 dias, para verificar o efeito retardatório do produto em questão, pois muitos produtos apresentam eficiência momentânea sendo perdida ao longo dos dias.
- Teste com produtos adicionados em recobrimentos devem permanecer por no mínimo 24 horas para verificar a divisão de fases do produto final.
- Concentrações de produtos aplicados aos frutos devem ser consultada a legislação específica para verificar a permissão quanto a segurança alimentar.
- Teste de análise sensorial sempre devem ser realizados em frutos recobertos, para verificar sabores e odores indesejados, uma vez que principalmente óleos essências tendem a exalar seu cheiro. A aparência do recobrimento sobre o fruto também deve ser verificada.

Sem mais, a associação desses produtos a revestimentos comestíveis aplicados em frutos contribuem para a manutenção da qualidade dos mesmos, inibindo ou até mesmo controlando o aparecimento de doenças, indicando a importância e a necessidade de pesquisas nessa área abrangendo também outros vegetais e outros recobrimentos e tratamentos alternativos. Uma vez que boa parte do setor frutícola já aplica esses recobrimentos com finalidade de manutenção da qualidade e melhor aparência, a agregação de produtos que controlem enfermidades pós-colheita será de grande contribuição para o setor.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEGAZ, B.; YOHANNES, P. G. Constituents of the essential oil of Ethiopian *Cymbopogon citratus* Stapf. **Journal of Natural Products**, Columbus. v. 46, n. 3, p. 424-426, 1983.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil by gas chromatography/mass spectrometry**. 4 ed. Illinois: Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 2007. 804 p.

AGRIANUAL 2013: anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP Consultoria & Comercio, 2013. p.130-131.

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5th ed. San Diego: Academic Press, 2005. 922p.

ALLAIN, C. C.; POON, L. S.; CHAN, C. S. G.; RICHMOND, W.; FU, P. C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clinical Chemistry**, Washington, v. 120, p.470-475, 1974.

ALVES, R.E.; FILGUEIRAS, H.A.C.; MENEZES, J.B.; ASSIS, J.S.; LIMA, M.A.C.; AMORIM, T.B.F.; MARTINS, A.G. **Colheita e pós-colheita**. In: GENÚ, P.J.C.; PINTO, A.C.Q. (Eds.). A cultura da mangueira. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. p. 381-406.

ANARUMA, N.D. et al. Control of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. in yellow passion fruit using *Cymbopogon citratus* essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.41, n.1, p.66-73, 2010.

ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, Reetz, E. R. et al., Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2015. 104 p.: il.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International**. 16th ed. Washington: Ed. Patrícia Cunniff, 1997. v. 2, cap.37. Método 942.15 e método 932.12.

ARREBOLA, E.; SIVAKUMAR, D.; BACIGALUPO, R.; KORTSEN, L. Combined application of antagonist *Bacillus amylo liquefaciens* and essential oils for the control of peach postharvest diseases. **Crop Protection**, Guildford, v. 29, n.4, p. 369-377, 2010.

ASSIS, J.S. **Colheita e pós-colheita**. In: MOUCO, M.A.C. (Ed.). Cultivo da Mangueira. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, Sistemas de Produção, 2. Versão eletrônica, 2004.

ASSIS, O. B. G.; FORATO, L. A.; BRITTO, D. Revestimentos comestíveis protetores em frutos minimamente processados. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 22, n. 160, p. 99-106, 2009.

ASSIS, O.B.G.; LEONI, A.M. Filmes comestíveis de quitosana. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Uberlândia, n. 30, p.33-38, 2003.

AVILA-SOSA, R.; LÓPEZ-MALO, A. Aplicación de sustancias antimicrobianas a películas y recubrimientos comestibles. **Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos** 2008, 2, 4-13.

BAILEY, J. A.; O'CONNELL, R. J.; PRING, R.J.; NASH, C. Infection strategies of *Colletotrichum* species. In: Bailey, A. J. & Jeger, J. M. *Colletotrichum: biology, pathology and control*. **British Society for Plant Pathology**. Oxford: British C.A.R International. p. 88-120, 1992.

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

BANKOVA, V.; KRASKEVA, G. B.; POPOV, S.; SFORCIN, J. M.; FUNARI, S. R. C. Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian propolis. **Apidologie**, v. 29, n. 1, p. 361-367, 1998.

BARATTA, M. T.; DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G.; BIONDI, D. M.; RUBERTO, G. Chemical composition antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils. **Journal Essential Oil Research**, v. 10, n.6, p.618-627, 1998.

BENO-MOUALEM, D.; PRUSKY, D. Early events during quiescent infection development by *Colletotrichum gloeosporioides* in unripe avocado fruits. **Phytopathology**, St. Paul, v. 90, n.5, p. 553–559, 2000.

BHASKARACHARY, K.; SANKAR RAO, D. S.; DEOSTHALE, Y. G. M.; VINODINI, R. Carotene content of some common and less familiar foods of plant origin. **Food Chemistry**, Easton. v. 54, n. 2, p. 189-193, 1995.

BLEINROTH, E.W.; FIGUEIREDO, I.B.; VEIGA, A.A.; SOARES, N.B.; MEDINA, J.C.; SABINO, J.C. Avaliação de novas cultivares de manga para industrialização. I. Análise das características físico-geométricas e químicas da matéria-prima. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.22, n.2, p. 217-246, 1985.

BONETT, L. P.; WESSLING, C. R.; GAMELO, F. P.; MÜLLER, G. M.; GIOPPO, N. M. da R. Óleo de *Baccharis dracunculifolia* DC. e seu efeito in vitro sobre *Colletotrichum gloeosporioides* coletados em frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Cultivando o saber**, Cascavel, v.3, n.4, p.24-36, 2010.

BOSQUEZ-MOLINA, E. Inhibitory effect of essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruit and their possible application in coatings. **Postharvest Biology and Technology**, Washington, v. 57, n. 2, p. 32-137, Mar. 2010.

CARNELOSSI, P. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.11, n.4, p. 399-406, 2009.

CARRICONDE, C. M.; MORES, D.; VON FRITSCHEN, M.; CARDOZO JÚNIOR. E. L. **Plantas medicinais e alimentícias**. Olinda: Centro Nordeste de Medicina Popular; Universidade Federal Rural de Pernambuco, v. 1, p.45-47, 1996.

CHAND, S.; LUSUNZI, I.; VEAL, D. A.; WILLIAMS, L. R.; KARUSO, P. Rapid screening of the antimicrobial activity of extracts and natural products. **The journal of Antibiotics**, Tokyo, v. 47, n.11, p. 1295-1304, 1994.

CHIUMARELLI, M.; FERRARI, C. C.; HUBINGER, M. D. Fresh cut "Tommy Atkins" mango pre-treated with citric acid and coated with cassava (*Manihotesculentacrantz*) starch or sodium alginate. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. p. 381-387. 2011.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças: Fisiologia e manuseio**. Lavras: Editora de Universidade Federal de Lavras, 785 p., 2005.

COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G. P. P. In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, Fargo, DN. v. 33, p. 344-349, 2011.

COSTA, A. de F. S. da; BALBINO, J. M. de S. **Mamão: pós-colheita**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca Fruticultura (Frutas do Brasil, 21), p.59, 2002.

CRUZ, M. de M.; LINS, S. R. de O.; OLIVEIRA, S. M. A de; BARBOSA, M. A. G. Efeito de óleos essenciais e revestimentos comestíveis sobre podridões pós-colheita em manga, cv. Kent. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 2, P. 1-6, 2012.

CUNHA, G. A. P.; SAMPAIO, J. M. M., **A cultura da manga**. Empresa brasileira de pesquisa agropecuária, Centro nacional de pesquisas de mandioca e fruticultura tropical. Brasília: EMBRAPA-SPI. 54. P. 1994.

DAIUTO, E.R.; SIMON, J.W.; VIEITES, R.L.; CARVALHO, L.R.; RUSSO, V.C. Aceitabilidade e viabilidade tecnológica da elaboração de dois produtos de abacate 'Hass'. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, México, v.13, n.1, p.66-75, 2012

DANTAS, J.L.L.; MORALES, C.F.G. Melhoramento genético do mamoeiro. In: MENDES, L.G.; DANTAS, J.L.L.; MORALES, C.F.G. **Mamão no Brasil**. Cruz das Almas: EUFBA/EMBRAPACNPMF, 1999. p.93-120.

DAYAN, F.E.; CANTRELL, C.L.; DUKE, S.O. Natural products in crop protection. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.17, n.12, p.4022-4342, 2009.

DELESPAUL, Q. et al. The antifungal activity of oils as determined by different screening methods. **Journal of Essential Oil Research**, v.12, n.2, p.256-66, 2000.

DELOIRE A.; LOPEZ, F. Y.; CARBONNEAU, A. Réponses de la vigne et terroirs. Eléments pour une méthode d'étude. *Le Progrès Agricole et Viticole*, v.4, p.78-86, 2002.

DHALL, R. Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: a review. **Critical Review. Food Science Nutrition**, v.53, p. 435–450, 2013.

DING, C.K.; CHACHIN, K.; UEDA, Y.; IMAHORI, Y.; WANG, C.Y. Metabolism of phenolic compounds during loquat fruit development. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.49, p.2883-2888, 2001.

DONADIO, L. C. Abacate para exportação: aspectos técnicos da produção. Brasília, DF: DENACOOOP, 1992. 109 p. (Série de Publicações Técnicas da FRUPEX).

EL FATTAH, M. A.; EL ZAHWEY, HARIDY, I. M., EL DEEB, S. A. Effect of drying on the physicochemical properties and chemposition of lemon grass oil. **Menofiya Journal Agriculture Research**, River Nile. v. 17, n. 13, p. 1211-1230, 1992.

EMBRAPA. 2009. Coleta, conservação, caracterização, documentação e uso de plantas medicinais e aromáticas de ocorrência na Amazônia Oriental. Disponível em <>. Acesso em: 22 jan. 2016.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: <www.faostat.fao.org>. Acesso em: 10 Maio 2016.

FISCHER, I. H.; ARRUDA, M. C. de; ALMEIDA, A. M. de; GALLI, J. A.; BERTANI, R. M. A.; JERÔNIMO, E. M. Doenças pós-colheita em variedades de manga cultivadas em Pindorama, São Paulo. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 2, p. 352359, 2009.

GONÇALVES, F. P.; MARTINS, M. C.; SILVA-JUNIOR, G. J.; LOURENÇO, S. A.; AMORIM, L. Postharvest control of brown rot and Rhizopus rot in plums and nectarines using carnauba wax. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 58, n. 3, p. 211-217, 2006.

GUIMARÃES, L. G. de L.; CARDOSO, M. das G. **Estudo da estabilidade e do efeito fungitóxico do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf)**. 2007. 72 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Agroquímica e Agrobioquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

GUSTAVSSON, J.; CEDERBERG, C.; SONESSON, U. **Global food losses and food waste. Extent, causes and prevention**. Study conducted for the International Congress on SAVE FOOD. Düsseldorf, Germany. Food And Agriculture Organization Of The United Nations, Rome, Italy, 2011.

HADACEK, F.; GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. **Phytochemical Analysis**, Londres, v. 11, n.3, p.137-147, 2000.

HAGENMAIER, R. D.; BAKER, R. A. Wax micro emulsions and emulsions as citrus coating. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 42, p. 899-902, 1994.

IPPOLITO, A.; NIGRO, F. Impact of preharvest application of biological control agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. **Crop Protection**, v.19, p. 715-23, 2000.

ISLA, M.I., MORENO, M.I.N., SAMPIETRO, A.R., *et al.* Antioxidant activity of Argentine propolis extracts. **J Ethnopharmacol**, v.76, n.2, p.165-170, 2001.

JIMENEZ, M.; GARCÍA-CARMONA, F. The effect of sodium dodecyl sulphate on polyphenoloxidase. *Phytochemistry*, v. 42, p. 1503-1509, 1996.

KISHORE, N., et al. Fungitoxicity of essential oils against dermatophytes. **Mycoses**, Belfast, v.36, p.211- 215, 1993.

KNEE, M.; BARTLEY, I.M. Composition and metabolism of cell wall polysaccharides in ripening fruits. In: FRIED, J.; RHODES, M.J.C. (Ed.). **Recent advances in the biochemistry of fruits and vegetables**. New York: Academic Press, 1981. p. 131-146.

KOUASSIA, K. H. S.; BAJJI, M.; JIJAKLI, H. The control of postharvest blue and green molds of citrus in relation with essential oil–wax formulations, adherence and viscosity. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.73, n.3, p.122-128, 2012.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigment photosynthetic biomembranes. **Methods Enzymol.**, San Diego, v.148, p. 362-385, 1987.

LIMA, E. O. In vivo antifungal activity of essential oils obtained from officinal plants against dermatophytes. **Mycoses**, Belfast, v.36, p.333-336, 1993.

LIMA, G. P. P.; BRASIL, O. G.; OLIVEIRA, A. M. Poliaminas e atividade da peroxidase em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado sob estresse salino. **ScientiaAgricola**, Piracicaba, v. 56, n.1, p. 21-25, 1999.

LIMA FILHO, R.M.; OLIVEIRA, S.M.A.; MENEZES, M. Caracterização Enzimática e Patogenicidade Cruzada de *Colletotrichum spp.* Associados a Doenças de Pós-Colheita. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, n.6, p.620-625, 2003.

LURIE, S. Postharvest heat treatments. **Postharvest Biology and Technology**, v. 14, p. 257–269. 1998.

MACAGNAN, D.; ROMEIRO, R. D. A; POMELLA, A. M. V.; de SOUZA J. T. Production of lytic enzymes and siderophores, and inhibition of germination of basidiospores of *Moniliophthora (ex Crinipellis) perniciosa* by phylloplane actinomycetes. **Biol Control**. 2008; 47:309–314.

MAHMOUD, A. L. E. Antifungal action and antiflatogenic properties of some essential oil constituents. **Letter Applied Microbiology**, Oxford v. 19, p. 110-113, 1994.

MAQBOOL, M.; ALI, A.; MOHAMED, M. T. M.; SIDDIQUI, Y.; ZAHID, N. Postharvest application the gomaarabic and essential oil for controlling antracnose and quality of banana and papaya during cold storage. **Postharvest Biology and Technology**, Washington. v. 62, p. 71-76, 2011.

MARINO, A. K. **Associação de própolis à quitosana no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em abacate 'Hass'**. 2015. 39 f. Trabalho de conclusão de curso. Faculdade de Ciências Agrárias Veterinárias – UNESP. 2015.

MARKHAM, K.R.; MITCHELL, K.A.; WILKINS, A.L.; DALDY, J.A.; LU, Y. HPLC and GC–MS identification of the major organic constituents in New Zealand propolis. **Phytochemistry**, New York, v.42, p.205–211, 1996.

MARQUES, K. M. **Quitosana e óleos essenciais no controle de antracnose e na qualidade pós-colheita de abacates**. 2015. 105 f. Trabalho de conclusão de curso. Faculdade de Ciências Agrárias Veterinárias – UNESP.

MATTIUZ, B.H.; DUCAMP-COLLIN, M.N.; MATTIUZ, C.F.M.; VIGNEAULT, C.; MARQUES, K.M.; SAGOUA, W.; MONTET, D. Effect of propolis on postharvest control of anthracnose and quality parameters of `Kent mango. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.184, p.160-168, 2015.

MAYER, A. M. Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places. **A review. Phytochemistry**, New York, v.67, n.21, p. 2318-2331, 2006.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R. T.; MAGNO JUNIOR, R. G.; LOPES, E. A. G. L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizisyd.* & p. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras: v. 31, n. 1, p. 83-90, 2007.

MELO, R. M. C. A; MELO FILHO, P. A.; CÂMARA, M. P. S.; CÂMARA, C. A. G; SANTOS, R. C. Prospecção de óleos vegetais para controle da ramulose do algodoeiro. In: Congresso Brasileiro do Algodão, 7. 2009, Foz do Iguaçu. **Anais**.Campina Grande: Embrapa Algodão, 2009, p.1021-1027.

MENENDÉ, P.; ONELL, S.; MULLER, S.; DELLACASSA, B. Estudio de la actividad antimicrobiana de distintos aceites esenciales. In: JORNADA DE PESQUISA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA, **Anais**. Santa Maria: AUGM, 1993p. 124.

MERCADANTE, A.Z. et al. HPLC and mass spectrometric analysis of carotenoids from mango. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, p.120-123, 1997.

MERCIER, J.; BAKA, M.; REDDY, B.; CORCUFF, R.; ARUL, J. Shortwave ultraviolet irradiation for control of decay caused by *Botrytis cinerea* in Bell pepper: induced resistance and germicidal effects. **Journal American Society Horticultural Science**, Alexandria, v. 126, n.1, p.128-133, 2001

MESQUINI, R. M.; SCHWAM-STRADA, K. R. F.; NASCIMENTO, J. F.; BALBI-PENA, M. I.; BONALDO, S. M. Efeito de produtos naturais na indução de fitoalexinas em cotilédones de soja e na germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Guarapari, v. 2, n. 2, out. 2007.

MIGUEL, A. C. A. **Tratamento térmico, radiação ultravioleta (uvc), quitosana e cera na prevenção de injúrias pelo frio em mangas ‘tommy atkins’ e ‘palmer’**. 2012. 200 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012.

MINOLTA, K. Precise color communication: color control from perception to instrumentation. Tokyo: **Konica Minolta Sensing**, 2007.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, New York, v. 1054, n.1/2, p. 95-111, 2004.

NASCIMENTO, A. S. do; COUTINHO, C. de C.; FERREIRA, F. R; SANTOS FILHO, H. P. dos; CUNHA, M. M. da; JUNQUEIRA, N. T. V. **Manga: Fitossanidade**. EMBRAPA Informações Tecnológicas (Frutas do Brasil). Brasília-DF, 2000. 104p.

OJAGHIAN, M. R.; ALMONEAFY, A. A.; CUI, Z. Q.; XIE, G. L.; ZHANG, J.; SHANG, C. LI, B. Application of acetyl salicylic acid and chemically different chitosans against storage carrot rot. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.84, p. 51-60, 2013

OLIVAS, O. G.; PÉREZ-GAGO, M. B. Películas y recubrimientos comestibles para fruta y vegetales. In: **Películas y recubrimientos comestibles**. Propiedades y aplicaciones en alimentos. OLIVAS, O. G.; GONZÁLEZ-AGUILAR, O, A.; MARTÍN-BELLOSO, R; SOLIVA, F. (ed). Editora Clave Editorial, México, cap. 14, p. 385-412, 2012.

OLIVEIRA, D. S., AQUINO, P. P., RIBEIRO, S. M. R., PROENÇA, P. C., SANT'ANA, H. M. P. Vitamina C, carotenoides, fenólicos totais e atividade antioxidante de goiaba, manga e mamão procedentes da Ceasa do Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum Health Sciences** Maringá, v. 33, n. 1, p. 89-98, 2011

PARK, Y.K., IKEGAKI, M., ALENCAR, S.M., *et al.* Evaluation of Brazilian propolis by both physicochemical methods and biological activity. **Honeybee Sci**, v.21, n.2, p.85-90, 2000.

PASTANA, R. F.; VIEIRA, G. H. C; MACHADO, P. P. Uso da própolis no controle “in vitro” do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* causador da antracnose em berinjela. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 3, n. 1, p. 12–15, jan./mar., 2016.

PECH, J. C. Unravelling the mechanisms of fruit ripening and development of sensory quality through the manipulation of ethylene biosynthesis in melon. In: NATO ADVANCED RESEARCH WORKSHOP ON BIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY OF THE PLANT HORMONE ETHYLENE, 2002, Murcia. Anais... Murcia: [s.n.], 2002.

PEIXOTO, P. H. P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA R.; MOSQUIM, P. R.; MOREIRA, M. A. Aluminum effects of lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 11, n. 3, p.137-143, 1999.

PEREIRA, R. B.; LUCAS, G. C.; PERINA, F. J.; RESENDE, M. L. V.; ALVES, E. Potential of essential oils for the control of brown eye spot in coffee plants. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 115-123, jan./fev. 2011.

PFAFFENBACH, L. B.; CASTRO, J. V. DE; CARVALHO, C. R. L.; CARLOS JORGE ROSSETTO, C.J. The effect of modified atmosphere and refrigeration on post-harvest of mango red espada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p.410-413, 2003.

PIATI, A.; SCHNEIDER, C. F.; NOZAKI, M. de H. Efeito in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre o crescimento e desenvolvimento de *Penicillium* sp. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 1033-1040, 2011.

PIMENTEL, F.A.; CARDOSO, M.G.; BATISTA, L.R.; GUIMARÃES, L.G.L.; SILVA, D.M. Açãofungitóxica do óleoessencial de *Tanaeciumnocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. e K. Shum sobre o *Aspergillusflavus* isolado da castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*). **Acta Amazônica**, Belém, v. 40, n. 1, p. 213-220, 2010.

PLAZA, P.; TORRES, R.; USALL, J.; VINAS, I. Evaluation of the potencial of comercial post-harvest applications of essential oils to control citrus decay. **Journal Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v. 79, p. 935-940, 2004

PLOETZ, R.C.; ZENTMYER, G. A.; NISHIJIMA, W. T.; ROHRBACH, K. G.; OHR, H. D. **Compendium of tropical fruit diseases**. St. Paul: APS, 1994. 88p.

RANASINGHE, B.; JAYAWARDENA, K.; ABEYWICKRAMA. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomumzeylanicam* (L.) and *Syzygiumaromaticum* (L.) Merret L. M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. **Letters in Applied Microbiology**, v. 35, p. 208-211, 2002.

REGNIER, T.; COMBRINCK, S.; DU PLOOY, W.; BOTHA, B. Evaluation of Lippiascaberrima essential oil and some pure terpenoid constituents as postharvest mycobiocides for avocado fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 57, p. 176-182, 2010.

RIBEIRO, S.M.R.; DE QUEIROZ, J.H.; DE QUEIROZ, M.E.L.R.; CAMPOS, F. M.; SANT'ANA, H.M.P. Antioxidant in mango (*Mangiferaindica* L.) pulp. **Plant Foods for Human Nutrition**, v.62, n.1, p.13-17, 2007.

RIVERO, R. M.; RUIZ, J. M.; GARCÍA, P. C.; LÓPEZ-LEFEBRE, L. R.; SÁNCHEZ, E.; ROMERO, L. Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. **Plant Science**, Madison, v. 160, p. 315-321, 2001.

ROJAS-ARGUDO, C.; PEREZ-GAGO, M. B.; DEL RIO, M. A. Postharvest quality of coated cherries cv. Burlat as affected by coating composition and solids content. **Food Science and Technology International**, London, v. 11, n. 6, p. 417-424, 2005.

ROSSI, J. A. Jr.; SINGLETON, V. L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal Enol. Vitic.* v. 16, p. 144-158, 1965.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; PASTOR, C.; VARGAS, M.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZMARTÍNEZ, C.; CHÁFER, M. Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 60, p. 57-63, 2011.

SÁNCHEZ-GONZÁLES, L.; VARGAS, M.; GONZALEZ-MARTÍNEZ, C.; CHIRALT, A.; CHAFER, M. Use of essential oils in bioactive edible coatings. **Food Engineering Reviews**, New York, v. 3, p. 1-16, 2011.

SALES JUNIOR, R.; COSTA, F. M. da; MARINHO, R. E. M.; NUNES, G. H. S.; AMARO FILHO, J.; MIRANDA, V. S. Utilização de azoxistrobina no controle da antracnose da mangueira. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.2, p.193-196, 2004.

SANTOS, L.O.; DURIGAN, J.F.; MARTINS, R.N.; MORGADO, C.M.A. Conservação e qualidade de mangas 'Palmer' submetidas à tratamento com fungicidas e hidrotérmico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 6, p. 1514-1521, 2010.

SANTURIO, D. F. **Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos sobre *Escherichia coli* isoladas de suínos, aves e bovinos**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, 2011.

SCAPIN, C. R.; CARNELOSSI, P. R.; VIEIRA, R. A.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S. Fungitoxidade I de extratos vegetais sobre *Exserohilum turcicum* (Pass.) LEONARD & SUGGS. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu**, v. 12, n. 1, p. 57-61, 2010.

SCHEFFER, D. C.; TELAXKA, F. J.; MOURA, G. S.; JASKI, J. M.; FRANZENER, G. Potencial do extrato etanólico de própolis verde para controle de antracnoses. **Anais... V SEPE** (Seminário de ensino, pesquisa e extensão) e V Jornada de Iniciação Científica, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Laranjeiras do Sul-PR, v. 5, 2015.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUS, M. E. da S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Floresta**. Maringá, v. 30, n. 2, p. 129-137, 2002.

SELLAMUTHU, P. S.; SIVAKUMAR, D.; SOUNDY, P. Antifungal activity and chemical composition of thyme, peppermint and citronella oils in vapor phase against avocado and peach postharvest pathogens. **Journal of Food Safety**, Westport, v. 33, p. 86-93, 2013.

SELLAMUTHU, P. S.; SIVAKUMAR, D.; SOUNDY, P.; LISE KORSTEN. Essential oil vapours suppress the development of anthracnose and enhance defence related and antioxidant enzyme activities in avocado fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 81, p. 66-72, 2013

SERRA, I. M. R. de S.; SILVA, G. S. da. Caracterização Morfofisiológica de Isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* Agentes de Antracnose em Frutíferas no Maranhão. **Summa Phytopathologica**. v. 30, n. 4, p. 475-480. 2004.

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

SILVA, K. S. **Avaliação da agressividade de *Colletotrichum gloeosporioides* em manga, mamão, maracujá e goiaba na pós-colheita**. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Fitotecnia), Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista-Ba, 50p. 2005.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 1999. Cap.18, p.387-416.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphos photungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.16, p. 144- 158, 1965.

SIQUEIRA, D. L. de; BOTREL, N.; CARVALHO, V. D. de; RAMOS, V. H. V.; ARAUJO, F. A. Características físicas e químicas de frutos de vinte cultivares de mangueira (*Mangifera indica* L.) em Uberaba MG. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 10, n. 2, p. 49-54, 1988.

SIVAKUMAR, D.; BAUTISTA-BAÑOS, S. A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. **Crop Protection**, Guildford, v. 64, p. 27-37, 2014.

SMART, R. E. 1987. Influence of light on composition and quality of grapes. *Acta Horticulturae*, 206:37-45.

SOARES, A.R.; LOURENÇO, S.A.; AMORIM, L. Infecção de goiabas por *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento. *Tropical Plant Pathology*, Brasília, v.33, n.4, p.265-272, 2008.

SOUZA JÚNIOR, I. T.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R.; **Biotemas**, v. 22, p.77, 2009.

SOUZA, de A.; DELPHINO CARBONI R. C.; WICKERT, E.; MACEDO LEMOS, E. G. de; GOES, A. de; Lack of host specificity of *Colletotrichum* spp. Isolates associated with anthracnose symptoms on mango in Brazil. **Plant Pathology**. 2012. Doi: 10.1111/ppa.12021

TAGAMI, O. K.; GASPARIN, M. D.; SCHWAN-ESTRADA, K, R, F.; SILVA CRUZ, M. E.; ITAKO, A. T.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B.; MORAES, L. M.; STANGARLIN, J. R. Fungitoxidade de *Bidens pilosa*, *Thymus vulgaris*, *Lippia alba* e *Rosmarinus officinalis* no desenvolvimento in vitro de fungos fitopatogênicos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 285-294, 2009.

TAIZ L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918p.

TAVARES, G. M. **Controle químico e hidrotérmico da antracnose em frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) após-colheita**. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG. 2004. 55p.

TEIXEIRA, G.H. de A.; DURIGAN, J.F. Storage of 'Palmer' mangoes in low-oxygen atmospheres. **Fruits**, Paris, v. 66, p. 279-289, 2011.

TOIVONEN, P. M. A.; BRUMMELL, D. A. Review Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 48, p. 1-14, 2008.

UENOJO, M.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R.; PASTORE, G.M. 2007. Carotenoids: properties, applications and biotransformation in flavor compounds. *Química Nova*, 30 (3): 616-622

UNDERHILL, S. J. R.; CRITCHLEY, C. The physiology and anatomy of lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp during fruit development. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 67, n. 3, p. 437-444, 1992.

XING, Y.; LI X.; XU, Q.; YUN, J.; LU, Y.; TANG, Y. Effects of chitosan coating enriched with cinnamon oil on qualitative properties of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Food Chemistry*, Washington, v. 124, p. 1443-1450, 2011.

ZAMBOLIM, L. Controle integrado de doenças em pós-colheita de frutíferas tropicais. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS: Patologia Pós-colheita de Frutas e Hortaliças, 2. 2002, Lavras. **Anais...**Lavras: UFLA/FAEP, 2002. P 139-145.

WHITAKER, J. R. Enzymes. In: Food chemistry. FENNEMA O. R. (Ed.) 3a ed., New York: Marcel Dekker, Inc. 1996, p. 431-530.