



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL
CURSO DE AGRONOMIA

NEUTON MOREIRA

**CONTROLE ALTERNATIVO DE *PENICILLIUM EXPANSUM* EM PÓS-COLHEITA DE
MAÇÃS**

LARANJEIRAS DO SUL
2015

NEUTON MOREIRA

**CONTROLE ALTERNATIVO DE *PENICILLIUM EXPANSUM* EM PÓS-COLHEITA DE
MAÇÃS**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação como
requisito para obtenção de grau de Bacharel em
Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientador: Prof. Dr.º Josuel Alfredo Vilela Pinto

LARANJEIRAS DO SUL

2015

DGI/DGCI - Divisão de Gestão de Conhecimento e Inovação

Moreira, Neuton

CONTROLE ALTERNATIVO DE PENICILLIUM EXPANSUM EM
PÓS-COLHEITA DE MAÇÃS/ Neuton Moreira. -- 2015.
56 f.:il.

Orientador: Josuel Alfredo Vilela Pinto.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
agronomia , Laranjeiras do Sul, PR, 2015.

1. Malus domestica Borkh. Bolor azul. Extrato de
plantas. I. Pinto, Josuel Alfredo Vilela, orient. II.
Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

NEUTON MOREIRA

**CONTROLE ALTERNATIVO DE *PENICILLIUM EXPANSUM* EM PÓS-
COLHEITA DE MAÇÃS**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul.

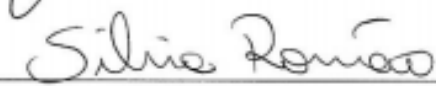
Orientador: Prof. Josuel Alfredo Vilela Pinto

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:
16/12/2015

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr.º Josuel Alfredo Vilela Pinto – UFFS



Prof. Dr.ª: Silvia Romão – UFFS



Dr.ª: Gabriela Silva Moura – UFFS

Dedico esse trabalho a Deus e a minha família.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado saúde e força para superar às dificuldades.

A minha família pelo apoio em todos os momentos da minha vida, por terem feito de tudo para que eu pudesse estudar, e nunca deixarem faltar nada, acima de tudo cuidado e amor.

Agradecer especialmente aos meus pais José e Adelaide, por sempre me ensinarem o caminho certo.

Obrigado meus irmãos e a minha namorada que nos momentos de minha ausência dedicados ao estudo superior sempre fizeram entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente!

A Universidade Federal da Fronteira Sul pela oportunidade de fazer o curso.

Ao meu orientador, pelo empenho dedicado à elaboração deste trabalho, pelas suas correções e incentivos.

À Prof^a. Gabriela Moura e ao Prof. Gilmar Franzener pela ajuda nos trabalhos práticos;

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

Entre as doenças que causam perdas no fruto da maçã, *Penicillium expansum* agente causador do bolor azul, é responsável por grandes perdas em frutos armazenados. Diversas alternativas vêm sendo estudadas e utilizadas no controle de doenças de plantas, no intuito de suprir as necessidades dos produtores e consumidores no desejo em reduzir o uso de agrotóxicos. Buscando medidas alternativas aos tratamentos convencionais, avaliou-se o efeito *in vitro* e *in vivo* de extrato bruto aquoso (EBA) de alho (*Allium sativum*), citronela (*Cymbopogon nardus* Rendl.) e eucalipto (*Corymbia citriodora*) sobre a doença. O experimento foi conduzido na Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus de Laranjeiras do Sul, Paraná, Brasil. Em placas de Petri, foi avaliado o crescimento micelial do fungo, empregando-se os extratos a concentração de 20%. Como controle, foi utilizado fungicida Rovral (com o princípio ativo Iprodione) e como testemunha foi utilizada placas contendo meio BDA sem adição de extratos. As placas com os meios foram inoculados com um disco de 5 mm contendo o isolado fúngico (*Penicillium expansum*) e mantidas em incubadora BOD a uma temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e por um período de 16 dias. Nos tratamentos *in vivo* foram testados o efeito curativo e o efeito protetor. Para o efeito curativo, frutos receberam dois ferimentos equidistantes na região equatorial com o auxílio de uma agulha padronizada de 1 mm de diâmetro e 5 mm de comprimento e inoculados logo após com uma suspensão contendo 1×10^5 esporos do fungo *Penicillium expansum*, e passadas 24 horas, imersos por 3 minutos nos respectivos tratamentos. Para o efeito protetor, frutos foram primeiramente imersos nos extratos e posteriormente inoculados. Os frutos foram mantidos a uma temperatura de $18\pm 2^{\circ}\text{C}$ e foram avaliadas a severidade e a incidência da podridão nos frutos causada por *Penicillium expansum*, através de medidas diárias do diâmetro da lesão, durante 8 dias. Em todos os experimentos, o delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições. O extrato bruto aquoso de *Corymbia citriodora*, *Allium sativum* tiveram efeito no crescimento do micélio, sendo esses valores de 57,45% e 27,48% de inibição do crescimento da colônia. Para as avaliações *in vivo* não houve resultados significativos. O uso de extratos vegetais não influenciou nos atributos de qualidade dos frutos. O efeito do extrato de plantas medicinais sobre o *Penicillium expansum* pode ser atribuído à presença de metabólitos secundários que podem representar importante alternativa no controle de doenças em fruta.

Palavras-chaves: *Malus domestica* Borkh. Bolor azul. Extrato de plantas.

ABSTRACT

Many diseases cause losses in apple fruit, *Penicillium expansum* blue mold, is responsible for very losses in stored fruit. Alternatives have been studied and used to control plant diseases in order to meet the needs of producers and consumers in the desire to reduce the use of pesticides. Seeking alternative measures to conventional treatments, we evaluated the effect *in vitro* and *in vivo* aqueous crude extract (EBA) of garlic (*Allium sativum*), citronella (*Cymbopogon Nardus* Rendl.) and eucalyptus (*Corymbia citriodora*) about the disease. The experiment was conducted at the Federal University of the South Border, Campus South Orange, Paraná, Brazil. In Petri dishes, the mycelial growth was evaluated, using the extracts concentration of 20%. As a control, we used Rovral fungicide (with the active ingredient Iprodione) and was used as a witness plates containing PDA medium without adding extracts. The plates with inoculated media with a 5 mm disc containing the fungal isolate (*Penicillium expansum*) and kept in the incubator chamber at a temperature of 25 ± 2 °C for a period of 16 days. *In vivo* treatments were tested the curative effect and the protective effect. For made dressings, fruit received two equidistant injuries in the equatorial region with the aid of a standard needle of 1 mm in diameter and 5 mm in length and inoculated immediately after with a solution containing 1×10^5 spores of the fungus *Penicillium expansum*, and after 24 hours, submerged for 3 minutes in the treatments. For the protective effect, fruits were first emerged in the extracts and then inoculated. They evaluated the severity and incidence of fruit decay caused by *Penicillium expansum* by daily measurements of the diameter of the lesion for 8 days, at a temperature of 18 ± 2 °C. In all experiments, the design was completely randomized with five replications. The crude aqueous extract of *Corymbia citriodora*, *Allium sativum* had no effect on the growth of mycelium, these values being 57.45% and 27.48% inhibition of colony growth. The use of plant extracts did not affect the fruit quality attributes. The effect of the herbal extract on *Penicillium expansum* can be attributed to the presence of its metabolites secondary components that may represent an important alternative for the alternative control of disease in fruit.

Keywords: *Malus domestica* Borkh. Blue mold. Extract plants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Crescimento micelial (mm) de <i>Penicillium expansum</i> , durante 16 dias de avaliação. Laranjeiras do Sul, PR. 2015.	36
Figura 2 - Diâmetro médio das podridões (mm), em maçãs ‘Gala’, durante 8 dias de avaliação. Laranjeiras do Sul, PR. 2015.	39
Figura 3 - Diâmetro médio das podridões (mm), em maçãs ‘Gala’, durante 8 dias de avaliação. Laranjeiras do Sul, PR. 2015.	42
Fotografia 1 - Maçã infectada por <i>Penicillium expansum</i> (bolor azul), após quatro dias em câmara úmida.	30
Fotografia 2 - Extratos adicionados ao meio BDA.	32
Fotografia 3 - Experimento montado sobre a bancada. Laranjeiras do Sul, PR. 2015.	33
Fotografia 4 - A: BDA; B: Iprodione; C: Extrato de alho; D: Extrato de citronela; E: Extrato de eucalipto.	37
Fotografia 5 - A: Índice de Iodo-amido, B: Sólidos Solúveis Totais e C: Acidez Titulável. Laranjeiras do sul, PR.	45
Tabela 1- Incidência de <i>Penicillium expansum</i> em maçã ‘Gala’. Laranjeiras do Sul, PR. 2015.....	40
Tabela 2 - Incidência de <i>Penicillium expansum</i> em maçã ‘Gala’. Laranjeiras do Sul, PR. 2015.....	44

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	TEMA	14
2.1	PROBLEMA DE PESQUISA.....	14
2.2	HIPÓTESE.....	14
3	OBJETIVOS	15
3.1	OBJETIVO GERAL.....	15
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
4	JUSTIFICATIVA	16
5	REFERENCIAL TEÓRICO	18
5.1	EXTRATOS VEGETAIS COM POTENCIAL FUNGICIDA.....	18
5.2	METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	18
5.3	ALHO (<i>ALLIUM SATIVUM</i>).....	19
5.4	CITRONELA (<i>CYMBOPOGON NARDUS</i> RENDL.)	20
5.5	EUCALIPTO (<i>CORYMBIA CITRIODORA</i>)	21
5.6	ORIGEM, DISSEMINAÇÃO E CARACTERÍSTICAS GERAIS DA MACIEIRA	21
5.7	PRODUÇÃO DE MAÇÃ.....	22
5.8	FORMAS DE ARMAZENAMENTO.....	24
5.9	ATMOSFERA REFRIGERADA	24
5.10	ATMOSFERA CONTROLADA (AC).....	25
5.11	TIPOS DE ATMOSFERA CONTROLADA	26
5.12	PRINCIPAIS PODRIDÕES.....	26
5.13	PODRIDÕES POR <i>PENICILLIUM</i> SPP	27
5.14	PATULINA	28
6	MATERIAIS E MÉTODOS	30
6.1	LOCAL DO ENSAIO.....	30
6.2	AQUISIÇÃO DAS MAÇÃS	30
6.3	OBTENÇÃO DO INÓCULO	30
6.4	OBTENÇÃO DOS EXTRATOS VEGETAIS	31
6.5	TRATAMENTO <i>IN VITRO</i>	31
6.6	TRATAMENTO <i>IN VIVO</i>	32
6.7	PARÂMETROS AVALIADOS	33
6.8	TESTE DE QUALIDADE DOS FRUTOS	33
6.9	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E PROCEDIMENTO ESTATÍSTICO.....	34

7	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
7.1	CRESCIMENTO MICELIAL DO <i>PENICILLIUM EXPANSUM</i>	34
7.2	EFEITO PROTETOR.....	37
7.3	EFEITO CURATIVO	40
7.4	AVALIAÇÕES QUÍMICAS	44
8	CONCLUSÃO	46
8.1	TRATAMENTOS <i>IN VITRO</i>	46
8.2	TRATAMENTOS <i>IN VIVO</i>	46
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

1 INTRODUÇÃO

A produção de maçã no Brasil apresenta características altamente relevantes para a economia nacional, principalmente no que tange à geração de renda e de emprego e, conseqüentemente, ao desenvolvimento econômico, sobretudo no meio rural. Cabem destacar que a pomicultura cria 150 vezes mais empregos, em uma mesma área, do que as culturas de grãos, tratando-se, portanto, de um segmento da agricultura capaz de multiplicar dinamismo na economia da região Sul do Brasil, constituindo-se em um setor atraente como objeto de política pública voltada para a promoção do desenvolvimento local sustentável (ABPM, 2015).

A fase de pós-colheita é extremamente importante para maçã, pois sendo um produto perecível, é nesta fase que ocorrem importantes perdas de qualidade das frutas. Os tipos e a dimensão das perdas na pós-colheita de maçãs não são totalmente conhecidos, porém estima-se que sejam superiores a 20%, dependendo do ano e da variedade, sendo os distúrbios fisiológicos e as podridões as responsáveis por grande parte destas perdas (MARTINS et al. 2007).

Penicillium expansum é agente causal do bolor azul, um importante fator de perda de qualidade da fruta. Como medida de controle para o fungo são recomendados diferentes produtos à base de cloro ou mesmo fungicidas registrados à base de iprodione ou do grupo dos benzimidazóis. Os tratamentos feitos com cloro, mesmo sendo eficazes, causam danos indiretos ao maquinário, além da poluição ao meio ambiente. A utilização descontrolada de fungicidas tem selecionado patógenos resistentes aos princípios ativos utilizados, diminuindo sua eficiência. Somado a isso, a pressão da sociedade por produtos mais saudáveis, resultantes de tecnologias de baixo impacto ambiental, leva à necessidade de se buscar medidas alternativas ao controle de fitopatógenos (DI PIERO; ROCHA NETO; 2012).

Há uma crescente consciência mundial a respeito da importância da qualidade de vida, expressa na preocupação com a preservação, uso adequado dos recursos naturais e com a qualidade dos alimentos e, especialmente, da fruta. Os reflexos desta tomada de consciência são percebidos em todas as regiões através do redimensionamento dos sistemas produtivos incluindo os componentes ambientais e de qualidade de vida (alimentação saudável, etc.) através de uma mudança conceitual relativamente à ocupação do espaço rural e à escolha da tecnologia (VALDEBENITO-SANHUEZA, 2003).

Na perspectiva de reduzir as podridões pós-colheita, várias tecnologias têm sido adotadas além do controle químico, como por exemplo, o controle biológico (antagonistas), o controle

físico (refrigeração, tratamento térmico, radiação UV, atmosfera controlada e modificada) e a indução de resistência (elicitores bióticos e abióticos). A eficácia dessas medidas de controle pode variar conforme a espécie ou cultivar, a maturação fisiológica e as características bioquímicas do tecido da fruta (LINS, 2011).

Alternativas visando à redução do uso de fungicidas vêm sendo pesquisadas com resultados promissores no controle de vários fitopatógenos. Enfoque particular vem sendo dado ao controle biológico e ao uso de extratos de planta, de produtos alimentares, de aditivos de alimentos, de resíduos da produção de alimentos e de conservadores de alimentos no controle de doenças de plantas de forma geral (SHOLBERG; GAUNCE, 1995).

Trabalhos desenvolvidos com extrato bruto aquoso (obtido por maceração, infusão ou decocção) ou alcoólico (tintura ou maceração) e óleo essencial (e seu hidrolato), obtido a partir de plantas medicinais da flora nativa, têm indicado o potencial das mesmas no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de conídios, quanto pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de composto(s) com característica de elicitor (es) (SCHWAN-ESTRADA, 2009).

Diante do exposto, objetivou-se avaliar *in vitro* e *in vivo*, o potencial de extratos de alho (*Allium sativum*), capim citronela (*Cymbopogon nardus* Rendl.) e eucalipto (*Corymbia citriodora*) para o controle alternativo de podridão causada por *Penicillium expansum* em maçã, visto que a cultura tem um importante potencial de crescimento para a região, e problemas como a incidência dessas doenças podem surgir, sendo o controle alternativo um importante e relevante meio para frear impactos negativos, e assim, contribuindo para a melhoria da pós-colheita, a redução do perigo com intoxicação dos agricultores e a presença de resíduos químicos nos frutos.

2 TEMA

2.1 PROBLEMA DE PESQUISA

O ataque de *P. expansum* causa podridões em maçãs, ocasionando perdas dos frutos. Os fungicidas utilizados para o combate ao fungo tem custo elevado ao produtor, além da possibilidade da presença de resíduos nos frutos. Existe uma necessidade crescente de alternativas para o controle da podridão.

2.2 HIPÓTESE

O uso de extratos vegetais (*Allium sativum*, *Cymbopogon nardus*, *Corymbia citriodora*), na concentração (20%), são capazes de controlar *P. expansum*, agente causador do mofo azul em maçã.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Identificar a eficiência de extratos vegetais no controle de *Penicillium expansum* na pós-colheita de maçãs.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Avaliar o potencial de extratos de alho, citronela e eucalipto no controle do mofo azul da maçã;
- 2) Avaliar o efeito antimicrobiano de extratos sobre *P. expansum*;
- 3) Identificar extratos com potencial para controle de *Penicillium expansum* em maçã;

4 JUSTIFICATIVA

A cultura da maçã é uma grande oportunidade de renda para a agricultura familiar e tem grande potencial regional de diversificação agrícola pela produção de frutas, que permite melhorar a qualidade de vida da população (PARANÁ, 2006).

A incidência de podridões de *Penicillium* spp em maçãs durante o armazenamento causa perdas qualitativas e quantitativas, além de reduzir o tempo de armazenamento. A contaminação dos frutos pode ocorrer ainda no campo ou durante o manejo pós-colheita. Uma forma de reduzir as perdas decorrentes da ação dos fungos em pós-colheita é a aplicação de fungicidas. Entretanto, em função da possibilidade da presença de resíduos nos frutos, formas alternativas de controle tem sido alvo de pesquisa (BRACKMANN et al. 2005).

Blum et al. (2004), destacam que o controle pós-colheita de doenças em maçãs geralmente é feito com a imersão de frutos em soluções fungicidas. Entretanto, alertam que a redução no uso de fungicidas é uma preocupação mundial.

Segundo Martins et al. (2007), a busca por sistemas de produção com maior eficiência econômica e que desempenhem seu papel social, comprometido com a qualidade ambiental, diminuindo os riscos à saúde do consumidor e do agricultor, que por fim, priorizem a sustentabilidade do agroecossistema, vem se expandido a cada dia.

A utilização de extratos naturais de plantas como pré-tratamentos para o controle de doenças pós-colheita está baseada na premissa de que estes representam mistura de varias substâncias solúveis capazes de elicitar respostas de defesa em plantas ou agir diretamente sobre o fitopatógeno (NURNBERGER; BRUNNER, 2002). Os compostos fenólicos sintetizados nas plantas são substâncias que contêm hidroxilas e anéis aromáticos em sua estrutura, em formas simples ou de polímeros. Apresentam propriedades antioxidantes e de proteção às plantas contra infecções causadas por bactérias ou fungos (SHETTY et al., 2008).

Compostos de origem vegetal podem se constituir em importantes agentes de controle, pela fácil obtenção e utilização, pelo baixo custo e por minimizarem os problemas apresentados pelos produtos químicos sintéticos (ARROTEIA; KEMMELMEIER; MACHINSKI JR., 2007).

Segundo Schwan-Estrada (2002 apud DI PIERO; ROCHA NETO, 2012) as plantas produzem uma grande quantidade de metabólitos secundários, sendo encontrado em vários deles o grupamento fenol, caracterizando os compostos fenólicos. Extratos obtidos de plantas, contendo estas substâncias, têm demonstrado eficiência no controle de fitopatógenos. Estes

compostos possuem tanto ação direta sobre microrganismos, inibindo o crescimento e desenvolvimento dos mesmos, como indireta, ativando mecanismos de defesa vegetal.

A exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto de plantas também pode se constituir em mais uma forma potencial de controle alternativo de doenças em plantas cultivadas. Grupos de pesquisa de todo o mundo buscam definir o papel de cada substância participante dos processos bioquímicos de defesa das plantas (LINS, 2011). É o que tem feito, por exemplo, os Grupos de Pesquisa “Controle Alternativo de doenças de plantas” (UEM - Maringá, PR) e “Controles Biológico e Alternativo em Fitossanidade” (UNIOESTE - Marechal Candido Rondon, PR). Dentre as plantas medicinais estudadas por esses grupos estão a arruda (*Ruta graveolens*); alho (*Allium sativum*); alecrim (*Rosmarinus officinalis*); carqueja (*Baccharis trimera*); capim-limão (*Cymbopogon citratus*); cúrcuma (*Curcuma longa*); eucalipto (*Corymbia citriodora*); erva cidreira brasileira (*Lippia alba*); gengibre (*Zingiber officinalis*); losna (*Artemisia absinthium*); mil-folhas (*Achillea millefolium*); palmarosa (*Cymbopogon martinii*); rubim (*Leonurus sibiricus*), entre outras (SCHWAN-ESTRADA, 2009).

Segundo Schwan-Estrada (2009), estas plantas têm sido utilizadas para estudos de inibição de crescimento micelial, esporulação e germinação de conídios de fungos fitopatogênicos *in vitro* (*Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*; *Alternaria alternata*, *A. solani*; *Colletotrichum gloeosporioides*; entre outros); em bioensaios para a indução de fitoalexinas em sorgo (deoxiantocianidinas) e soja (gliceolina); na indução de resistência em pepino a *Colletotrichum lagenarium* e *Corynespora cassiicola*; tomate com *Alternaria solani* e *Oidium lycopersici*, bem como no tratamento de sementes de trigo para controle de *Bipolaris sorokiniana* e tratamento pós-colheita de laranja, mamão, morango, banana, maçã, goiaba, maracujá, pimentão e tomate.

5 REFERENCIAL TEÓRICO

5.1 EXTRATOS VEGETAIS COM POTENCIAL FUNGICIDA

No que se refere ao controle de fungos fitopatogênicos, produtos à base de plantas são também empregados há séculos junto à área de proteção de plantas. Entretanto, as pesquisas envolvendo a procura de fungicidas obtidos de plantas só vêm aumentando nos últimos 20 anos. Tem-se constatado, na literatura, pesquisas *in vitro* demonstrando que diversos patógenos podem ser controlados com eficiência, por meio de extratos vegetais, como o controle de *Fusarium proliferatum* por extratos de alho e capim santo (SOUZA et al., 2007), *Colletotricum gloeosporioides*, por extratos de melão-de-são-caetano e eucalipto (CELOTO et al., 2008) e *Bipolaris sorokiniana*, por extrato de cânfora (FRANZENER et al., 2003).

As plantas medicinais possuem compostos secundários podendo apresentar atividade direta, por meio de extratos brutos e óleos essenciais, sobre fitopatógenos como bactérias, nematoides e fungos (SILVA et al., 2008), ou indireta, que ativam os mecanismos de defesa das plantas contra os patógenos (SCHWAN-ESTRADA, 2008)

O fracionamento dos metabólitos secundários dessas plantas, bem como a determinação da atividade biológica dessas moléculas com respeito à atividade elicitora ou antimicrobiana, poderá contribuir para a aquisição de maiores conhecimentos que reforcem sua possível utilização como um método alternativo de controle de doenças de plantas (VENTUROSIO 2009 apud SANTOS et al., 2013).

5.2 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

As plantas produzem uma grande e diversa variedade de componentes orgânicos, que são divididos em dois grupos, metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são compostos por uma série de processos envolvidos na manutenção fundamental da sobrevivência e do desenvolvimento das plantas, como armazenamento de energia, enquanto o metabolismo secundário possui importante função para a sobrevivência e competição no ambiente. Os metabólitos secundários das plantas são compostos químicos não necessários para a sobrevivência imediata da célula, servindo como uma vantagem evolucionária para a sua sobrevivência e reprodução (VIZZOTTO et al., 2010), podendo atuar também como pesticidas naturais de defesa contra herbívoros ou microrganismos patogênicos (JAMAL et al., 2008).

Os metabólitos secundários possuem importantes funções ecológicas nas plantas, como proteção contra patógenos e herbívoros, além de acúmulo em órgãos específicos ou em

certas fases do desenvolvimento, representando menos de 1% do total da massa seca da planta. Alguns compostos são abundantes em várias espécies de plantas, tais como os compostos fenólicos. Entretanto, os alcalóides são produzidos por algumas famílias ou por determinadas espécies. Aproximadamente 100.000 metabólitos já são conhecidos e cerca de 4.000 são novos, sendo descobertos a cada ano. Existe uma ampla quantidade de tipos de metabólitos secundários em plantas, podendo ser classificados segundo a presença ou não de nitrogênio na sua composição. Os três grupos de metabólitos secundários mais importantes nas plantas são os terpenos (formados através da justaposição de modo sucessivo de isopentenilpirofosfato, dando origem a todos os terpenos, como monoterpenos, diterpenos, triterpenos e tetraterpenos), compostos fenólicos (derivados dos carboidratos, são substâncias que possuem ao menos um anel aromático e nele pelo menos um hidrogênio que é substituído por um grupamento hidroxila) e os alcalóides (derivados dos aminoácidos, principais constituintes das proteínas, são compostos orgânicos com ao menos um átomo de nitrogênio em seu anel) (VIZZOTTO et al., 2010).

5.3 ALHO (*ALLIUM SATIVUM*)

O alho (*Allium sativum* L.) é uma hortaliça amplamente consumida em todo o mundo, cujas propriedades benéficas são reconhecidas há mais de 5000 anos (AMAGASE et al., 2001). Botanicamente, é classificado na família das liliáceas, que possui mais de 700 espécies, incluindo cebola, alho poró e cebolinha (HOLUB et al., 2002).

Esta erva bulbosa, é pequena perene e com odor forte e característico de alimentos ricos em compostos sulfurados. Suas folhas são lineares e longas e suas flores são brancas ou avermelhadas. O alho-da-terra, a cebolinha-de-cheiro e o alho-poró são espécies deste mesmo gênero liliáceo. A maior concentração de fitoquímicos terapêuticos encontra-se nos bulbos, popularmente conhecidos como dentes de alho (MARCHIORI, 2005). Cada bulbilho é capaz de originar uma nova planta após a brotação. Há túnicas envolvendo o bulbo e uma película cobrindo os bulbilhos (FILGUEIRA, 2003). Seu cultivo é adaptado às regiões mais frias com período de dormência de dois meses. O tipo e a concentração dos compostos extraídos do alho dependem do seu estágio de maturação, práticas de cultivo. Quanto mais fria é a temperatura maior é a concentração de fitoquímicos, pois a sua concentração depende do quanto a planta responde às agressões ambientais (MARCHIORI, 2005).

O alho contém 33 compostos organossulfurados (COS), sendo que 1g de alho fresco contém de 11 a 35mg dessas substâncias; possui ainda quase quatro vezes mais COS (por grama de peso fresco) do que a cebola, brócolis, couve-flor e damasco (HOLUB et al., 2002).

Dentre os compostos com elevado valor funcionais nos bulbos, destaca-se a alicina (Dialil Tiosulfonato), um líquido volátil responsável pelo odor pungente do alho. Quimicamente, a alicina é uma molécula instável e altamente reativa. É o composto bioativo mais comum e representa cerca de 70% dos compostos sulfurados presentes nessa hortaliça (MIRON et al., 2004).

Há uma grande variabilidade no conteúdo de alicina e de outros COS no alho. Tal conteúdo é dependente da cultivar, da composição do solo, condições climáticas, época de colheita e manuseio pós-colheita. Com relação à época de colheita e manuseio pós-colheita, a quantidade de aliina e γ - glutamilcisteínas presentes em bulbos de alho aumentam nas quatro semanas que antecedem a época da colheita. Durante o processo de cura (plantas secas a sombra ou ao sol por até duas semanas), essas substâncias aumentam em aproximadamente 25%. Um atraso de duas semanas na colheita aumenta o conteúdo desses compostos, correspondendo a um adicional de 20% da massa, em base seca (HOLUB et al., 2002).

5.4 CITRONELA (*CYMBOPOGON NARDUS* RENDL.)

O gênero *Cymbopogon* (Poaceae) possui mais de 100 espécies nos países tropicais, inclusive no Brasil (LORENZI & MATOS, 2002), dentre as quais, aproximadamente 56 são aromáticas. A algumas delas deve-se dar atenção especial pelo seu grande uso na medicina popular e pelo teor de óleo essencial com as mais diferentes finalidades como o uso terapêutico, cosmético e/ou perfumaria.

O capim-citronela (*Cymbopogon nardus* L.) é uma planta originada do Ceilão e da Índia, utilizada na Indonésia, como chá calmante e digestivo (CRAVEIRO et al., 1981).

A espécie *Cymbopogon nardus* L. Rendle é uma erva perene, cespitosa de 0,80-1,20 m de altura. Os colmos são eretos, lisos, semi-lenhosos, maciços, de cor verde-clara e internós longos sobre um rizoma curto amarelo-escuro, com inúmeras raízes fibrosas e longas. A planta *C. nardus* possui hábito de crescimento ereto, sendo as folhas longas de 0,5 – 1 m de comprimento e mais largas que as do capim-limão (*Cymbopogon citratus*), com margens ásperas, ápice agudo, face superior verde-escuro e inferior verde-oliva, podendo ser facilmente reconhecida pelo forte e agradável aroma de eucalipto. A inflorescência é em panícula, formada por racemos curtos e geminados, floresce na primavera e produz sementes atrofiadas. É facilmente propagada por perfilhos para formação de novos plantios. Permite até quatro cortes por ano nos plantios com finalidades industriais de extração de óleo essencial das folhas CASTRO et al. , 2003).

O capim-citronela (*C. nardus*) possui na sua composição óleo essencial com alto teor de geraniol e citronelal. O geraniol possui atividade anti-séptica, inibindo o crescimento de fungos e bactérias (MANN, 1995). O citronelal é utilizado como material básico para a síntese de importantes compostos químicos denominados iononas e para a síntese de vitamina A (CRAVEIRO et al., 1981).

5.5 EUCALIPTO (*CORYMBIA CITRIODORA*)

Eucalyptus é um importante gênero pertencente à família Myrtaceae, composto por aproximadamente 600 a 700 espécies, sendo a maioria nativa do continente australiano e de algumas ilhas ao norte, tendo sido introduzidas espécies em mais de 90 países desde 1850. Devido ao grande número de espécies, este gênero foi dividido em subgêneros, sendo os principais: *Corymbia* (30 espécies); *Monocalyptus* (80 espécies) e *Symphomyrtus* (250 espécies) (AMEN-CHEN et al., 1997; FABROWSKI, 2002; MONTAGU et al., 2003).

A planta medicinal eucalipto (*Corymbia citriodora* Hooker M.) destaca tanto por seu valor econômico como do ponto de vista de suas virtudes medicinais. Este gênero apresenta as seguintes propriedades terapêuticas: antifúngica, antisséptica, adstringente, antiinflamatória, antibacteriana, cicatrizante e desinfetante (ESTANISLAU et al., 2001). Possui na sua composição química compostos secundários como o citronelol (aproximadamente 85%), geraniol, isopulegol, pineno, cineol, guaiol, estragol, elemento, nopineno, canfeno, mirceno e cimeno (COSTA, 1986). O entendimento das propriedades antimicrobianas e/ ou elicitoras dos compostos secundários presentes nessa planta medicinal podem contribuir para a aquisição de novas técnicas de controle de doenças de plantas. Além desses efeitos verifica que *Eucalyptus citriodora* pode ser usado como forma alternativa para controle de fitopatógenos (BONALDO et al., 2004).

Os óleos extraídos das folhas de eucalipto possuem uma grande mistura de componentes, destacando-se hidrocarbonetos, alcoóis, aldeídos, cetonas, ácidos e ésteres. Ocorrem principalmente nas folhas, produzindo-se nas glândulas. A origem biossintética dos óleos essenciais de eucalipto se relaciona com seu metabolismo secundário, conferindo à planta a capacidade de se adaptar no meio em que vive, além de sua defesa contra insetos, resistência da planta ao frio, redução na perda de água. (VITTI; BRITO 2003).

5.6 ORIGEM, DISSEMINAÇÃO E CARACTERÍSTICAS GERAIS DA MACIEIRA

A macieira pertence à família das Rosaceae, subfamília Maloidae (Pomoidae), gênero *Malus*. A macieira cultivada comercialmente recebeu vários nomes científicos ao longo do tempo e a partir de 1803, foi denominada de *Malus domestica* Borkhausen. Há muitas

espécies de macieira, das quais algumas são utilizadas comercialmente como produtoras de frutas, outras como porta enxertos, como ornamentais em paisagismo e na pesquisa científica, e outras como fonte de germoplasma para melhoramento genético (HOFFMAN, BERNADI, 2015). O centro de origem está na região do Cáucaso, cadeia de montanhas da Ásia e o leste da China. Presume-se que o desenvolvimento das espécies atuais tenha iniciado há 20.000 anos. (LEITE; PETRI, 2008).

A macieira é uma planta perene de folhas caducas que entra em estado de paralisação aparente, no inverno, chamado de dormência. Para sair da dormência e iniciar a brotação na primavera, as plantas precisam, no inverno, de certa quantidade de horas de frio abaixo de 7,2 °C. Essa necessidade de frio varia de acordo com a cultivar, havendo hoje, devido ao melhoramento genético, uma gama de cultivares com necessidades entre 200 e 1.000 horas de frio. Quando plantada em regiões onde o frio é insuficiente para promover uma boa brotação, o uso de produtos químicos específicos para a indução da brotação se faz necessário (LEITE; PETRI, 2008).

O porte da macieira pode chegar a 10 metros de altura, e tem tronco de casca parda, lisa e copa arredondada. As flores podem ser brancas ou róseas e são aromáticas. O fruto apresenta forma globosa ou deprimida com uma profunda depressão no ponto de inserção da haste que o prende aos ramos. A coloração é vermelha ou verde podendo apresentar pequenas manchas esverdeadas ou amareladas (TODA FRUTA, 2009).

A colheita geralmente ocorre entre os meses de fevereiro a abril, no entanto algumas cultivares precoces atinge o período de maturação próximo ao mês de dezembro. Os frutos da macieira podem ser distinguidos e agrupados por suas variações de sabor, tamanho, forma, aparência, consistência da polpa e casca, e por suas distintas utilidades. Basicamente as maçãs podem ser de três tipos: de mesa, de cozinhar ou próprias à fabricação da sidra ou do vinagre. Apesar das inúmeras variedades de maçã existentes, uma mesma árvore pode fornecer frutos com diferentes aproveitamentos, de acordo com a sua classificação. (TODA FRUTA, 2009).

5.7 PRODUÇÃO DE MAÇÃ

Embora a cultura da macieira em escala comercial tenha iniciado na década de 1970, são inúmeras as referências sobre a introdução de cultivares, iniciativas de plantio ou fomentos anteriores a esse período. (PETRI, 2011).

No Brasil, o início da cultura da macieira ocorreu, provavelmente, no município de Valinhos-SP, em 1926, e o início de pesquisas com macieira, em 1928, com a introdução de

72 cultivares na Estação Experimental de São Roque, do Instituto Agrônomo de Campinas (LEITE; PETRI, 2008).

A criação do Projeto de Fruticultura de Clima Temperado – PROFIT, pelo Estado de Santa Catarina, através da Lei nº 4.263, de 1968, com o objetivo de desenvolver e fomentar o plantio de macieira no Estado e a Lei Federal nº 5.106, conhecida como Lei dos Incentivos Fiscais, que permitia abater 50% do imposto de renda devido no exercício, para aplicação em reflorestamento, podendo ser feita com a cultura da macieira, deram o grande impulso inicial ao desenvolvimento comercial da cultura da macieira em Santa Catarina e no Brasil. No início da década de 70, a produção anual de maçãs era de cerca de 1.000 toneladas. Pelos números da ABPM, foram colhidas 1,156 milhão de toneladas (REETZ et al., 2014).

Com incentivos fiscais e apoio à pesquisa e extensão rural, o Sul do Brasil aumentou a produção de maçãs em quantidade e em qualidade, fazendo com que o país passasse de importador a autossuficiente e com potencial de exportação. A produção de maçãs no Brasil nas últimas três décadas teve um impressionante aumento de mais de 6.000%. De importador o País passou não apenas a abastecer todo o mercado interno, como também a exportar 15% de sua colheita. O investimento em pesquisas teve papel fundamental nesse resultado. (VALDEBENITO-SANHUEZA, 2003).

O agronegócio da maçã localiza-se no Sul do Brasil, envolvendo seus três estados, notadamente nas regiões mais frias dos mesmos, destacando-se a região de Vacaria, no Rio Grande do Sul, São Joaquim e Fraiburgo, no Estado de Santa Catarina, e de Palmas, no Estado do Paraná. A cultura da macieira está expandindo-se para outras regiões, inclusive para regiões não tradicionais ao cultivo de frutas de clima temperado (PETRI, 2011).

O jornal Good Fruit Grower, de janeiro de 2008, publicou o Ranking dos 28 principais países produtores de maçã, em termos de competitividade internacional, levando em consideração a eficiência produtiva, infraestrutura, recursos financeiros e mercado. Na eficiência produtiva, são levadas em consideração a percentagem de novas cultivares, a densidade de plantio e a produtividade. Na infraestrutura, consideram-se a capacidade de armazenagem e *packing house*, a eficiência na distribuição e os sistemas de marketing, entre outros. Nos recursos financeiros e condições de mercado, são levados em conta as taxas de juros, a inflação, a disponibilidade de capital, o controle de qualidade, a exportação, a média do preço de exportação e a média de distância ao mercado. Neste ranking, o Brasil está em 14º lugar no geral. Quanto à eficiência produtiva e infraestrutura, relacionadas às tecnologias utilizadas, o Brasil está na 7ª posição, o que demonstra a evolução em termos de inovações tecnológicas introduzidas na cultura da macieira. (PETRI, 2011).

A produção brasileira ocupa 38 mil hectares, 96% desses pomares estão em Santa Catarina (18 mil ha) e Rio Grande do Sul (17 mil ha). O aumento da produtividade dos pomares de maçã é o principal responsável pelo incremento da produção desde 2001. Enquanto a área plantada aumentou 29%, a produtividade cresceu 50%. (ABPM, 2013).

O consumo da fruta no Brasil ainda é muito baixo, considerando-se a dimensão populacional do país. Apesar do significativo aumento do consumo per capita de pouco mais de 4 kg/hab/ano, no início dos anos 1990, para 6,61 kg/hab/ano, em 2000 e de 5,78 kg/habitante/ano em 2012, este indicador continua muito baixo comparado ao consumo de nossos vizinhos Argentina (13,4kg/hab./ano), Chile (9,9 kg/hab./ano) e baixíssimo a países como Áustria (32,8 kg/hab/ano), Turquia (71,7 kg/hab/ano) e Bélgica (28,7 kg/hab./ano) (MAPA, 2013). Ressalta-se que o consumo per capita brasileiro de maçã é o mais baixo entre os principais países produtores (BITENCOUTT, 2011).

5.8 FORMAS DE ARMAZENAMENTO

O armazenamento tem como objetivo reduzir as perdas qualitativas e quantitativas, além prolongar o período de comercialização dos frutos, favorecendo o planejamento sobre o melhor momento de ofertá-lo. O armazenamento permite que a empresa atenda ao mercado durante a entressafra e faça um escalonamento de sua oferta ao longo do ano, de forma a vender a preços mais elevados. A maior exigência na qualidade, e a concentrada produção de maçã em um curto período do ano, fazem necessário o uso do armazenamento para fornecer ao mercado consumidor um produto de qualidade por um maior período de tempo (FERNADES, 2011).

No Brasil, os métodos predominantes na conservação de maçãs são o armazenamento refrigerado, também chamado de frigoconservação, e o armazenamento em atmosfera controlada. Segundo a ABPM, 56% do volume de maçãs armazenado é em atmosfera controlada e o restante (44%) em armazenamento refrigerado. Dependendo da cultivar, técnicas complementares são utilizadas, tais como pré-resfriamento dos frutos após a colheita, rápida instalação da atmosfera, remoção do etileno, entre outros, cuja finalidade é melhorar ainda mais a conservação das qualidades físico-químicas do produto (BRACKMANN, 2002).

5.9 ATMOSFERA REFRIGERADA

O armazenamento refrigerado (AR) consiste apenas na redução da temperatura e controle da umidade relativa. A grande vantagem deste método é ser mais econômico. A temperatura é o principal fator responsável pela redução dos processos metabólicos nos frutos. A velocidade com que ocorrem os processos metabólicos na fase pós-colheita depende

principalmente da temperatura. A diminuição da temperatura em 10°C reduz o metabolismo dos frutos em 2 a 3 vezes. (BRACKMANN; STEFENS, 2002).

Os frutos armazenados em câmaras refrigerada em atmosfera do ar são utilizados por um curto espaço de tempo, devido ao menor tempo de permanência neste tipo de armazenagem que garanta a melhor conservação da qualidade. Isto porque como é uma câmara de movimentação, a taxa de metabolismo dos frutos se mantém alta. Portanto, para estas câmaras são destinados lotes de frutos para a exportação (pois serão logo comercializados); lotes com qualidade inferior; descarte das máquinas; outras variedades (volumes menores); fruto pré-classificado; e fruto embalado (FERNADES, 2011).

5.10 ATMOSFERA CONTROLADA (AC)

O armazenamento em atmosfera controlada (AC) baseia-se no princípio da modificação da concentração de gases na atmosfera natural, ou seja, a concentração de CO₂ é aumentada e a de O₂ é reduzida. O armazenamento em AC foi usado comercialmente pela primeira vez na Inglaterra, em 1929. No Brasil, a primeira câmara de atmosfera controlada foi instalada somente em 1982, em Fraiburgo – SC, para o armazenamento de maçãs (BRACKMANN; STEFENS, 2002).

As exigências de AC são específicas para cada cultivar. A armazenagem sob condições de baixo O₂ e alto CO₂ retarda a produção autocatalítica de etileno e reduz a sua taxa de produção. Assim, reduz a deterioração da cor, bem como a firmeza de polpa, o sabor e o valor nutricional (ARGENTA, 2002).

O armazenamento em atmosfera controlada prolonga em 50% a 70% o período de conservação de maçãs e mantém uma superior qualidade das frutas por meio de retardamento do amadurecimento, redução de ocorrência de podridões e distúrbios fisiológicos, diminuição da perda de peso e murchamento de frutas, aumento da vida de prateleira das frutas, viabilização de uma colheita num estado mais avançado de maturação, quando as frutas apresentam melhor qualidade. Já entre as desvantagens do armazenamento em AC, podem ser considerados os investimentos mais elevados na instalação da câmara; a possibilidade de ocorrência de distúrbios fisiológicos consequentes de danos pelo baixo O₂ e alto CO₂; a limitação da abertura das câmaras para remoção de lotes de frutas; dificuldade de consorciação de cultivares de maçãs numa mesma câmara, em virtude de diferentes exigências da composição da atmosfera; a maior necessidade de mão-de-obra qualificada para o acompanhamento diário das câmaras e os longos períodos de armazenamento pode diminuir a capacidade de produção de aroma (BRACKMANN, 2002).

5.11 TIPOS DE ATMOSFERA CONTROLADA

A atmosfera controlada pode ser classificada quanto aos regimes, que dizem respeito às concentrações de gases e à forma de instalação da atmosfera, em:

- Atmosfera controlada convencional – armazenamento com uma concentração de O₂ entre 2% a 3% e CO₂ de 1% a 3%. Essa condição ainda hoje é bastante utilizada em algumas cultivares de maçãs exploradas na Europa.

- Baixo oxigênio (LO – Low oxygen) – condição com uma concentração de O₂ em torno de 1,5%. O conceito varia conforme diferentes autores.

- Ultra-baixo oxigênio (ULO – Ultra low oxygen) – condição com uma concentração de O₂ em torno de 1%. O ultrabaixo oxigênio mantém a firmeza de polpa, os níveis de sólidos solúveis totais e acidez e reduz a escaldadura e a degenerescência interna, podendo reduzir a sensibilidade ao CO₂. Necessita, porém, boa estanqueidade da câmara, controle automático da concentração de gases, “pulmão” na câmara, um adequado empilhamento da câmara e um $\square T$ baixo.

- Hiper low oxygen – usado para concentrações abaixo de 1% de O₂.

- Baixo oxigênio inicial (ILO – Initial low oxygen) – condição em que a maçã fica exposta a concentrações de oxigênio abaixo de 1% por um período de 1 a 4 semanas, ou pouco mais. Não se tem notícias de sua aplicação na prática do armazenamento de maçãs.

- Atmosfera controlada rápida (RCA – Rapid CA) – compreende uma rápida instalação da atmosfera controlada na câmara. Tem excelentes resultados na maçã ‘Gala’. Esse método prescreve a instalação da atmosfera no máximo após 3 a 4 dias do início do carregamento da câmara.

- Alto CO₂ inicial (High CO₂) – também conhecido como choque de CO₂, é uma técnica bastante estudada no Canadá, onde apresentou bons resultados na conservação da maçã ‘Golden Delicious’. Segundo esses trabalhos, um tratamento com concentrações de 10% a 20% de CO₂ durante os 10 a 20 dias iniciais apresenta resultados positivos na inibição da síntese de etileno, na manutenção da firmeza, na acidez e na redução de podridões. Trabalhos feitos com maçã brasileira não comprovaram vantagens da utilização do choque inicial com CO₂. Além disso, a técnica praticamente não é usada em nenhum país (BRACKMANN, 2002).

5.12 PRINCIPAIS PODRIDÕES

A cultura da macieira (*Malus domestica*) é uma atividade econômica muito importante em alguns estados do Brasil, sobretudo em Santa Catarina e Paraná. Perdas substanciais da

produção de maçãs resultam de doenças que afetam os frutos após a colheita. As principais doenças são do tipo podridão, causadas pelos patógenos *Botryosphaeria dothidea* (podridão branca), *Glomerella cingulata* (podridão amarga), *Penicillium expansum* (bolor azul) e *Pezizula malicorticis* (olho-de-boi). Tais patógenos podem causar perdas muito expressivas, podendo chegar à totalidade dos frutos armazenados (LUNARDI; SANHUEZA; BENDER, 2003). Outros fungos têm causado perdas significativas aos frutos: *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, e *Rhizopus stolonifer* (VALDEBENITO-SANHUEZA, 2011).

5.13 PODRIDÕES POR *PENICILLIUM* SPP

O fungo *Penicillium expansum* Link, 1809, é certamente o fungo toxigênico de maior incidência em maçãs, considerado um parasita de fermentos, cresce em atividade de água (A_w) entre 0,83 a 0,99 e tem a capacidade de tolerar até 80% de sacarose (p/v) no meio de crescimento, causando podridão de coloração azul na parte externa da maçã e bege ou marron clara no tecido, deixando o fruto aguado e mole (HEFNAWY; ABOU-ZEID, 2003). O grande número de esporos, presentes na superfície dos frutos, é facilmente disperso pelo ar, causando alta incidência da doença. Os esporos são abundantes nos pomares e “*packing houses*”, principalmente nos locais de viragem das caixas (FISCHER et al., 2008).

Segundo Valdebenito-Sanhueza (1991), as perdas causadas por estas podridões podem alcançar 30% das frutas armazenadas. O fungo causador do bolor azul em maçãs, *Penicillium expansum*, apesar de ser extremamente agressivo e não seletivo, necessita de pequenos ferimentos na epiderme do fruto para que possa infectá-lo. Este fungo foi responsável por cerca de 90% das perdas em podridão pós-colheita de maçãs antes do advento das câmaras frias com atmosfera controlada (BLUM et al., 2004).

A penetração do fungo ocorre através de fermentos, onde os nutrientes estão disponíveis e estimulam a germinação dos esporos depositados na superfície do fruto (AGRIOS, 2005). De ocorrência generalizada em todas as regiões produtoras de frutas, esse fungo é uma ameaça constante aos frutos em conservação devido, principalmente, ao fato de se desenvolver muito bem em câmaras frias (BERTON, 1995).

Muitas vezes a deficiente ou nula renovação da água ou solução de lavagem das maçãs nas linhas de seleção e classificação dos frutos pode levar a um aumento da fonte de inócuo contribuindo para a ocorrência de infecções nos frutos que apresentam fermentos, servindo como um meio de propagação da doença ao invés de atenuá-la (DI PIERO; ROCHA NETO, 2012). Amiri e Bombeix (2005) isolaram de maçãs com podridões espécies deste patógeno e verificaram infecções através das lenticelas ou por lesões na epiderme dos frutos.

O manuseio de frutos, sem os devidos cuidados, desde a sua colheita no campo ao processo de armazenamento, frequentemente resulta no esmagamento interno dos tecidos, promovendo rachaduras e rupturas da epiderme e propiciando a penetração de organismos causadores de doenças, com reduções na quantidade e na qualidade dos frutos a serem comercializados (RESENDE; MACHADO, 2000).

O controle químico destas doenças é feito com fungicidas de ação sistêmica ou mesosistêmica (benzimidazóis estrobilurinas, anilopirimidinas) e de contato (ftalimidas, ditiocarbamatos, etc.) que atuam na sua maior parte como preventivos e que são aplicados a partir do fim da primavera e até a colheita. Pesquisas feitas têm mostrado que a maior incidência da infecção de maçãs no campo ocorre nos últimos 45 dias antes da colheita, vista a disponibilidade do inócuo dos patógenos e o aumento da suscetibilidade da fruta. Desta forma, o tratamento das plantas neste período é uma estratégia importante para proteger os frutos que serão mantidos posteriormente nas câmaras frias (VALDEBENITO SANHUEZA et al, 2010).

5.14 PATULINA

Segundo Harisson et al. (1989 apud ARROTEIA 2007, p. 1519) fungos toxigênicos do gênero *Penicillium* frequentemente contaminam alimentos e produtos agrícolas, sendo que *Penicillium expansum*, psicrotrófico, ataca principalmente a maçã, produzindo a micotoxina patulina.

Dombrink-Kurtzman e Blackburn (2005) estudaram outras espécies de *Penicillium*, demonstrando que o *P. expansum* não é a cepa mais toxigênica, porém a de maior importância considerando a frequência com que é detectado e em todas as etapas do cultivo de maçã e o principal causador de podridões.

Embora não exista nenhum dado toxicológico ou epidemiológico em seres humanos, a patulina vem sendo empregada como indicador de qualidade nos frutos e produtos de maçã (MOSS, 1996).

O suco e os demais derivados da maçã são elaborados, principalmente, a partir de frutas que não alcançam o padrão exigido para consumo por defeitos diversos como picadas de insetos, injúrias mecânicas, cicatrizes na epiderme, má formação do fruto e problemas fitossanitários. Essas frutas podem estar contaminadas com fungos, causadores de deterioração e produtores de metabólitos tóxicos, as micotoxinas e, dentre essas, a patulina (CIEGLER, 1976 apud DOTTORI 2009).

A contaminação de sucos de maçã por patulina ocorre principalmente em períodos de baixa produção ou entressafras quando a matéria-prima é escassa. Para manter a produção, maçãs de baixa qualidade, mesmo apresentando manchas, podridão e outros tipos de deterioração, são utilizadas juntamente com maçãs sadias na produção de suco (CELLI, 2006).

Uma das principais preocupações em relação à contaminação do suco de maçã com a patulina é o fato de que o Brasil exporta esse produto a países que possuem limites estabelecidos por legislação para essa micotoxina em sucos (DOTTORI, 2009).

O Ministério Britânico de Agricultura Pesca e Alimentos (MAFF) têm monitorado os níveis de patulina em sucos de maçã desde 1980. Quando contaminações acima de 50 µg/L foram confirmadas pela primeira vez, em 1992, foi sugerido o limite máximo permitido de até 50 µg/L, que foi confirmado em 1995 (UNITED KINGDOM, 1998).

Países da Europa e EUA também estabelecem níveis máximos para conteúdo de patulina em derivados de maçã. A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda concentrações inferiores à 50 µg/L (RICHARD et al., 2003).

Até o presente momento, na maioria dos países ainda não há legislação para controle dos níveis de patulina em alimentos. O FDA recomenda como limite aceitável de patulina em suco de maçã e produtos derivados uma concentração igual ou inferior a 50 mg/Kg (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2000).

Beretta et al. (2000 apud MACHINSKI JÚNIOR; PÁDUA 2005, p. 537) demonstraram que a concentração de patulina em maçãs com áreas deterioradas é extremamente elevada e esta também pode ser observada nas partes não afetadas pelos fungos.

Vários métodos são frequentemente utilizados para reduzir os níveis de patulina em sucos de maçã, dentre eles destacam-se o tratamento com carvão, dióxido de enxofre, irradiação gama, fermentação e lavagem das maçãs infectadas pelo fungo. Muitos desses processos são caros e demorados (LEGGOTT et al., 2001).

A seleção das maçãs usadas para a produção de suco é uma prática positiva no sentido de diminuir os níveis dessa micotoxina no suco, no entanto, as frutas que são destinadas ao processamento industrial são aquelas que não atingem o padrão exigido para o consumo in natura, e o processamento caracteriza-se como uma forma de aproveitar essas frutas que seriam descartadas. A melhor alternativa seria prevenir os danos que ocorrem na superfície das maçãs e a conseqüente colonização de fungos, que, por sua vez, podem produzir micotoxinas. Boas práticas durante a colheita e o transporte dessa fruta são importantes no

que diz respeito à prevenção da infecção fúngica, bem como o armazenamento sob condições adequadas. (DOTTORI, 2009).

6 MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 LOCAL DO ENSAIO

O experimento foi conduzido na Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Laranjeiras do Sul, PR. Foram utilizados os laboratórios de Pós-colheita e Fitopatologia, para preparo e condução dos tratamentos.

6.2 AQUISIÇÃO DAS MAÇÃS

As maçãs utilizadas foram da Cultivar 'Gala', provenientes de um pomar comercial localizado em Vacaria, RS. A obtenção das frutas foi realizada na colheita comercial (2014/2015).

6.3 OBTENÇÃO DO INÓCULO

Para a produção de inóculo do fungo, frutos com características de infecção por *P. expansum* foram acondicionados em câmara úmida. Após quatro dias de observação, os frutos manifestaram sintomas característicos do fungo *P. expansum* (fotografia 1), agente causador do bolor azul.

Fotografia 1 - Maçã infectada por *Penicillium expansum* (bolor azul), após quatro dias em câmara úmida.



Fonte: Neuton Moreira

Após esse período, foram retirados esporos da superfície do fruto e transferidos para placas contendo meio BDA (batata, dextrose, ágar) e incubadas em câmara de germinação BOD a 25 °C, observando-se seu crescimento por sete dias. Após observação do crescimento do fungo, foi feita a repicagem, a fim de garantir a jovialidade das colônias para o experimento.

6.4 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS VEGETAIS

Os extratos vegetais foram preparados no Laboratório de Fitopatologia. As plantas foram utilizadas na forma de extrato aquoso sendo o *Corymbia citriodora* obtido na área do próprio Campus; *Cymbopogon nardus* em uma propriedade rural localizada nas proximidades do campus e o *Allium sativum* adquirido de um supermercado da mesma cidade.

O extrato bruto aquoso foi preparado a 20% de material vegetal. Para tanto, folhas frescas de *C. citriodora*, *C. nardus* e bulbilhos de *A. sativum*, foram coletadas, pesadas e trituradas em liquidificador com água destilada na proporção de 200 g de material vegetal em 1000 mL de água, posteriormente filtrados em gaze e em papel de filtro (figura 2).

6.5 TRATAMENTO *IN VITRO*

Os extratos vegetais foram adicionados ao meio BDA (batata-dextrose-ágar) (figura 3) na proporção de 20% e esterilizados em autoclave por 15 minutos a 120 °C. Para fungicida foi dissolvido à dosagem comercial recomendada em água destilada. Uma hora após o meio ter sido vertido em placas de Petri, um disco de 5 mm de diâmetro contendo micélio de *P. expansum*, com 10 dias de idade crescido em BDA, foi transferido para o centro de cada placa, as quais foram vedadas com filme plástico e incubadas em câmara de crescimento (BOD) a 25 ± 2 °C. A testemunha foi meio BDA. As avaliações foram realizadas, diariamente, mensurando-se o diâmetro das colônias por meio de duas medidas opostas com o auxílio de um paquímetro, iniciando 48 horas após a instalação do experimento e perdurando por 16 dias, momento em que as primeiras colônias atingiram a superfície total do meio. O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, onde cada unidade experimental foi constituída de uma placa de Petri. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, através do programa estatístico SASM-Agri (CANTERI et al 2001).

Fotografia 2 - Extratos adicionados ao meio BDA.



Fonte: Neuton Moreira.

6.6 TRATAMENTO *IN VIVO*

Para realização da inoculação dos frutos com *Penicillium expansum* foi feita uma suspensão de esporos na concentração de 1×10^5 conídios mL^{-1} . Para contagem de esporos foi utilizada câmara de Neubauer.

Nos bioensaios, após a desinfestação em cloro 0,5% por dois minutos, os frutos foram distribuídos em bandejas plásticas com dimensões de 400x270x133mm. Com auxílio de uma agulha padronizada, apresentando 5 mm de comprimento e 1 mm de diâmetro, foram feitos dois ferimentos equidistantes na região equatorial de cada fruto. Após o ferimento, os frutos foram inoculados por aspersão de suspensão de esporos do fungo *P. expansum*, na concentração de 1×10^5 em cada ferimento.

Nos tratamentos *in vivo* foram testados o efeito curativo e o efeito protetor. Para o efeito curativo, frutos foram inoculados e após 24 horas, imergidos nos tratamento por três minutos. Para o efeito protetor, os frutos foram imersos por três minutos e depois de 24 horas foram inoculados. As medidas foram tomadas diariamente, iniciando-se a avaliação quando os frutos apresentaram os primeiros sintomas da doença (48 horas após a inoculação).

Foram realizadas cinco repetições para cada tratamento, e cada parcela experimental foi constituída por uma bandeja contendo 4 frutos, totalizando 20 frutos por tratamento, cada um com duas lesões, somando 40 ferimentos por tratamento. (figura 4).

Fotografia 3 - Experimento montado sobre a bancada. Laranjeiras do Sul, PR. 2015.



Fonte: Neuton Moreira

Os tratamentos avaliados foram: 1) extrato de Alho (*Allium sativum*); 2) capim citronela (*Cymbopogon nardus*); 3) eucalipto (*Corymbia citriodora*); 4) Fungicida Rovral (Iprodione) e 5) Testemunha com aplicação de água destilada. Nos tratamentos 2 e 3 a parte utilizada para fazer o extrato foram folhas, já, no tratamento 1 utilizou-se bulbilhos. Os tratamentos com extratos a concentração utilizada foi de 20%. Após aplicação dos tratamentos, os frutos permaneceram na temperatura de $18\pm 2^{\circ}\text{C}$.

6.7 PARÂMETROS AVALIADOS

As variáveis analisadas foram à severidade e a incidência da doença, causadas pela podridão de *P. expansum*. Avaliações de incidência e severidade foram realizadas nos frutos inoculados, onde a incidência correspondeu ao número de lesões com sintoma de podridão, em relação ao número total de lesões e, para severidade, foi considerado o diâmetro médio das podridões (em mm), quantificada com um paquímetro. Foi medido o diâmetro horizontal e vertical de cada ferimento, começando a avaliar a partir da incidência da doença. Para avaliação de qualidade dos frutos foram feitos os seguintes testes químicos: Sólidos Solúveis Totais (SST), Acidez Titulável e Índice de Iodo-amido.

6.8 TESTE DE QUALIDADE DOS FRUTOS

As avaliações de atributos de maturação e amadurecimento foram realizadas um dia antes do início do experimento, e posteriormente no último dia de avaliação, sendo que os mesmos compreenderam Índice de Iodo-amido (realizado somente no início do experimento), Sólidos solúveis Totais (SST) e Acidez Titulável (AT).

Índice iodo-amido foi determinado somente no início dos experimentos, através da comparação do escurecimento da metade peduncular dos frutos, tratada com uma solução de iodo, sendo avaliado numa escala de 1 (toda a superfície corada com iodo, correspondendo à

predominância de amido e fruto imaturo) a 10 (toda a superfície não corada com iodo, correspondendo à predominância de açúcares solúveis e fruto totalmente maduro).

Os Sólidos Solúveis Totais foram determinados utilizando um refratômetro de bancada, com compensação automática de temperatura. As amostras de cada tratamento foram homogeneizadas e transferidas para o prisma do refratômetro, sendo os resultados expressos em °Brix. A acidez titulável (AT) foi determinada por titulometria de neutralização com NaOH 0,1 M. Para isso, foi determinada em uma amostra de 10 mL de suco, diluído em 90 mL de água destilada e titulada com solução de hidróxido de sódio 0,1N até pH 8.1, sendo usada Fenolftaleína 1% como indicador até conseguir a coloração rósea. Os valores foram expressos em volume (ml) gasto de NaOH.

6.9 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E PROCEDIMENTO ESTATÍSTICO

Os ensaios seguiram o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) com cinco repetições para cada tratamento. Os resultados foram avaliados utilizando-se modelos de análise de variância e a comparação de médias pelo Teste Tukey, em nível de 5% de probabilidade de erro.

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 CRESCIMENTO MICELIAL DO *PENICILLIUM EXPANSUM*

O efeito de extrato bruto de *Allium sativum*, *Corymbia citriodora* e *Cymbopogon nardus* sobre o fungo *Penicillium expansum* está representado na figura 1. As avaliações de crescimento micelial foram realizadas diariamente, durante 16 dias, sendo representados a cada dois dias. De acordo com a análise de variância, observou-se que os extratos de *Allium sativum* e *Corymbia citriodora* (Fot. 4 - Placas C e E), exerceram efeito inibitório no tamanho de colônia, diferindo estatisticamente a 5% da testemunha (fot. 4 - Placa A). Foi observado o crescimento vegetativo de *Penicillium expansum* em meio BDA em todos os tratamentos estudados.

A adição do extrato de *A. sativum*, *C. citriodora* e de Iprodione promoveu inibição do crescimento micelial do fungo *P. expansum*, enquanto que *Cymbopogon nardus* apresentou diâmetro superior a testemunha BDA após 192 horas de avaliação (Figura 1D - Dia 8). Os resultados obtidos com extrato de alho comprovam sua atividade antifúngica. Talamini e Stadnik (2004) observaram que o alho (*Allium Sativum*), da família Liliaceae (a mesma da cebola e da cebolinha), possui substâncias como aliinase e aliina, que quando complexados, formam a alicina, substância tóxica que inativa os micro-organismos e confere o aroma

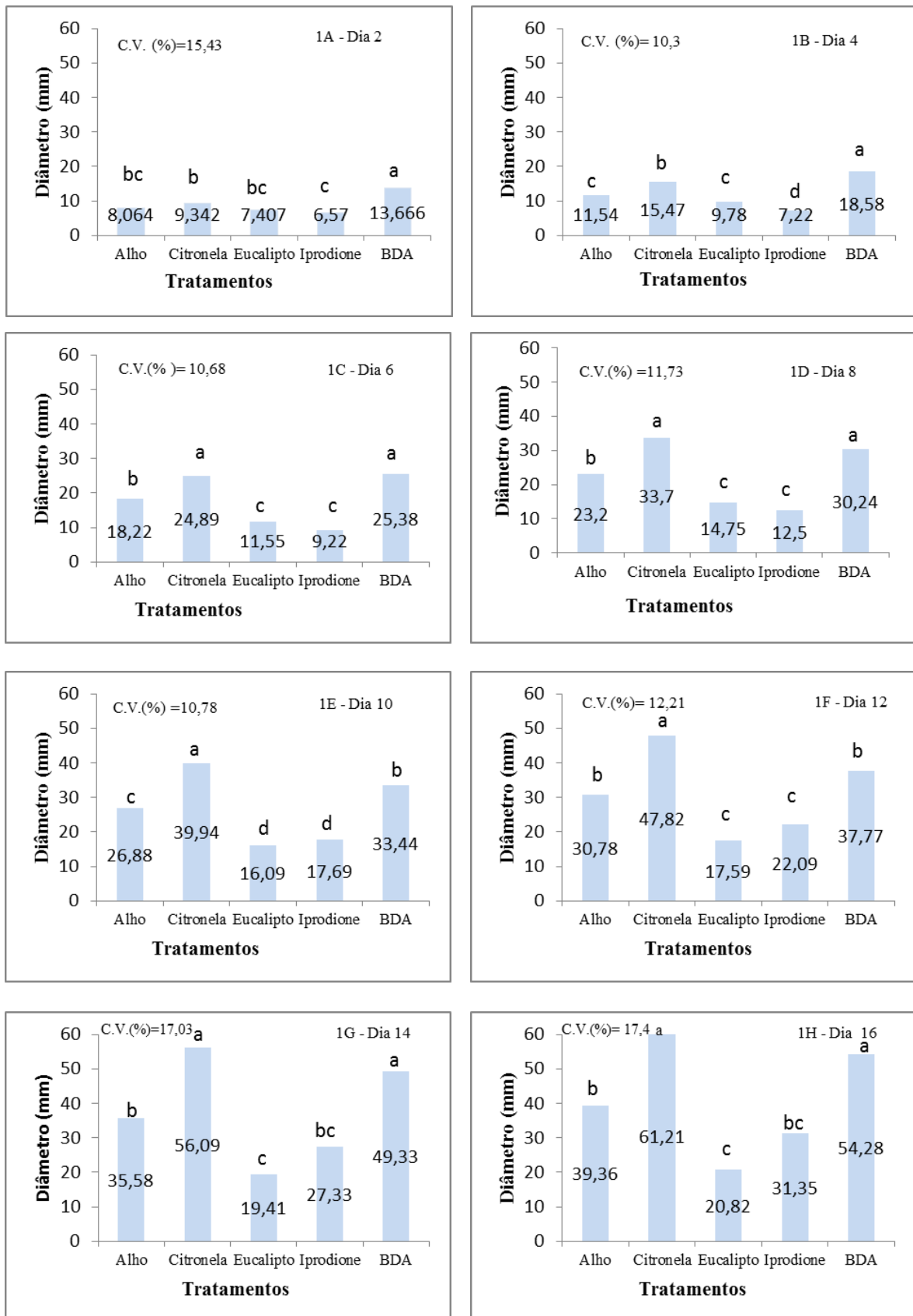
típico do alho. Arcobeli-Cola et al. (2010), verificaram que extrato de alho a 20% promoveu uma redução de 96,6% do crescimento micelial de *P. digitatum* (bolor verde em citros), o que indica que o extrato de alho têm potencial para ser avaliado futuramente em trabalhos conduzidos em casa de vegetação e a campo.

Brand et al. (2006) observaram que o extrato de alho inibiu totalmente o desenvolvimento dos fungos *Aspergillus* spp., *Rhizopus* spp. e *Trichoderma* spp. em sementes de cebola. Em outro trabalho Melo et al. (2006) também obtiveram uma inibição de 100% do crescimento dos fungos *Curvularia* sp., *Aspergillus* sp., *Aspergillus niger*, *Rhizopus* sp. e *Chaetomium* sp. Foi observado que o tratamento com Iprodione exerceu melhor controle sobre o crescimento micelial do patógeno, seguido do extrato de eucalipto e alho. Essa inibição em relação à testemunha atingiu valores de 58,66%, 51,22% e 23,28% respectivamente, quando avaliado às 192 horas ou 8 dias após o início do experimento (Figura 2: 1D - Dia 8).

Os resultados aos dez dias de avaliação estão representados na figura 1E – Dia 10. Foi observado que o tratamento com extrato de citronela a 20 % promoveu crescimento micelial superior à testemunha BDA. Wilson et al. (1997), utilizando extrato bruto de *Cymbopogon nardus*, não obtiveram efeito fungitóxico sobre *Botrytis cinerea*. Entretanto, Lima (2007) em, estudando o óleo essencial de citronela (*C. nardus*) observou inibição total do crescimento micelial do fungo *Colletotrichum gossypii*.

Para a última avaliação aos 16 dias, os extratos de *Corymbia citriodora*, e *Allium sativum*, apresentaram 57,45% e 27,48% de inibição de crescimento do micélio e diferiram estatisticamente em relação a testemunha. Em relação a Iprodione, os extratos não diferiram estatisticamente, porém o extrato de *C. citriodora* foi superior à ação promovida pelo fungicida (Figura: 1H – Dia 16). Os resultados são semelhantes ao que encontrou Bonaldo et al. (2007) quando observaram que o extrato de folhas frescas de *C. citriodora*, em concentrações acima de 20%, foram eficientes para inibir em 100% o crescimento micelial de *Colletotrichum sublineolum*, *Phytophthora* sp. e *Sclerotium rolfsi*. Zeni et al. (2004), verificaram efeito inibidor do óleo de *Corymbia citriodora* sobre *Botrytis cinérea*. Souza et al. (2007), testando o extrato de alho para controle *in vitro* de *Fusarium proliferatum* em grãos de milho, observaram redução da taxa de crescimento micelial, da germinação dos esporos e da incidência, sendo a melhor eficiência a partir da concentração 2,5%.

Figura 1- Crescimento micelial (mm) de *Penicillium expansum*, durante 16 dias de avaliação. Laranjeiras do Sul, PR. 2015.

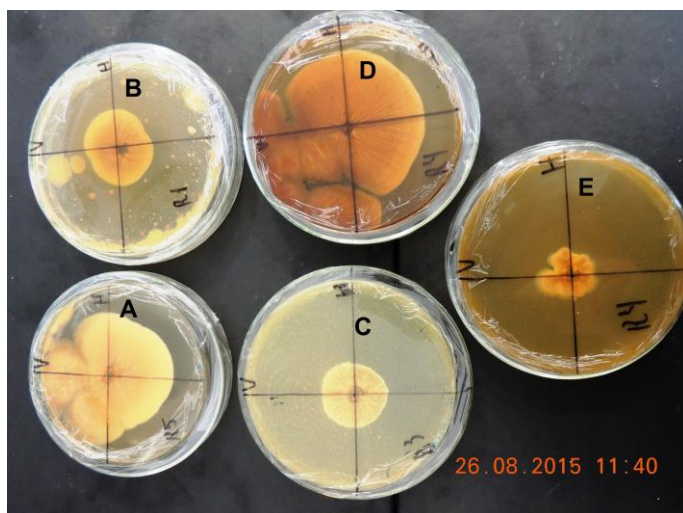


*Letras iguais não diferem entre si, pelo Teste de Tukey, em nível de 5 % probabilidade de erro.

Compostos de origem vegetal podem se constituir em importantes agentes de controle, pela fácil obtenção e utilização, pelo baixo custo e por minimizarem os problemas apresentados pelos produtos químicos sintéticos (ARROTEIA; KEMMELMEIER; MACHINSKI JR., 2007).

De forma geral, os extratos obtidos a partir de alho e eucalipto foram os que apresentaram maior ação fungitóxica a *P. expansum*. Isto sugere que os extratos podem ser usados como alternativa ao controle de *P. expansum*, pois a possibilidade de uso de produtos de origem natural se traduz em vantagem por ser um procedimento menos agressivo ao meio ambiente e ainda integrando as técnicas de pós-colheita, com as práticas de campo, minimizando assim, a utilização de agrotóxicos.

Fotografia 4 - A: BDA; B: Iprodione; C: Extrato de alho; D: Extrato de citronela; E: Extrato de eucalipto.



Fonte: Neuton Moreira, 2015.

7.2 EFEITO PROTETOR

Verificando a eficácia dos extratos vegetais para o controle da podridão de *P. expansum* em maçã, através da indução de resistência ou mesmo do efeito fungicida direto, frutos foram submersos aos respectivos tratamentos de forma preventiva, sendo posteriormente lesionados e inoculados. Foi observado efeito inibitório no diâmetro médio das lesões nas primeiras avaliações. Além disso, houve comportamento diferente nas avaliações que foram realizadas a cada 24 horas (figura 2).

Os resultados da primeira avaliação estão apresentados na figura 2A – Dia1. Foi observado para a primeira avaliação, realizada 48 horas após o início do experimento, momento onde surgiram as primeiras podridões, que os extratos de *Allium sativum*,

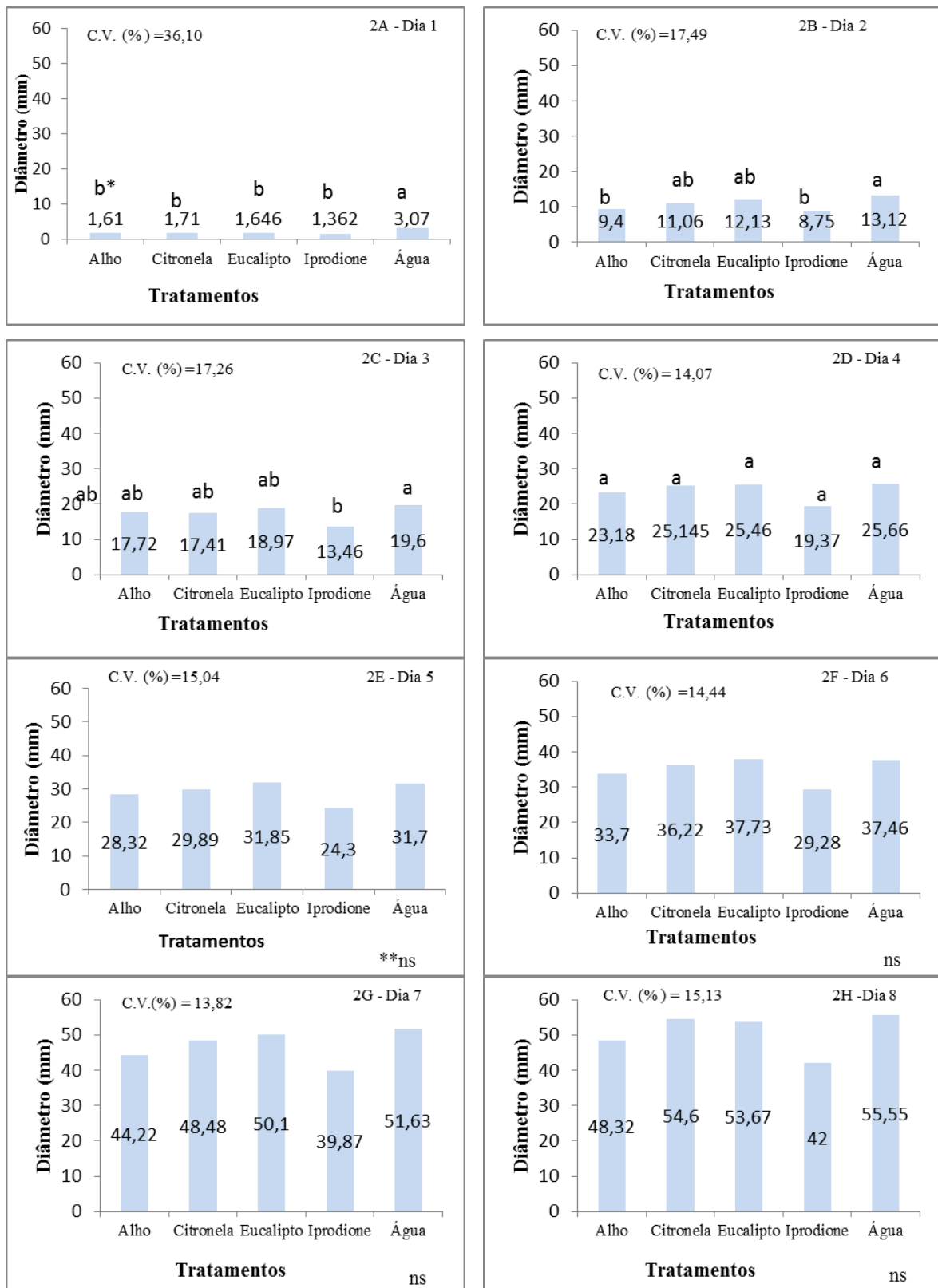
Cymbopogon nardus e *Corymbia citriodora* tiveram média no diâmetro de podridões estatisticamente diferentes em relação à testemunha, sendo os frutos tratados com extrato de *Alium sativum* a menor média de podridões, apresentando inibição de 47,55% em relação à testemunha. A ciência tem demonstrado, nos últimos anos, enfoque no estudo do potencial de plantas medicinais e aromáticas, de acordo com Trajano et al. (2009) considerando a sua inclusão nos chamados sistemas de conservação de alimentos. Em pós-colheita, Cruz et al. (2002) estudaram o controle de *Botrytis cinera* e *Rhizopus spp.* em frutos de morangueiro tratados com óleo de *Achillea millefolium*, *Cymbopogon citratus*, *Corymbia citriodora* e *Origanum majorana*, na forma de fumigação e verificaram que todos os tratamentos foram superiores ao controle. Já os frutos tratados com Iprodione não diferenciaram em relação aos extratos, mas apresentaram inibição de 55,70% quando comparada a testemunha.

A figura 2B - Dia 2, apresenta os valores da segunda avaliação. Foi observado novamente crescimento das lesões causadas nos frutos, porém o único tratamento com extrato com resultado estatisticamente diferente em relação à testemunha foi o de alho, representando uma inibição de 28,35% no tamanho da lesão. O Iprodione exerceu melhor controle, apresentando 33,30% de inibição no diâmetro das lesões.

A figura 2C - Dia 3, mostra os resultados para a terceira avaliação. Foram observadas pequenas inibições no diâmetro médio das lesões causadas nos frutos, mas não se obteve diferenças estatísticas entre os extratos e a testemunha. O Iprodione não diferiu dos extratos, porém, em relação à testemunha, apresentou uma inibição de 31,32% no diâmetro médio das lesões.

Foram apresentados na figura 2D - Dia 4, os resultados para a quarta avaliação, não sendo observado diferença das médias entre os tratamentos. Entre a quinta e a oitava avaliação, momento em que lesões realizadas equidistantes na região equatorial do fruto, começavam a encontrar-se, não houve interação significativa entre os tratamentos. Os resultados estão representados entre as figuras 2E - Dia 5 e 2H - Dia 8. Segundo Lattanzio et al. (2001), dependendo da fase fisiológica e das condições de armazenamento, os frutos podem sofrer deterioração rapidamente. Mazaro et al. (2008) afirmam que os danos nos frutos podem desencadear o aumento na atividade metabólica dos frutos. Esse aumento pode contribuir para um apodrecimento mais rápido dos mesmos.

Figura 2 - Diâmetro médio das podridões (mm), em maçãs ‘Gala’, durante 8 dias de avaliação. Laranjeiras do Sul, PR, 2015.



*Letras iguais não diferem entre si, pelo Teste de Tukey, em nível de 5 % probabilidade de erro.

**Não significativo.

Na tabela 1 são apresentados os resultados para incidência, onde se determinou a média de lesões podres nos frutos tratados no início e no término das avaliações (Dia 1 e Dia8). Para a primeira avaliação não foi observada diferenças estatísticas entre as médias para tratamentos com extratos. Já o Iprodione apresentou uma redução de 55% na incidência da doença nas lesões.

Para a avaliação final não houve diferenças estatísticas entre as médias. Porém, o extrato de alho reduziu em 10% o número de lesões com incidência da doença. Quando tratados com Iprodione, os ferimentos nos frutos tiveram incidência final de 80%. Para os demais tratamentos, a incidência foi em 100%. Uma possível explicação para a alta incidência de doença nestes frutos pode ser devido à eliminação ou diminuição da resistência física ao ataque do patógeno, já que os frutos foram lesionados e inoculados. Segundo Bergamim Filho (1995), a superfície dos frutos é a primeira linha de defesa/barreira estrutural protetora contra o ataque de patógenos. Considerando tal afirmação, as lesões podem ter contribuído para o rápido apodrecimento dos frutos.

Tabela 1- Incidência de *Penicillium expansum* em maçã ‘Gala’. Laranjeiras do Sul, PR. 2015.

Tratamentos	1ª Avaliação – Dia 1	8ª Avaliação – Dia 2
Água	6 a*	8 a
Iprodione	3,6 b	6,4 a
Alho	5 ab	7,2 a
Citronela	4,6 ab	8 a
Eucalipto	4,2 ab	8 a
C.V (%)	24,92	14,56

Médias de cinco repetições com quatro frutos ou oito lesões, em maçãs ‘Gala’. Letras iguais não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo Teste de Tukey.*Frutos tratados preventivamente.

7.3 EFEITO CURATIVO

Frutos de maçã foram inoculados e após 24 horas tratadas curativamente com os respectivos tratamentos, através de imersão, não se observando totalmente o controle do bolor azul. Foi observado crescimento na severidade da podridão nos frutos tratados em todas as avaliações (figura 3). Entretanto, houve efeito inibitório no crescimento da podridão no fruto quando utilizado o extrato bruto aquoso de *Alium sativum* na respectiva concentração, confirmando, de certo modo, os resultados encontrados nos ensaios *in vitro*, inibindo a severidade da doença. Não houve sintomas de fitotoxidez nos frutos, porém alguns apresentavam outras podridões.

Os resultados para a primeira avaliação foram apresentados na figura 3A - Dia 1. Foi observado que apenas extrato de alho diferenciou-se estatisticamente em relação à testemunha, promovendo 61,61% de inibição no crescimento da lesão causada nos frutos, e 69,2% em relação ao Iprodione. Segundo Marino et al. (2001) as plantas medicinais, aromáticas e as especiarias, ricas em óleos essenciais, são caracterizados por uma notável atividade antimicrobiana, e por esta razão, seus produtos podem ser usados para retardar ou inibir o crescimento de microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes.

O tratamento com extrato de alho seguiu diferenciando significativamente dos demais até o quinto dia de avaliação (figura 3E - Dia 5), apresentando um valor 43,38% em comparação a testemunha, de inibição do crescimento da lesão causada nos frutos.

Nas figuras 3F-Dia 6, 3G-Dia 7 e 3H-Dia 8, foram apresentados os dados para sexta, sétima e oitava avaliação. Não houve diferença estatística entre as médias, porém para a última avaliação, o extrato de alho apresentou 30,38% de inibição no crescimento do ferimento causado no fruto em relação à testemunha (Figura 3H). Cruz (2003), avaliando o efeito do extrato vegetal de *Azadirachta indica* (nim), nas concentrações de 0,5 e 1%, tendo água destilada constituindo tratamento controle sobre frutos de maçã armazenados em temperatura ambiente, (25 °C e 90% RH) e infectados naturalmente com *Penicillium expansum*, analisados aos 21 dias após a aplicação dos tratamentos, encontrou efeito fungitóxico sobre *Penicillium expansum*, proporcionando um controle da doença de 98,33% e 99,57%, para a concentração de 1%.

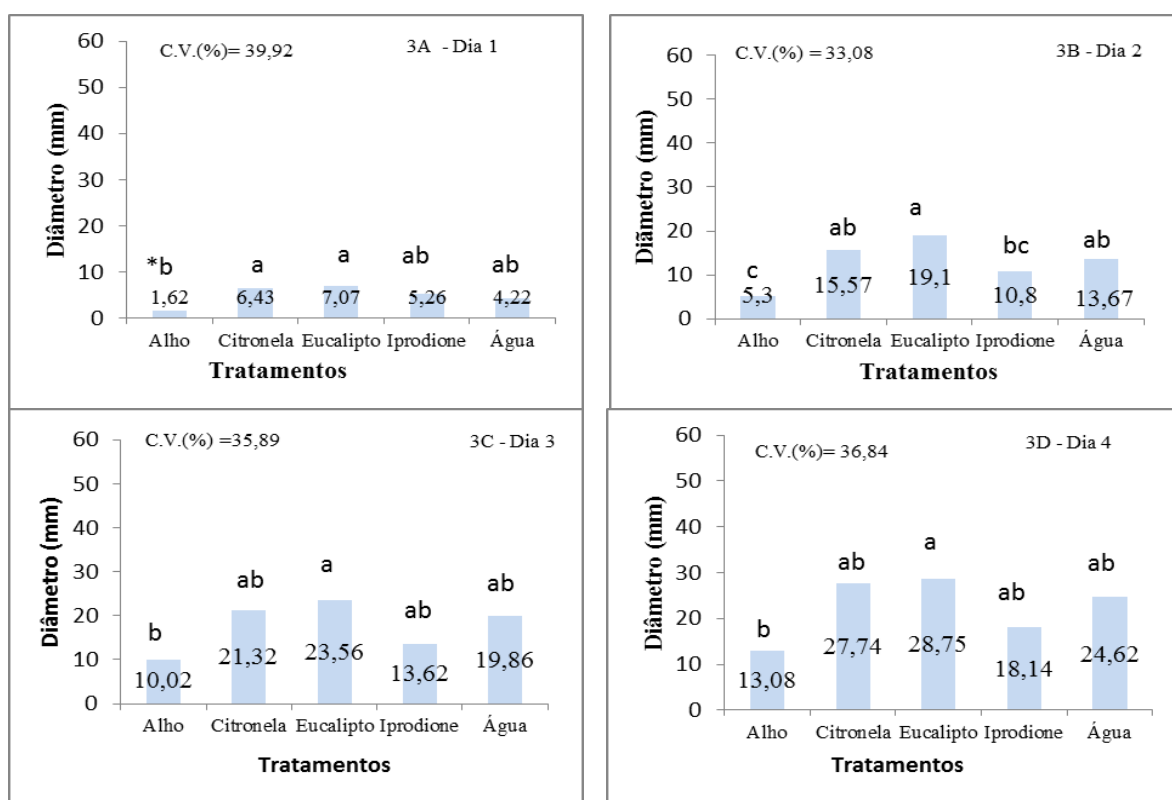
Os demais extratos não exibiram efeito erradicante e assim como quando tratados preventivamente até potencializaram o crescimento do diâmetro da lesão, incluindo o eucalipto o qual, a exemplo do alho, havia apresentado elevada atividade antifúngica *in vitro* a 20%. O tratamento com Iprodione teve resultado parecido ao do alho, porém, a partir do sexto dia, não houve diferença estatística entre as médias dos tratamentos (Figura 3F-Dia 6). Bonaldo et al. (2004), ao estudarem o potencial *in vivo* do extrato aquoso não autoclavado de *Corymbia citriodora* a 20% no controle de Antracnose em pepino, utilizando água e Bion como tratamentos controle, baseado-se no parâmetro tamanho de lesão, verificaram que o tratamento com o extrato aquoso de *C. citriodora*, não autoclavado, foi capaz de induzir resistência local em pepino contra *C. lagenarium*.

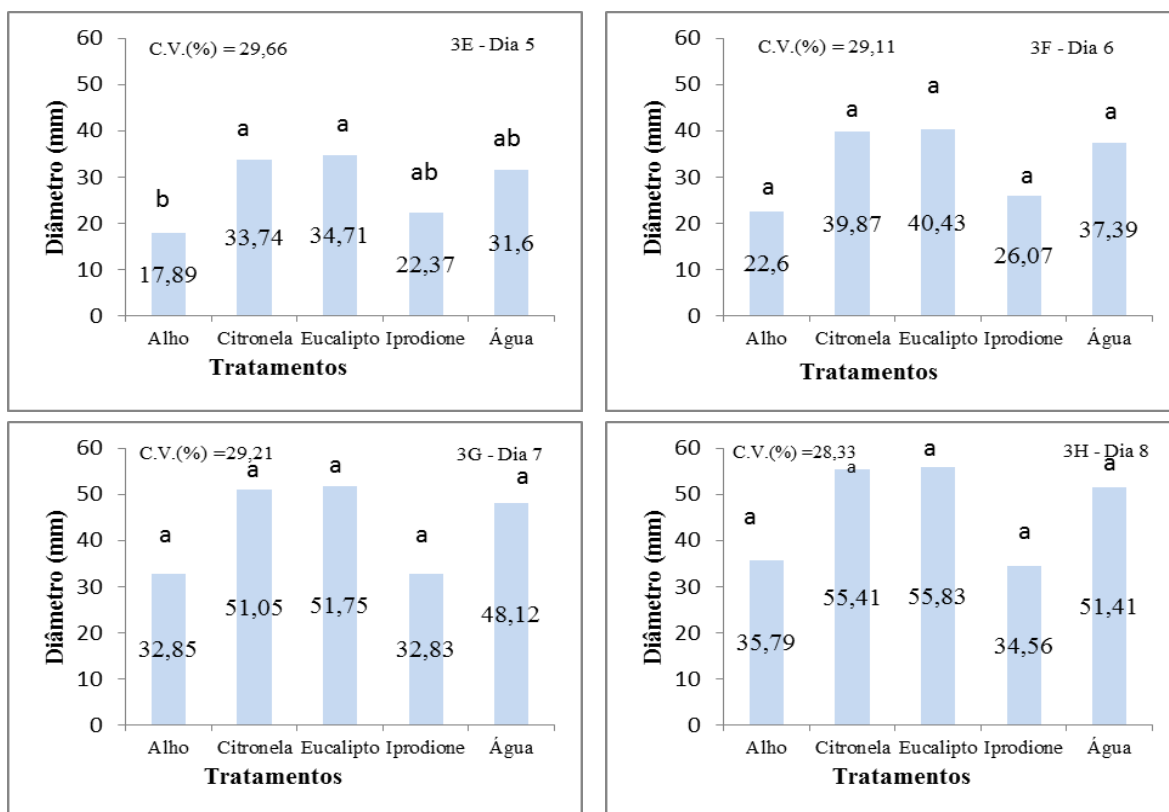
Uma explicação para o fato de algumas plantas, já relatadas como eficientes no controle de patógenos não apresentarem resultados satisfatórios no ensaio realizado com fruto, pode estar relacionada com os princípios ativos das plantas que são produzidas pelo metabolismo secundário, os quais são amplamente influenciados pelo ambiente e a forma de extração

desses compostos, com isso, plantas cultivadas em condições edafoclimáticas diferentes podem não conter em seus extratos a mesma composição tanto em quantidades de princípio ativo como na composição real dos extratos, podendo faltar ou ser acrescentado algum componente (ALMEIDA; CAMARGO; PANIZZI, 2009).

A inoculação do fungo a 5 mm de profundidade equivale a submeter o fruto a uma machucadura superficial sob condições normais, ou seja, sem desinfecção. A experiência tem mostrado que, nesse caso, a ação de um tratamento fúngico é muito limitada, quer pela concentração do ingrediente ativo que deve ser rigorosamente respeitada, quer pelo modo de ação do fungicida quando há pouca ou nenhuma translocação. Assim, os tratamentos pós-colheita, em geral, podem apresentar boa eficiência quando se tratam de desinfecção de câmara, caixas de colheita, bins, frutos, etc., porém, sempre que não houver machucadura de frutos (BERTON, 1995).

Figura 3 - Diâmetro médio das podridões (mm), em maçãs ‘Gala’, durante 8 dias de avaliação. Laranjeiras do Sul, PR. 2015.





*Letras iguais não diferem entre si, pelo Teste de Tukey, em nível de 5 % probabilidade de erro.

Na tabela 2 são apresentados os resultados para incidência, onde se determinou a média de lesões podres nos frutos tratados curativamente no início (Dia 1) e no término das avaliações (Dia 8). Para a primeira avaliação foi observada diferença estatística para o tratamento com extrato de alho sendo essa redução na incidência de 57,69% em relação à testemunha (Dia 1). O mesmo resultado apresentou o tratamento com Iprodione. Martin et al (2014), usando Iprodione como controle avaliando o efeito em frutos mantidos por 22 dias em condições ambiente não encontraram diferença estatística entre Cloreto de Dodecil Dimetil Amônio (CDDA) e tanto na incidência quanto na severidade de podridões foi maior nos frutos com tratamento controle.

Franco e Bettioli (2002) verificaram incidência do bolor verde em 80% de laranjas 'Pera' inoculadas e tratadas com extrato de *Azadiracta indica* (nim) a 10%, aos cinco dias após inoculação. Segundo Mossini e Kemmelmeier (2005), os efeitos precisos de vários tipos de extratos de plantas, quanto ao controle de pragas e doenças, são frequentemente difíceis de serem apontados, uma vez que a complexidade dos compostos e seus diversos modos de ação dificultam a elucidação dos mecanismos envolvidos.

Para a avaliação final 8º dia não houve diferenças estatísticas entre as médias, e todas as lesões dos frutos do tratamento testemunha estavam podres. Porém, o extrato de alho e o tratamento com Iprodione reduziu em 20% o número de lesões com incidência da doença.

Tabela 2 - Incidência de *Penicillium expansum* em maçã 'Gala'. Laranjeiras do Sul, PR. 2015.

Tratamentos	1ª Avaliação	8ª Avaliação
Água	5,2 a*	8a
Iprodione	2,2b	6 a
Alho	2,2b	6 a
Citronela	6,8 ^a	7,8 a
Eucalipto	7,2 ^a	7,8 a
C.V. (%)	32,13	27,25

Médias de cinco repetições com quatro frutos ou oito lesões em maçãs 'Gala'. Letras iguais não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo Teste de Tukey.*Frutos tratados curativamente.

Na literatura científica, são escassos os trabalhos que relatam o efeito *in vivo* de extratos e óleos vegetais, visando o controle de bolor azul em maçã. É válido salientar ainda que, além da necessidade de estudos *in vivo*, outros fatores devem ser levados em consideração, como a composição química dos produtos. Alguns princípios podem variar de acordo com o manejo das plantas, com a temperatura da região de cultivo, a disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, a adubação etc. (CASTILHO-MARO, 2010).

7.4 AVALIAÇÕES QUÍMICAS

Quanto aos atributos de qualidade, para o teste do iodo-amido, o amido encontrava-se totalmente hidrolisado (fot. 5 - A). Para as variáveis de Sólidos Solúveis Totais (5 - B) e Acidez Titulável (5 -C), não houve diferenças entre os tratamentos (dados não apresentados), o que demonstra que os extratos não influenciaram na qualidade dos frutos tratados e mantidos em condição ambiente.

Fotografia 5 - A: Índice de Iodo-amido, B: Sólidos Solúveis Totais e C: Acidez Titulável.
Laranjeiras do sul, PR.



Fonte: Neuton Moreira.

8 CONCLUSÃO

8.1 TRATAMENTOS *IN VITRO*

Observou-se que os extratos aquosos de *Corymbia citriodora* e *Allium sativum* a 20%, apresentaram potencial fungistático sobre o desenvolvimento de *Penicillium expansum in vitro*.

Testes em laboratório e em campo deverão ser realizados para a verificação da ação destes extratos sobre o patógeno.

8.2 TRATAMENTOS *IN VIVO*

O uso de extratos vegetais de eucalipto e citronela quando aplicados *in vivo*, não controlaram podridões de *Penicillium expansum* em maçã ‘Gala’.

O uso de extrato de alho quando aplicados curativamente reduziu a incidência e severidade de danos por *Penicillium expansum* em maçã ‘Gala’.

O uso de extratos vegetais, aplicados em frutos de maçã em pós-colheita, não interferiu nos atributos de qualidade de maçãs ‘Gala’ mantidas em ambiente.

Dada sua elevada atividade antimicrobiana demonstrada nos bioensaios *in vitro* e nos testes erradicantes com frutos, junto com outras propriedades que propiciam aumento no tempo de vida útil dos frutos, o extrato de alho poderá se constituir uma opção para o emprego na água de lavagem utilizada para o transporte dos frutos de maçã dentro dos *packing-houses*, em substituição aos tratamentos convencionais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE MAÇÃ. (ABPM). **Programa de sustentabilidade e fortalecimento do setor da maçã**. Carta De Vacaria, 2013. Disponível em: <<http://www.abpm.org.br/cartadevacaria.pdf>>. Acesso em 15 de mai. de 2015.

ALMEIDA T.F.; CAMARGO M.; PANIZZI R.C. **Efeito de extratos de plantas medicinais no controle de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da flor preta do morangueiro**. Summa Phytopathologica, v.35, n.3, p.196-201, 2009.

AMAGASE H. et al. **Intake of garlic and its bioactive components**. Journal of Nutrition. Bethesda, v.131, n. 3, p. S955- S962, 2001.

AMEN-CHEN, C; PAKDEL, H.; ROY, C. **Separation of phenols from Eucalyptus wood tar**. Biomass and Bioenergy, v.13, p.25-37, 1997. LIVROO.

AMIRI, A.; BOMPEIX, G. **Diversity and population dynamics of *Penicillium* spp. on apples in preand postharvest environments consequences for decay development**. Plant Pathology, Hoboken, v.54, n.1, p.74–81, 2005.

ARCOBELI-COLA, Marília Poton. **Eficiência do extrato de alho e fungicida no controle o bolor verde em citros**. In: XIV ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, X ENCONTRO LATINO AMERICANO DE PÓS-GRADUAÇÃO E IV ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA JÚNIOR. São José dos Campos – SP. UNIVAP, 2010.

ARGENTA L. C. **Fisiologia pós-colheita: maturação, colheita e armazenagem dos frutos**. In: EPAGRI. A cultura da macieira, Florianópolis, 2002. p. 691-732. Disponível em: <<http://www.cnpdia.embrapa.br/rbfv/pdfs/v6n2p135.pdf>>. Acesso 15 de outubro de 2015.

ARROTEIA C.C.; KEMMELMEIER C.; MACHINSKI JR. M. **Efeito dos extratos aquoso e oleosos de Nim [*Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae)] na produção de patulina em maçãs contaminadas por *Penicillium expansum*** Ciência Rural, Santa Maria, v.37, n.6, p.1518-1523, nov.-dez, 2007.

BERGAMIM FILHO A.; KIMATI H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia – Volume 1: Princípios e conceitos**. 3ª ed. São Paulo: Ceres, v. 1, 919 p., 1995.

BERNADI J; HOFFMAN B. **Aspectos Botânicos**. Frutas do Brasil. Produção Maçã, vol. 37. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/3AspectoBotanicoProducao_000fi6cu9xc02wyiv80mr28rz162vvdxdx.pdf>. Acesso em 25 mai. de 2015.

BERTON O. **Controle do mofo azul em maçãs frigorificadas**. PESQ. AGROP. GAÚCHA, Porto Alegre, v.1, n.2, p. 243-245, 1995. Disponível em: <http://www.fepagro.rs.gov.br/upload/1399042429_Revista_PAG_1-n2.pdf>. Acesso em 25 de outubro de 2015.

BITTENCOURT C. C. **A cadeia produtiva da maçã em Santa Catarina: competitividade segundo produção e packing house**. Revista de Administração Pública. Rio de Janeiro jul./ago. 2011. Disponível: <<http://www.scielo.br/pdf/rap/v45n4/a13v45n4.pdf>>. Acesso em 15 jun. 2015.

BITTENCOURT, C.C. **Panorama da cadeia da maçã no estado de Santa Catarina: uma abordagem a partir dos segmentos da produção e de packing-house**. Dissertação (mestrado em economia) — Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

BLUM L. E. B. et al. **Cryptococcus laurentii aplicado em pós-colheita reduz podridões em maçãs**. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 29, n. 4, p. 433-436, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/fb/v29n4/a13v29n4.pdf>>. Acesso em: 15 jul. de 2015.

BONALDO S. M. et al. **Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra Colletotrichum lagenarium, pelo extrato aquoso de Eucalyptus citriodora**. Fitopatologia Brasileira 29:128-134. 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/fb/v29n2/19554.pdf>>. Acesso em: 14 jul. 2015.

BONALDO, S.M. et al. **Contribuição ao estudo das atividades antifúngica e elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja por eucalipto (Eucalyptus citriodora)**. Summa Phytopathologica. v. 33, n. 4, p. 383-387, 2007. Disponível: <<http://www.scielo.br/pdf/sp/v33n4/a11v33n4.pdf>>. Acesso em 20 de nov. 2015.

BONALDO S.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. **Controle de Penicillium expansum (Link) resistente aos benzimidazóis em maçãs frigorificadas**. Revista Brasileira de Fruticultura, Cruz das Almas, v.8, n.2, p.31-34, 1986.

BRACKMANN A. **Armazenamento em Atmosfera Controlada. Maçã Pós-colheita**. Frutas do Brasil ed. 39. 2002. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/8ArmazenamentoAtmosferaControladaPoscolheita_000fid2bwq902wyiv80z4s473lwmh4d7.pdf, acesso em 15 de outubro de 2015.
BRACKMANN A.; STEFENS C. A. **Maçã resiste por bastante tempo, desde que seja armazenada da forma correta**.

BRACKMANN, A. et al. **Controle de podridão pós-colheita de Penicillium spp., em maçã 'Fuji' com fosfitos e fungicidas**. Revista Brasileira de Agrociência. Pelotas, v.11, n. 2, p.

251-254, abr-jun, 2005. Disponível em:
<<https://periodicos.ufpel.edu.br/ojs2/index.php/CAST/article/viewFile/1220/1014>>. Acesso em 15 jun. 2015.

BRAND et al. **Extratos vegetais no controle de patógenos em sementes de cebola**. 2006. Disponível em: <https://www.academia.edu/signup?s=download&a_id=31235767>. Acesso em 01 agost. 2010.

CANTERI M. G. *et al.* **SASM-Agri – Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan**. Revista Brasileira de Agrocomputação 1: 18-24. 2001.

CASTILHO-MARO L. A. **Controle do bolor verde em citros com produtos alternativos aos agroquímicos**. Universidade Federal de Viçosa. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. Dissertação. Viçosa, Minas Gerais, 2010. Disponível em: <<http://alexandria.cpd.ufv.br:8000/teses/fitotecnia/2010/227760f.pdf>>. Acesso em 12 agost. 2015.

CASTRO L. O. et al. **Principais gramíneas produtoras de óleos essenciais: *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., (capim-cidró), *Cymbopogon martinii* (Rox, palmarosa), *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle (citronela), *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash, (vetiver)**. Porto Alegre: FEPAGRO, 2003. 23p. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/gramineas.pdf>>. Acesso em: 22 de nov. de 2015.

CELLI M. G. **Patulina em maçãs e em produtos derivados. Aspectos sanitários e controle empregand *Saccharomyces cerevisiae***. 2006. 78p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Curso de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Ponta Grossa, 2006. Disponível em: <http://www.uepg.br/mestrados/mescta/Arquivos/Dissertacoes/CELLI_MG.pdf>. Acesso em 20 agost. 2015.

CELOTO M. I. B. et al. **Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides***. Acta Scientiarum, Maringá, v.30, n.1, p.1-5, 2008.

CRAVEIRO A. A. et al. **Óleos essenciais de plantas do nordeste**. UFC, 1981. 210p.

CRUZ M.E.S. **Produtos alternativos no controle de doenças de pós-colheita de banana (*Musa paradisiaca* L.), maçã (*Malus domestica* Borkh) e laranja (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck)**. (Tese de Doutorado). Maringá. Universidade Estadual Maringá – UEM. 2003.

DI PIERO R. M.; ROCHA NETO A. C. **Controle do bolor azul em frutos de maçã imersos em solução de ácido salicílico.** Biosci J. Uberlândia, v. 29, n. 4, p. 884-891, July/aug. 2013. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/15055/12897>>. Acesso em: 20 Out. 2015.

Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/cr/v39n1/a52v39n1.pdf> >. Acesso em 16 set. 2015. DOMBRINK-KURTZMAN M. A.; BLACKBURN, J. A. **Evolution of several culture media for production of patulin by *Penicillium* species.** Intl. J. Microbiol., v.98, .3, p.241-248, 2005. Disponível: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15698685>>. Acesso em 21 Out. De 2015.

DOTTORI H A. et al. **Ocorrência, aspectos toxicológicos, métodos analíticos e controle da patulina em alimentos.** Ciência Rural, Santa Maria, v.39, n.1, p.300-308, Jan-Fev, 2009.

ESTANISLAU A. A. et al. **Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de *Eucalyptus* cultivadas em Goiás.** Revista Brasileira de Farmacognosia, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 95-100, 2001. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v11n2/a05v11n2.pdf>>. Acesso em 14 de jul. 2015.

FABROWSKI, F.J. ***Eucalyptus smithii* R. T. BAKER (Myrtaceae) como espécie produtora de óleo essencial no sul do Brasil.** 2002, p.225 Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

FERNANDES G. V. **Controle de qualidade na colheita da maçã na Empresa Renar maçãs S/A – Fraiburgo/SC.** Centro De Ciências Agrárias Curso De Agronomia - UFSC Relatório do estágio de Conclusão do Curso de Agronomia. Florianópolis. Santa Catarina, Jul. 2011. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/25494/ragr259.pdf?sequence>>, Acesso em 01 dez. de 2015.

FILGUEIRA F. A. R. **Novo Manual de Olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças.** 2º ed. Viçosa: UFV, 2003. 412p.

FISCHER I.H; LOURENCO, S.A; AMORIM, L. **Doenças pós-colheita em citros e caracterização da população fúngica ambiental no mercado atacadista de São Paulo.** Tropical Plant Pathology, v.33, n.3, p.219-226, 2008.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Guidance for FDA components and industry apple juice, apple juice concentrates, and apple juice produc: adulteration whit Patulin.** USA, 2000.

FRANCO D. A.S.; BETTIOL W. **Controle de *Penicillium digitatum* em pós-colheita de citros com produtos alternativos.** Fitopatologia Brasileira, v. 25, n. 4, p. 602-606, 2000. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/14565/controle-de-bolor-verde-em-pos-colheita-de-citros-com-produtos-alternativos>>. Acesso em: 14 out. 2015.

FRANZENER G et al. **antifúngica e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia camphorata*.** Acta Scientiarum, Maringá, v.25, n.2, p.503-507, 2003. Disponível em: < <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAgron/article/viewFile/2124/1619>>. Acesso em 14 jul. 2015.

HEFNAWY, M. A.; ABOU-ZEID, A. M. **Differential adaptation of membranes of two osmotolerant fungi, *Aspergillus chevalieri* and *Penicillium expansum* high sucrose concentrations.** Acta. Microbiol., v.52, p.53-64, 2003.

HOLUB, B.J. et al. **Organosulfur compounds from garlic.** In: SHI, J. et al. **Functional foods: biochemical and processing aspects.** Washington: CRC, 2002. Cap.7, p.213-238.

JAMAL C. M. et al. **O uso de extratos vegetais no controle alternativo da podridão pós-colheita da banana.** In: SIMPÓSIO NACIONAL DO CERRADO, IX, 2008, ParlaMundi. Anais. Brasília, DF: EMBRAPA Cerrados, 2008.p. 1-9.

LATTANZIO V. et al. **Low Temperature Metabolism of Apple Phenolics and Quiescence of *Phlyctaena vagabunda*.** Journal of Agriculture and Food Chemistry, v. 49, n. 12, p. 5817-5821. 2001. Disponível em: <https://www.editoraufv.com.br/produto/1594833/manual-de-fitopatologia-volume-1>. Acesso em: 20 de out. de 2015.

LEITE G. B.; PETRI J. L. **Revista Brasileira De Fruticultura.** Vol. 30, n. 4 p.857-1166, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbf/v30n4/a01v30n4.pdf>, acesso em 20 mai. 2015.

LINS S.R.O. et al. **Controle alternativo da podridão peduncular em manga.** Summa Phytopathologica, v.37, n.3, p.121-126, mar. 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/sp/v37n3/a07v37n3.pdf>>. Acesso em 15 nov. 2015.

LORENZI H.; MATOS F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas.** Nova Odessa: Plantarum. 2002. 544p. MANN J. **Secondary metabolism.** Oxford. Science Publications. Oxford, 1995. 374p.

LUNARDI R.; VALDEBENITO-SANHUEZA R.M.; BENDER R.J. **Imersão em água quente no controle pós-colheita da podridão branca em maçãs cv. Fuji.** Fitopatologia Brasileira 28:431-434. 2003. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/fb/v28n4/17020.pdf>>. Acesso em 12 de mai. 2015.

MACHINSKI JR. M.; PÁDUAR. A. F. **Aspectos toxicológicos e ocorrência de patulina em suco de maçã.** SEMINA: Ciências Agrárias, Londrina, v. 26, n. 4, p. 535-542, out./dez. 2005. Acesso em 25 de Mai. 2015. Disponível em: < <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/2375/2034>>. Acesso em 25 out. 2015.

MANN, J. **Secondary metabolism.** 2. ed. Oxford: Clarendon Press, 1995. 374 p

MARCHIORI V. F. **Propriedades Funcionais Do Alho (*Allium sativum* L.).** ano ? Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/alho_revisado.pdf>. Acesso em 15 nov. de 2015.

MARINO M.; BERSANI C.; COMI G. **Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae.** International Journal of Food Microbiology. 67: 187-195, 2001. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11518428>>. Acesso em: 14 jul. 2015.

MARTIN M. S. **Aplicação pós-colheita de Cloreto de Dodecil Dimetil Amônio reduz podridões causadas por *Penicillium* spp. em maçãs.** Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, v. 36, n. 3, p. 731- 734, Setembro 2014. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/rbf/v36n3/v36n3a26.pdf>>. Acesso em 14 nov. 2015.

MARTINS C. R. et al. **Fisiopatias e fitopatias em pós-colheita de maçãs produzidas em diferentes sistemas de produção nas safras de 2002 e 2003.** Revista Brasileira de Agroecologia, Cruz Alta, v. 2, n. 1, p. 1438-1441, 2007. Disponível em: <http://www.agroecologiaemrede.org.br/upload/arquivos/P366_2005-09-09_165503_478MAP.pdf>. Acesso em 14 set. 2015.

MAZARO, S. M. et al. **Comportamento pós-colheita de frutos de morangueiro após a aplicação pré-colheita de quitosana e acibenzolar-s-metil.** Revista Brasileira de Fruticultura, v. 30, n. 1, p. 185-190, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbf/v30n1/34.pdf>, acesso em 26 de novembro de 2015.

MELO et al. **Utilização de extratos vegetais na patologia de sementes de melão amarelo.** 2006. Disponível em:<<http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0517-2.pdf>>. Acesso em 10 de agost. de 2010.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Cenário da cadeia produtiva da maçã.** 2010. Ano 6 Vol. 54, março de 2013. Disponível em: <file:///C:/Users/Home/Downloads/Informativo_-_Maca_2013_(2)%20(10).pdf>. Acesso em: 22 mai. 2015.

MOSS M. O. **Fungi, quality and safety issues in fresh fruits and vegetables.** Applied Microbiology, Oxford, v. 104, n. 5, p. 1239-1243, 2008.

MOSSINI S. A. G.; KEMMEELMEIER C. **A árvore Nim (*Azadirachta indica* A. Juss): Múltiplos Usos.** Acta Farmacêutica Bonaerense, v. 24, n.1 p. 139-48, 2005. Disponível em: <http://www.latamjpharm.org/trabajos/24/1/LAJOP_24_1_7_1_3E9IR6431G.pdf>. Acesso em: 25 de out. de 2015.

NURNBERGER, T.; BRUNNER, F. **Innate immunity in plants and animals: emerging parallels between the recognition of general eliciadores and pathogen associated molecules.** Current Opinion in Plant Biology, Cambridge, v.5, n.4, p.318-324, 2002. Acesso 02 de Jun. de 2015.

PARANÁ. Agência Estadual de Notícias. **Norte do Paraná se consolida como novo pólo da maçã.** Curitiba, 2006. Disponível em: <www.historico.aen.pr.gov.br/modules/noticias/article.php?storyid=21370>. Acesso em: 21 abr. 2015.

PETRI J. L. et al. **Avanços na cultura da macieira no brasil.** Revista Brasileira de Fruticultura. Jaboticabal - SP, Volume Especial, E. 048-056, Outubro 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbf/v33nspe1/a07v33nspe1>>. Acesso em 17 jun. de 2015.
REETZ et al. **Anuário brasileiro de fruticultura 2014.** Santa Cruz do sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 104 p. 2015. Disponível em: <http://www.grupogaz.com.br/tratadas/eo_edicao/4/2014/03/20140325_3d8463877/flip/>. Acesso em 30 mai. 2015.

RESENDE, M. L. V.; MACHADO, J. C. **Manejo de Doenças em Pós-Colheita de Produtos Vegetais.** Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 182p.

RICHARD, J. **Mycotoxins, risk in plant, animal and human systems.** Council for Agricultural Science and Technology, Ames, n. 139, p. 101-103, 2003.

SANTOS P. L. et al. **Utilização de extratos vegetais em proteção de plantas.** Enciclopédia Biosfera Centro Científico Conhecer. Goiânia, v.9, n.17; p. 2576. 2013 2576. Disponível em

<<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2013b/CIENCIAS%20AGRARIAS/utilizacao%20de%20Extratos.pdf>>. Acesso em 22 out. de 2015.

SCHWAN-ESTRADA K. R. F. **Extratos vegetais e de cogumelos no controle de doenças de plantas.** UEM -CCA, Maringá –PR. 2009. Disponível em: http://www.abhorticultura.com.br/eventosx/trabalhos/ev_3/mr_4_artigo_katia_regina_estrada.pdf, acesso em 12 de novembro de 2015.

SHETTY, K. et al.; **Postharvest enhancement of phenolic phytochemicals in apples for preservation and health benefits.** Postharvest biology and technology of fruits, vegetables and flowers. Iowa, USA. 2008. 497p.

SHOLBERG, P.L., GAUNCE, A.P. **Fumigation of fruit with acetic acid to prevent postharvest decay.** Horticultural Science, Stuttgart, v. 30, p. 1271-1275, 1995.

SILVA, A. C. et al. **Efeito *in vitro* de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* penz. Isolado do maracujazeiro.** Ciência Agrotécnica. Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 1853 -1860, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v33nspe/26.pdf>>. Acesso em 20 Out. 2015.

SILVA, G.S. **Substâncias naturais: Uma alternativa para o controle de doenças.** Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.31, p.9, ago. 2006. Palestra 5. Disponível :<http://www.sbfito.com.br/tpp/Suplemento_2006_Salvador.pdf>. Acesso em 12 de out. de 2015.

SOUZA A. E. F et al. **Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho.** Fitopatologia Brasileira, v. 32, n.6, p. 465-471, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/fb/v32n6/a03v32n6.pdf>. Acesso em: 18 Out. 2015.

TALAMINI V.; STADNIK M. J. **Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas.** In: TALAMINI, V.; STADNIK, M. J. **Manejo ecológico de doenças de plantas.** Florianópolis: CCA/UFSC, p. 45-62, 2004.

TODA FRUTA. **Cultivares de maçãs.** Disponível em: <todafruta.com.br >. Acesso em 04 jun. 2009.

TRAJANO V.N.; LIMA E.O.; SOUZA E.L.; TRAVASSOS A.E.R. **Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos.** Ciênc. Tecnol. Aliment. 2009, vol.29, n.3, pp. 542-545. Disponível: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v29n3/a14v29n3.pdf>. Acesso: 14 set. 2015.

UNITED KINGDOM. **Ministry of Agriculture Fisheries and Food**. *News releases*: MAFF and industry work together on food safety. London, 1998

VALDEBENITO-SANHUEZA R. M. **Produção Integrada de maçãs no Brasil: Importância da cultura**. Embrapa Uva e Vinho. Jan. 2003. Disponível em <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Maca/ProducaoIntegradaMaca>>. Acesso em 15 mai. de 2015.

VALDEBENITO-SANHUEZA R. M.. **Caracterização e controle das doenças de maçãs em pós-colheita**. Inovações Tecnológicas Para O Setor Da Maçã – INOVAMAÇÃ. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS, 2010. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/outros/relatoriofinal/Capitulo2.pdf>>. Acesso em 02 de maio 2015.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. **Desinfecção de água e das câmaras frigoríficas para diminuição do inóculo de *Penicillium expansum***. Embrapa Clima Temperado Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Pelotas, 1991. Ed, 21. 20 p. Disponível em: <http://www.proterra.agr.br/admin/imagens/pdf/20150821_145018_desinfeccao%20da%20agua%20e%20das%20camaras%20frigorificas.pdf>. Acesso em 20 agost. 2015.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. V. **Jornal da Associação Gaucha dos Produtores de Maçã**, Vacaria, ed. 200, Janeiro de 2011.

VITTI A. M. S.; BRITO J. O. **Óleo essencial de eucalipto**. IPEF, Instituto de pesquisas e Estudos Florestais. Documentos Florestais, v. 17, p. 2-25, 2003. Disponível em: <<http://www.ipef.br/publicacoes/docflorestais/df17.pdf>>. Acesso 15 nov. 2015.

VIZZOTO M.; KROLOW A. C.; WEBER G. E.B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Documento: Embrapa Clima Temperado, Pelotas, n.316, 2010. p.7-15. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/44093/1/documento-316.pdf>>. Acesso em: 15 de nov. 2015.

WILSON C. L. et al. **Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cineria***. Plant Disease, Saint Paul, v. 81, p. 204-210, 1997.

ZENI T. L. et al. **Uso de extrato aquoso e óleo de eucaliptos no controle de fungos fitopatogênicos *in vitro***. In: III Evento de iniciação científica da Embrapa Florestas. Colombo, PR. 2004. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/100116/1/2004-RAC-UsoExtrato.pdf>>. Acesso em 22 nov. de 2015.