

**USO DE REVESTIMENTOS ATIVOS COM PRODUTOS NATURAIS
PARA CONTROLE DE FUNGOS DA ANTRACNOSE DO MAMÃO**

ISAMARA REIS GOMES

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
MARÇO – 2025**

USO DE REVESTIMENTOS ATIVOS COM PRODUTOS NATURAIS PARA CONTROLE DE FUNGOS DA ANTRACNOSE DO MAMÃO

ISAMARA REIS GOMES

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Produção Vegetal”.

Orientador: Prof. Dr. Eder Dutra de Resende

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
MARÇO – 2025

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

G633

Gomes, Isamara Reis.

Uso de revestimentos ativos com produtos naturais para controle de fungos da antracnose do mamão / Isamara Reis Gomes. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2025.

147 f. : il.

Inclui bibliografia.

Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2025.
Orientador: Eder Dutra de Resende.

1. *Carica papaya* L.. 2. *C. okinawense*. 3. carboximetilcelulose. 4. *Momordica charantia* L.. 5. *Azadirachta indica* A. Juss.. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

USO DE REVESTIMENTOS ATIVOS COM PRODUTOS NATURAIS PARA CONTROLE DE FUNGOS DA ANTRACNOSE DO MAMÃO

ISAMARA REIS GOMES

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Produção Vegetal”.

Aprovado em: 11/03/2025

Comissão examinadora:

Prof^a. Meire Leis Leal Martins (Ph.D em Molecular Biology and Biotechnology) - UENF

 Documento assinado digitalmente
DANIEL GONCALVES
Data: 12/08/2025 10:43:39-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Daniel Gonçalves (D.Sc., Engenharia de Alimentos) - UENF

Prof^a. Nathália Ramos de Melo (D.Sc., Ciência e Tecnologia de Alimentos) - UFF

 Documento assinado digitalmente
EDER DUTRA DE RESENDE
Data: 11/08/2025 17:04:35-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Eder Dutra de Resende (D.Sc., Engenharia Química) - UENF
(Orientador)

“A mente que se abre a uma
nova ideia jamais voltará ao seu
tamanho original”.

(Albert Einstein)

Dedico este trabalho ao meu Pai, que está no céu, à minha mãe, ao meu irmão e ao meu esposo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, por ter me dado forças para não desistir e por todos os livramentos que me concedeu;

Agradeço à minha amada mãe, pelo carinho, incentivo e cuidado comigo ao longo da vida e, principalmente, durante os quatro anos de Doutorado;

Agradeço ao meu irmão, por ter estado disponível e solícito sempre pronto para ajudar;

Ao meu esposo Jorge Luiz, agradeço o carinho, paciência, incentivo e cuidado ao longo de todo o Doutorado;

Ao meu avô Onofre e à minha avó Andreлина, à tia Filomena, a todos os tios e primos pela oração e pelo apoio;

Aos meus amigos e colegas de laboratório pelo incentivo, em especial aos amigos que a UENF proporcionou: Ana Clara, Larissa, Lucas, Fabiana, Kíssila, Jussara e Gabriel;

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos;

À UENF pela oportunidade;

Ao meu professor Eder Dutra de Resende, agradeço pela confiança, pelos ensinamentos e pela oportunidade;

A todos os professores do LTA/UENF que muito contribuíram com meu trabalho;

Aos técnicos de laboratório do LTA/UENF pela ajuda e parceria!

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT.....	ix
1.0 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2.0 REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1. A cultura do mamão.....	5
2.2. Perdas pós-colheita e doenças no mamoeiro	8
2.3. Fungos do gênero <i>Colletotrichum</i> e a antracnose	9
2.4. Mecanismos de inibição de compostos bioativos sobre os fungos.....	11
2.5. Uso de revestimento ativo.....	13
2.6. Aditivos em revestimento.....	14
2.6.1. Plastificantes	14
2.6.2. Surfactantes	15
2.6.3. Antimicrobianos	15
2.7. Revestimento ativo de quitosana.....	18
2.8. Revestimento de carboximetilcelulose.....	20
2.9. Revestimento de amido	21
2.10. Extrato de <i>Momordica charantia</i> L.....	21
2.11. Extrato e óleo de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss	23
3.0 TRABALHOS.....	24
3.1. EFEITO INIBITÓRIO DE REVESTIMENTOS COM DIFERENTES BASES POLIMÉRICAS NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO <i>IN VITRO</i> DE FUNGO CAUSADOR DE ANTRACNOSE.....	24
3.2. INIBIÇÃO DA GERMINAÇÃO E DO CRESCIMENTO <i>IN VITRO</i> DO FUNGO <i>COLLETOTRICHUM OKINAWENSE</i> COM REVESTIMENTO DE CARBOXIMETILCELULOSE INCORPORADO COM DIFERENTES AGENTES ATIVOS.....	53
3.3. CONTROLE DO FUNGO <i>COLLETOTRICHUM OKINAWENSE</i> COM USO DE REVESTIMENTOS ATIVOS INCORPORADOS COM PRODUTOS NATURAIS	

SUMÁRIO	O ARMAZENAMENTO DE MAMÃO ‘ALIANÇA’	
.....		82
4.0 CONCLUSÕES		115
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		117

RESUMO

GOMES; Isamara Reis; D. Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Março de 2025; USO DE REVESTIMENTOS ATIVOS COM PRODUTOS NATURAIS PARA INIBIÇÃO DE FUNGOS DA ANTRACNOSE; Orientador: Prof. D. Sc. Eder Dutra de Resende.

O mamão é um fruto muito consumido no mercado nacional e internacional devido ao seu valor nutricional e qualidade sensorial, mas é um fruto que apresenta grandes perdas pós-colheita devido à incidência de fungos e à intensa respiração climatérica. Os revestimentos ativos incorporados com agentes antimicrobianos têm sido amplamente estudados visando o controle de fungos e a manutenção da qualidade dos frutos. O presente trabalho tem como objetivo avaliar formulações de revestimentos ativos com diferentes bases poliméricas e agentes ativos naturais aplicados no controle de antracnose do mamão. Também foi avaliada a eficiência dos revestimentos na inibição *in vitro* da antracnose, assim como a aplicação *in vivo* dos revestimentos com o intuito verificar seus efeitos no controle da antracnose, possibilitando preservação da qualidade e o aumento do tempo de armazenamento de mamões. Primeiramente foram realizados testes *in vitro* a fim de verificar o crescimento micelial e germinação de conídios do fungo *C. theobromicola*, frente aos revestimentos propostos: amido, quitosana e carboximetilcelulose. Posteriormente foram realizados testes para estudar o mecanismo de inibição do crescimento micelial e germinação de conídios do revestimento de carboximetilcelulose incorporado com extrato hidroalcólico de *Momordica charantia* L., óleo essencial de *Azadirachta indica* A. Juss. e extrato hidroalcólico de *Azadirachta indica* A. Juss, contra o fungo *Colletotrichum okinawense*, avaliando-se a micromorfologia do fungo com auxílio de microscopia. Os testes *in vivo* foram realizados com a concentração que proporcionou menor germinação de conídios, identificada nos testes *in vitro*. Também foram realizadas avaliações de perda de massa, análise de cor, firmeza, acidez titulável, pH, sólidos solúveis, açúcares totais, açúcares redutores e vitamina C dos frutos além de ter sido realizada a quantificação da área de crescimento fúngico a fim de comparar os frutos que receberam tratamento com os frutos controle. As análises estatísticas foram feitas no programa

Jamovi, com análise de variância e teste de Tukey a 5 % e os gráficos do trabalho foram elaborados no programa Origin. O presente trabalho demonstrou que a CMC é uma base polimérica de baixo custo e com grande potencial para a preparação de revestimentos ativos, além disso, quando associada com produtos naturais pode inibir a germinação e controlar o crescimento micelial de fungos causadores da antracnose, contribuindo para a preservação pós-colheita do mamão. Os frutos que foram revestidos com quitosana e CMC contendo óleo de Nim apresentaram crescimento de fungos aos 12 dias, enquanto os frutos do tratamento controle iniciaram o crescimento aos 18 dias, indicando que os revestimentos serviram como meio de cultura para o crescimento dos fungos. Na análise das características físico-químicas dos frutos verificou-se que os revestimentos retardaram o processo de amadurecimento, minimizando as alterações de cor da casca, acidez de polpa, conteúdos de açúcares e ácido ascórbico. Contudo, o revestimento de quitosana provocou uma perda significativa de ácido ascórbico ao final de 30 dias de armazenamento refrigerado.

Palavras-chave: *Carica papaya* L., *C. theobromicola*, *C. okinawense*, *Momordica charantia* L., *Azadirachta indica* A. Juss.

ABSTRACT

GOMES; Isamara Reis; D. Sc.; State University of North Fluminense Darcy Ribeiro; Março de 2025; USE OF ACTIVE COATING WITH NATURAL PRODUCTS TO INHIBIT ANTHRACNOSE FUNGI; Advisor: Prof. D. Sc. Eder Dutra de Resende;

Papaya is a fruit widely consumed in the national and international markets due to its nutritional value and sensory quality, but it is a fruit that presents great post-harvest losses due to the incidence of fungi and intense climacteric respiration. Active coatings incorporated with antimicrobial agents have been widely studied aiming at controlling fungi and maintaining fruit quality. The present study aims to evaluate the formulations of active coatings with different polymeric bases and natural active agents applied in the control of anthracnose in papaya. The efficiency of the coatings in the *in vitro* inhibition of anthracnose was also evaluated, as well as the *in vivo* application of the coatings to evaluate their effects in the control of anthracnose, enabling the preservation of quality and increasing the storage time of papayas. First, *in vitro* tests were performed to verify the mycelial growth and germination of conidia of the fungus *C. theobromicola*, against the proposed coatings: starch, chitosan and carboxymethyl cellulose. Subsequently, tests were performed to study the mechanism of inhibition of mycelial growth and conidial germination of the carboxymethyl cellulose coating incorporated with hydroalcoholic extract of *Momordica charantia* L., essential oil of *Azadirachta indica* A. Juss. and hydroalcoholic extract of *Azadirachta indica* A. Juss, against the fungus *Colletotrichum okinawense*, evaluating the micromorphology of the fungus with the aid of microscopy. The *in vivo* tests were performed with the concentration that provides the lowest germination of conidia, identified in the *in vitro* tests. Evaluations of mass loss, color analysis, firmness, titratable acidity, pH, soluble solids, total sugars, reducing sugars and vitamin C of the fruits were also performed, in addition to the quantification of the area of fungal growth in order to compare the fruits that received treatment with the control fruits. Statistical analyses were performed using the Jamovi program, with analysis of variance and Tukey's test at 5%, and the graphs were made using the Origin program.

This study showed that CMC is a low-cost polymeric base with great potential to be used to prepare active coatings. Furthermore, when associated with natural products, it can inhibit germination and control the mycelial growth of fungi that cause anthracnose, contributing to the post-harvest preservation of papaya. Fruits coated with chitosan and CMC containing neem oil showed fungal growth after 12 days, while fruits in the control treatment began to grow after 18 days, indicating that the coatings served as a culture medium for fungal growth. In the analysis of the physical-chemical characteristics of the fruits, it was found that the coatings delayed the ripening process, minimizing changes in skin color, pulp acidity, sugar and ascorbic acid content. However, the chitosan coating caused a significant loss of ascorbic acid after 30 days of refrigerated storage.

Keywords: *Carica papaya* L., *C. theobromicola*, *C. okinawense*, chitosan, carboxymethyl cellulose, starch, *Momordica charantia* L., *Azadirachta indica* A. Juss.

1. INTRODUÇÃO

O mamão é um fruto amplamente consumido em todo o mundo devido às suas qualidades sensoriais e às propriedades nutricionais de sua polpa do fruto, que é rica em carotenoides, ácidos fenólicos e flavonóis. Além de ser consumido *in natura*, o fruto também é importante para a produção de produtos processados e para a indústria de cosméticos (Serrano e Caetano, 2010; Carvalho et al., 2017).

O Brasil é um grande produtor de mamão. Somente no ano de 2022 produziu 1,107 milhão de toneladas de frutos, com uma área de produção de 26,4 mil hectares. Os estados do Espírito Santo e da Bahia são os dois maiores produtores de frutos (FAOSTAT 2024).

O mamão é considerado um fruto climatérico, ou seja, consegue completar seu amadurecimento mesmo fora da planta, o que implica em um pico na respiração do fruto e na produção de etileno durante esse processo. Essa respiração característica de frutos climatéricos acelera a senescência do fruto, trazendo consequências negativas, como perda de peso e sabor, que implicam em redução do valor comercial e em perdas de produção (Zucchini et al., 2017).

O mamão também é muito suscetível à incidência de fungos, principalmente do gênero *Colletotrichum*, responsáveis pela doença antracnose. Essa doença acomete frutos de qualquer idade, se manifestando em frutos maduros. Ela provoca uma lesão arredondada no fruto e ali ocorre o crescimento fúngico (Costa et al., 2022).

Para manter de forma adequada a qualidade do mamão é importante o acondicionamento do fruto em condições ideais de temperatura e umidade além de utilizar tecnologias que visem diminuir a contaminação fúngica do fruto (Silva et al., 2015).

A tecnologia comumente utilizada nas agroindústrias para tratamento dos mamões para o mercado externo consiste na aplicação de um banho hidrotérmico com o objetivo de controlar a incidência de mosca das frutas e a aplicação de fungicida. No entanto, compreender como reduzir o impacto de doenças fúngicas no mamão sem contaminar o ambiente e prejudicar a saúde humana é um desafio importante que é necessário alcançar (Assis e Brito, 2014).

Diante das exigências do mercado consumidor por frutas com alto padrão de qualidade, apresentem segurança alimentar, que sejam produzidas em sistemas de produção com baixo impacto ambiental e com justiça social, as tecnologias baseadas no uso de revestimento ativo incorporado a produtos naturais têm sido uma estratégia eficiente para controlar os fitopatógenos, para manter as características organolépticas e aumentar o tempo de armazenamento dos frutos (Oliveira et al., 2015).

Diversas são as bases poliméricas que podem ser utilizadas para o preparo de revestimento ativo, neste trabalho será explorado o uso de quitosana, amido e carboximetilcelulose (CMC) incorporados aos produtos naturais.

Produtos naturais oriundos de plantas, como os extratos e óleos essenciais têm apresentado grande importância, se mostrando-se como uma alternativa viável, biodegradável e não fitotóxica em relação frente aos fungicidas sintéticos, podendo ser incorporados a uma matriz polimérica e aplicados nos frutos (Jinga et al., 2018).

O extrato oriundo das folhas de *Momordica charantia* L. (melão de São Caetano) tem sido estudado devido à sua ação fungicida. Celoto et al. (2008) identificou que o extrato aquoso de *Momordica charantia* L. inibe o crescimento do fungo *Colletotrichum gloesporioides*, quando comparado com outros extratos.

Óleo e extrato de *Azadirachta indica* A. Juss (árvore de Nim) são descritos na literatura como eficientes produtos naturais inseticidas e antimicrobianos. O óleo de *Azadirachta indica* A. Juss inibiu o crescimento micelial dos fungos *Rhizoctonia solani*, *Scletorium rolfsii*, *Colletotrichum* spp. e *Phytophthora capsici* (Duong et al., 2015). Já o extrato aquoso de *Azadirachta indica* A. Juss nas concentrações de 15% e 20 %, inibiu o crescimento e esporulação dos fungos *Curvularia brachyspora*, *Fusarium* sp. e *Rhizopus stolonifer* (Miyae Shamsi, 2017).

Assim, os extratos vegetais e óleos essenciais incorporados nos revestimentos ativos possuem grande potencial para estender a vida útil dos frutos, contribuindo para a melhoria da segurança alimentar e da segurança dos alimentos (Rosseto et al., 2021).

Embora existam relatos na literatura demonstrando que diferentes revestimentos ativos associados a extratos e óleos vegetais são eficazes para inibir o crescimento de fungos do gênero *Colletotrichum* e aumentar o tempo de armazenamento de mamões, verifica-se que é de extrema importância entender

como tais revestimentos agem sobre o fungo, ou seja, entender como ocorre a inibição do fungo e verificar como diferentes componentes ativos estão envolvidos na inibição do crescimento fúngico.

O presente trabalho apresenta como novidade o estudo comparativo do crescimento micelial e germinação de conídios de fungos do gênero *Colletotrichum* em revestimentos ativos preparados com diferentes bases poliméricas. Além disso, avalia as possíveis diferenças nos mecanismos de ação do princípio ativo do extrato de *Momordica charantia* L. e extrato de *Azadirachta indica* A. Juss, comparado com o óleo de *Azadirachta indica* A. Juss. Tais características dos princípios ativos podem interferir na interação dos revestimentos ativos com o possível efeito diferenciado sobre a inibição do crescimento dos fungos, quando avaliados nas concentrações nos ensaios *in vitro*. A investigação dos extratos obtidos de *Momordica charantia* L. e de *Azadirachta indica* A. Juss e do óleo vegetal, obtido de *Azadirachta indica* A. Juss., tem o objetivo de avaliar o efeito desses componentes obtidos de uma mesma matriz biológica sobre a eficiência dos revestimentos no controle da doença. A eficiência do extrato aquoso de *Momordica charantia* L. na inibição *in vitro* da antracnose já foi verificada em trabalho prévio de Gomes et al. (2020).

A Tese está organizada em três capítulos. No primeiro capítulo, intitulado “Efeito inibitório de revestimentos com diferentes bases poliméricas na germinação e crescimento *in vitro* de fungo causador de antracnose”, é abordado um estudo para verificar a base polimérica, dentre as mais utilizadas na literatura, que propicie o crescimento e germinação fúngica além do baixo custo. Já no segundo capítulo, intitulado “Inibição da germinação e do crescimento *in vitro* do fungo *Colletotrichum okinawense* com revestimento de carboximetilcelulose incorporados com diferentes agentes ativos”, foi realizado uma investigação de revestimentos desenvolvidos com a base de carboximetilcelulose com diferentes agentes ativos, para verificar a germinação e o crescimento *in vitro* do fungo *C. okinawense*. E, no terceiro e último capítulo, intitulado “Controle de fungo *Colletotrichum okinawense* com uso de revestimentos ativos incorporados com produtos naturais durante o armazenamento de mamão ‘aliança’”, foi verificado o uso dos revestimentos ativos com produtos naturais para o controle do fungo *C. okinawense*, durante o armazenamento dos frutos de mamão. Sendo assim, cada capítulo faz uma

abordagem a fim de selecionar uma base polimérica a ser utilizada, verificar a ação dos revestimentos ativos no fungo *in vitro* e, posteriormente, *in vivo*.

Diante disso, o objetivo do trabalho é avaliar as formulações de revestimentos ativos com diferentes bases poliméricas e agentes ativos naturais aplicados no controle de antracnose do mamão. Também será avaliada a eficiência dos revestimentos na inibição *in vitro* da antracnose, bem como a aplicação *in vivo* dos revestimentos para avaliar os seus efeitos no controle da doença, possibilitando a preservação da qualidade e aumento do tempo de armazenamento dos frutos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cultura do mamão

O mamoeiro pertence à classe *Dicotyledoneae*, subclasse *Archichlamydeae*, ordem *Violales*, subordem *Caricineae*, família *Caricaceae* e gênero *Carica*. A família *Caricaceae* possui cinco gêneros e 34 espécies. A distribuição do número de espécies nos cinco gêneros ocorre da seguinte forma: *Cylicomorpha* (duas espécies), *Jacaratia* (sete espécies), *Horovitzia* (uma espécie), *Jarilla* (três espécies) e *Carica* (21 espécies). O gênero *Carica* possui duas seções: seção *Carica* (*C. papaya*) e seção *Vasconcella* (20 espécies). A diferenciação das espécies da família *Caricaceae* ocorre basicamente devido à variabilidade genética das folhas, inflorescências, flores, frutos e sementes. Dentro do gênero *Carica*, a espécie *Carica papaya* L. é a única conhecida comercialmente e cultivada na maioria dos países tropicais como uma cultura alimentar (Badillo, 1993).

Não se conhece o local de origem de *C. papaya*, mas há relatos na literatura de que sementes de *C. papaya* foram encontradas no Panamá e na República Dominicana antes de 1525. Acredita-se que o cultivo de *C. papaya* se espalhou para o Sul do México, América Central, Índias Ocidentais, Bahamas e Bermuda em 1616, sendo, posteriormente, a planta foi introduzida em todas as regiões tropicais e subtropicais do como uma cultura de plantação (Dantas et al., 2001).

As plantas da espécie *Carica papaya* L. apresentam crescimento rápido, medem cerca de 3,0 a 10,0 metros de altura, podem ser monoicas, dioicas ou hermafroditas, apresentando flores de coloração branca que podem ser masculinas, femininas ou hermafroditas (Figura 1 B). O caule da planta apresenta 0,20 metros de diâmetro. As folhas são intercaladas com limbos foliares medindo até 0,70 metros de diâmetro (Figura 1 A). O sistema radicular é classificado como pivotante, com ramificações radiais (Cotrut et al., 2017; Wadekar et al., 2021).

O fruto do mamoeiro apresenta o formato ovoide, esférico, ou piriforme, medindo, em média, de 2 a 10 cm de comprimento por 1,5 a 6 cm de largura. Apresentam polpa de coloração verde e quando está maduro sua coloração varia entre amarela, alaranjada, ou avermelhada, sendo geralmente oco (Figura 1 C e 1 D). Em plantas silvestres, o interior pode ser completamente preenchido por

sementes e massa placentária. As sementes são pequenas, de 5 a 7 mm, mucilaginosas, lisas, e com numerosas protuberâncias irregularmente dentadas, em formas de cristas meridianas agudas e irregulares, e bastante próximas entre si (Cotrut et al., 2017).



Figura A



Figura B



Figura C



Figura D

Figura 1: Imagens fotográficas das estruturas da planta de *Carica papaya* L. (A) folhas; (B) flor feminina; (C) fruto verde; (D) fruto maduro. Fonte: Wadekar et al., 2021; Acervo pessoal.

A polpa do fruto maduro de *C. papaya* L. é rica fonte de nutrientes, como carotenoides, ácidos fenólicos e flavonóis, desempenhando um papel importante como suplemento nutricional antioxidante (Nafiu et al., 2019). Além do fruto in natura, o mamão também é consumido na forma processada, como em geleias, sucos, iogurtes e doces (Dotto et al., 2021).

Segundo FAOSTAT (2024), no ano de 2022, o Brasil produziu 1,107 milhão de toneladas de frutos de mamão, com uma área de produção de 26,4 mil hectares, se destacando-se no volume de exportação do fruto, que foi de 39,8 mil toneladas.

As regiões Sudeste e Nordeste são os principais polos de produção do fruto, sendo que os principais estados produtores são: Espírito Santo, abrigando em Linhares o maior polo brasileiro de beneficiamento desse fruto para consumo interno e exportação, e Bahia, seguido de Rio Grande do Norte, Ceará e Minas Gerais.

O genótipo 'Sunrise Golden', amplamente cultivado comercialmente, é proveniente de seleção de plantas, realizada na empresa Caliman Agrícola S/A., no Estado do Espírito Santo. Possui frutos hermafroditas de formato piriforme, a cor da polpa é rosa-salmão, cavidade interna estrelada, casca lisa, tamanho uniforme, com peso médio de 450 g, apresentando excelente aspecto visual. No estágio verde, a casca apresenta coloração verde clara. São frutos de boa aceitação no mercado internacional e apresenta alta variabilidade genética (Costa et al., 2015).

A variedade 'Rb 001-4 Aliança', pertencente ao grupo solo, foi uma cultivar selecionada no ano de 2010 por Marin, na Rubisco Genética, e ocupa cerca de 70 % da área cultivada de mamão no estado do Espírito Santo. Destaca-se por sua tolerância à mancha fisiológica do mamoeiro, além de apresentar uma polpa consistente e de qualidade, atendendo o mercado interno e externo (Marin et al, 2018).

O mamão é classificado como fruto climatérico. Mesmo com a cor da casca ainda verde (embora fisiologicamente maduros), o fruto consegue completar seu amadurecimento fora da planta-mãe. A respiração do fruto apresenta uma curva característica: na primeira fase acontece um pequeno consumo na quantidade de Oxigênio (O_2), sendo denominada fase pré-climatérica; e em seguida há um aumento de consumo de oxigênio (O_2), caracterizando a ascensão climatérica até atingir o seu máximo. Após esse ponto há pequena redução na taxa respiratória, com decréscimo na absorção de O_2 (Silva et al., 2015).

Por ser um fruto climatérico, durante seu processo de amadurecimento o mamão tem um acentuado pico na respiração e na produção de etileno, que é responsável por acelerar o processo de maturação (Gonçalves, 2013). Durante o processo de maturação, se o fruto for armazenado em altas temperaturas e condições inadequadas de umidade, a senescência pode acontecer de forma mais rápida (Prill et al., 2012).

Durante a maturação do mamão, sua taxa respiratória pode ser aumentada de duas a quatro vezes, chegando a um aumento de até nove vezes. O aumento da taxa respiratória provoca consequências negativas na conservação do fruto,

visto que promove aceleração na senescência, reduz o valor comercial e promove perda de sabor e peso (Oliveira et al., 2018).

2.2. Perdas pós-colheita e doenças no mamoeiro

Perdas pós-colheita são perdas que ocorrem no processo de colheita, durante o transporte, armazenamento e comercialização dos frutos. No caso do mamão, estão atreladas características o como rápido amadurecimento e o desenvolvimento de microrganismos que afetam sua qualidade final, e resultam em grandes prejuízos (Barros et al., 2019).

O mamão apresenta alta susceptibilidade à infecção por fungos, visto que, durante seu amadurecimento ocorre aumento dos sólidos solúveis e aumento de pH, tornando o fruto um substrato atraente para os fungos. O ponto de colheita ideal, o manuseio pós-colheita e o transporte e armazenamento do fruto em condições ideais de temperatura e umidade são importantes para garantir a qualidade do fruto e minimizar perdas pós-colheita (Silva e Soares, 2001).

Os frutos do mamoeiro também apresentam respiração climatérica, ou seja, continuam sua maturação depois da colheita, o que implica em altas taxas respiratórias e produção de etileno, tornando-os mais perecíveis quando armazenados em temperatura ambiente. O controle do amadurecimento é importante para prolongar a conservação dos frutos (Silva et al., 2015).

As doenças do mamoeiro estão atreladas à região de cultivo, às condições edafoclimáticas do local, ao manejo da cultura, aos vetores presentes na região, à densidade do inóculo e ao propósito da produção, se destinado ao mercado interno ou externo. Essas doenças têm grande impacto na economia, pois inviabilizam a comercialização dos frutos (Costa e Martins, 2015).

Dentre as principais doenças do mamoeiro, as que acontecem na pós-colheita são as podridões superficiais, podridões pedunculares e podridões internas que são provocadas por fungos dos gêneros *Colletotrichum*, *Lasiodiplodia*, *Fusarium*, *Phoma*, *Rhizopus*, entre outros. Esses fungos são responsáveis por reduzir a qualidade dos frutos e provocar grandes perdas na produção (Costa e Martins, 2015).

Segundo Chitarra e Chitarra (2005), as perdas pós-colheita de mamão no Brasil chegam na ordem de 30% e estão atreladas à colheita e transporte inadequados; ausência de classificação no beneficiamento dos frutos; falta de cadeia de frio; embalagens e falta de tratamentos auxiliares, como o uso de reguladores vegetais que retardam os processos relacionados à maturação e senescência dos frutos em pós-colheita e a aplicação de fungicidas que evitam doenças pós-colheita.

2.3. Fungos do gênero *Colletotrichum* e a antracnose

A antracnose é considerada uma das principais doenças do mamoeiro provocada por fungos do gênero *Colletotrichum*. A doença geralmente acontece no campo durante os estágios de floração e frutificação, e alguns fatores como umidade, temperatura, condições do fruto e concentração do inóculo podem afetar a infecção. A infecção do fungo no fruto inicia com a germinação dos conídios e em seguida, acontece a formação de apressórios e cavilhas de penetração, estruturas fúngicas que auxiliam na penetração nos tecidos do hospedeiro. A penetração direta nos tecidos pode ocorrer através de feridas ou aberturas naturais (Jeffries et al., 1990).

O gênero *Colletotrichum*, pertencente à família *Glomerellaceae* apresenta cerca de 190 espécies, podendo provocar doenças em cereais, leguminosas, frutos e vegetais. A doença que é conhecida como antracnose é responsável por grandes perdas globais na produção (Moraga et al., 2019).

As espécies de fungos *Colletotrichum* usam diferentes estratégias de infecção, podendo ser a hemibiotrofia intracelular (onde o fungo inicia a infecção se nutrindo do vegetal e ao atingir a fase de desenvolvimento e colonização, o fungo provoca a morte do tecido vegetal) ou necrotrofia subcuticular (que é a destruição do tecido vegetal). Além disso, os fungos de gênero *Colletotrichum* podem produzir metabólitos fitotóxicos para o vegetal, liberar enzimas, como a celulase, que degradam a parede celular vegetal, modificar metabólitos antimicrobianos das plantas, e secretar efetores de proteínas que reprogramam a imunidade celular do hospedeiro. As diferentes estratégias utilizadas dependem das espécies de *Colletotrichum*, da espécie hospedeira, da maturidade fisiológica do hospedeiro e das condições ambientais. Ambas são utilizadas pelo fungo para facilitar a infecção

de plantas hospedeiras e para garantir que a infecção ocorra com sucesso (Joshi, 2018; Gomes et al., 2021).

Dentre as várias espécies de *Colletotrichum*, a espécie mais citada na literatura como responsável pela incidência de antracnose era o *Colletotrichum gloesporioides*, considerado o oitavo fitopatógeno mais importante do mundo (Moraga et al., 2019). Mas recentemente, sabe-se que vários fungos são responsáveis pela antracnose, dentre eles: *Colletotrichum okinawense*, *C. gloesporioides*, *C. theobromicola*, *C. fructicola*, *C. chryshophilum*, *C. plurivorum*, *C. truncatum*, *C. Karsti*, *C. siamense* e *C. queenslandicum* e cada fungo se destaca na prevalência e letalidade da doença, sendo o fungo *C. okinawense* o mais prevalente, encontrado em nove estados produtores de mamão (Vieira et al, 2022).

Quando os conídios de *Colletotrichum* atingem frutos verdes, eles germinam em várias horas, diferenciam os apressórios em cerca de 19 horas e adotam a quiescência ou latência, onde vão permanecer dormentes nos tecidos do hospedeiro. Ocorre formação de um pino de penetração na cutícula do fruto para produzir uma estrutura dendrítica que penetra nas células da epiderme do fruto para formar uma estrutura hifal inchada. Essas estruturas permanecem quiescentes até o amadurecimento dos frutos e, então, se diferenciam-se em hifas necrotróficas finas e longas (Prusky et al., 2013).

Os sintomas da antracnose aparecem após a colheita, durante o armazenamento, o transporte e a comercialização dos frutos. A antracnose provoca lesões arredondadas e profundas nos frutos, que podem chegar a uma área de até 5 cm (Figura 2). Nas lesões é observado um crescimento fúngico de coloração róseo que, posteriormente, se torna escuro, constituindo as estruturas reprodutivas dos fungos. O tecido interno da área infectada é firme, apresenta uma descoloração acinzentada que, ao longo do tempo, torna-se marrom. As lesões são profundas e podem se desprender dos tecidos sadios, deixando um orifício no fruto. Essas lesões na superfície deixam os frutos pouco atraentes para os consumidores e conseqüentemente reduzem o valor de mercado desses frutos. (Costa e Martins, 2015).

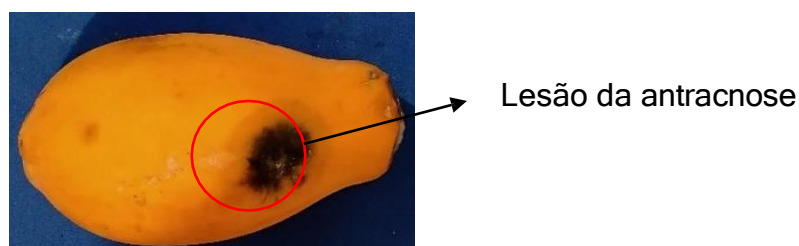


Figura 2: Fruto de mamão com lesão da antracnose. Fonte: Acervo pessoal.

Além dos frutos, outras partes da planta como folhas, flores e galhos podem ser infectadas pelo patógeno da antracnose. Os conídios e esporos formados nesses tecidos infectados são, posteriormente, liberados e dispersos durante os dias chuvosos por meio de respingos de água, ou durante períodos de alta umidade, tornando-se o inóculo primário para infecção de frutos na fase de pré- colheita de mamão (Talinhas et al., 2011).

2.4. Mecanismos de inibição de compostos bioativos sobre os fungos

Há relatos na literatura que o mecanismo de ação de compostos bioativos sobre fungos envolve coagulação citoplasmática, inibição de enzimas fúngicas e distúrbios no material genético, que vão inibir a germinação de esporos e o crescimento micelial (Burt, 2004; Liu et al., 2007; Hernández-Lauzard et al., 2006; Rabea et al., 2003; Meng et al., 2010).

Mohammadi et al. (2015) sugerem os óleos essenciais provoquem alterações na estrutura da parede celular do fungo, enquanto a quitosana afeta a morfogênese da parede celular, favorecendo com que aconteça a morte da célula fúngica.

Alguns fatores podem influenciar no mecanismo de ação da base polimérica, associada com óleo essencial contra fungos, tais como: tipo do óleo essencial, eficácia da matriz polimérica em liberar compostos antimicrobianos, do tipo de fruta, do tipo de microrganismo patogénico e da taxa de respiração do fruto (Park et al., 2008). Fatores como complexo sistema hospedeiro, tipo do patógeno, características do composto antimicrobiano e da resistência da casca de frutos à

difusão do composto antimicrobiano podem impactar a atividade biológica de alguns compostos (Yuan et al., 2016).

Os óleos essenciais possuem atividade antimicrobiana sobre diversos microrganismos e esta atividade não pode ser explicada por um único mecanismo de ação. Grande-Tovar et al. (2018) descrevem que vários mecanismos de ação podem acontecer quando se usa quitosana associada com óleo essencial, tais como: alteração da superfície e estrutura da parede celular; aumento na captação de oxigênio; rompimento da quitina; mudança conformacional da quitina-sintase; desestabilização da membrana citoplasmática; interação com proteínas e porinas e vazamento de íons citoplasmáticos (K^+); rompimento das membranas celulares (isto é, nuclear e mitocondrial); produção de espécies reativas de oxigênio (ROS); interação com o DNA e inibição da síntese de RNA e a inibição da síntese de proteínas.

O mecanismo de ação considerado mais importante está relacionado com danos nas propriedades funcionais e estruturais da membrana celular, já que esta membrana é muito importante para a viabilidade e crescimento do fungo. Por serem hidrofóbicos, os óleos essenciais conseguem interagir com a membrana celular do fungo e ser incorporado por esta membrana, causando perturbações internas nas células do fungo, como: mudanças na fluidez, aumento da permeabilidade da membrana da célula, perda de material intracelular, inibição da absorção de nutrientes e morte celular (da Silva et al., 2021).

A parede celular dos fungos apresenta uma estrutura rígida e dinâmica e são muito importantes para o crescimento e desenvolvimento celular. É ela que determina o formato da célula, garante a proteção física, suporte osmótico, adesão e reprodução (Kaori Fakuda et al., 2009).

Os componentes mais abundantes da parede celular dos fungos são quitina, glucanas, galactomananas e proteínas, além disso apresentam polissacarídeos, lipídeos, polifosfatos e íons inorgânicos (Adams, 2004). Os componentes da parede celular dos fungos são importantes, pois são os alvos para o mecanismo de ação dos componentes bioativos (Bergold et al., 2004).

Já os extratos aquosos também são muito utilizados para controlar microrganismos patogênicos, embora o mecanismo de ação de extratos aquosos contra fungos não seja bem descrito na literatura. Segundo da Silva et al. (2021), o

extrato de alho impede germinação de estruturas reprodutivas e inibe a formação de tubo germinativo de *Candida albicans*.

2.5. Uso de revestimento ativo

Os revestimentos ativos são uma camada fina e contínua que é depositada e formada no alimento atuando como uma barreira contra a umidade e os gases, protegendo o alimento e aumentando sua vida útil (Elsabee e Abdou, 2012).

Os revestimentos ativos são formados a partir de diferentes materiais, sendo os polissacarídeos os mais utilizados. Esses polímeros naturais são facilmente preparados e apresentam grande disponibilidade e facilidade de obtenção na natureza, quando comparados aos polímeros sintéticos. Os polissacarídeos mais utilizados são amido, quitosana e goma arábica (Azevedo et al., 2007).

Os revestimentos ativos promovem interação entre o produto, o filme e o ambiente, tendo como objetivo aumentar a vida útil dos frutos, e atuar como barreira a gases e ao vapor de água. Além disso, os revestimentos ativos modificam a atmosfera interna dos frutos, reduzem sua degradação, aumentam a sua vida útil e atuam como carreadores de compostos antimicrobianos, antioxidantes, entre outros (Oliveira Filho et al., 2021).

A aplicação de revestimentos em frutos leva à formação de uma cobertura na sua superfície externa e preenche parcialmente os estômatos e lenticelas, reduzindo a transferência de umidade e as trocas gasosas dos frutos. A aplicação do revestimento no fruto pode acontecer por meio de (i) imersão rápida do fruto em uma solução filmogênica (o alimento é imerso em uma solução filmogênica, posteriormente é retirado e deixado em repouso até que a água evapore e a película se forme sobre o fruto), conforme ilustra a Figura 3, ou (ii) por meio de aspersão da solução sobre o fruto (Oliveira Filho et al., 2021).

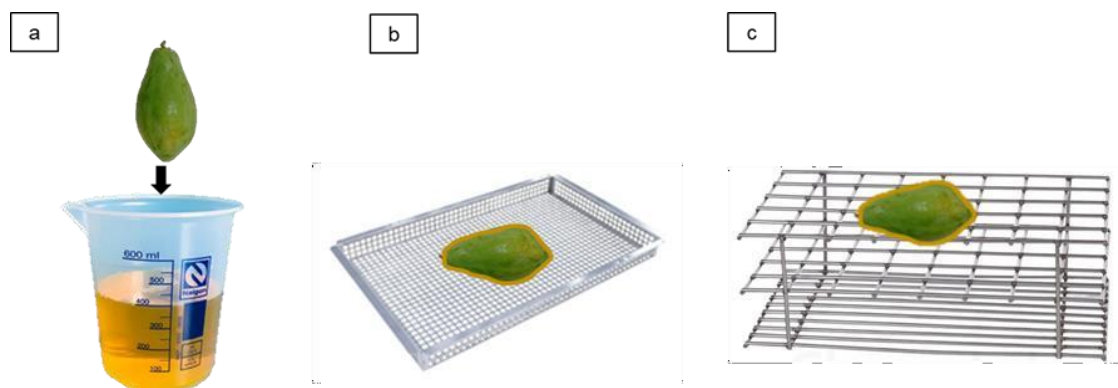


Figura 3: Esquema da formação do revestimento no mamão. (A) aplicação do revestimento, (B) Drenagem do revestimento ativo onde é observada a evaporação da água do revestimento e reticulação do polímero formando a cobertura no fruto, (C) secagem do fruto em estantes para formação de uma camada estável. Fonte: Acervo pessoal.

Segundo Salgado et al. (2015), para a preparação de uma solução filmogênica, é necessária a mistura de alguns compostos, tais como: agentes formadores de matriz (polissacarídeo, proteínas ou lipídeos), um solvente (água, etanol ou a mistura de água e etanol) e um agente plastificante (Glicerol, sorbitol, ácidos graxos etc.). Além disso, outros aditivos podem ser incorporados no revestimento, como: agentes surfactantes, quando a matriz é lipídica (Tween 80, lecitina etc.), ajustadores de pH (ácido acético, hidróxido de amônia etc.), compostos bioativos antioxidantes ou antimicrobianos, quando for necessário (Silva et al., 2013; Ferreira, 2006).

2.6 - Aditivos em revestimentos

Os aditivos utilizados para elaboração de revestimentos ativos possuem a função de melhorar as características do revestimento. Podem ser incorporados ao revestimento: agentes plastificantes, agentes surfactantes, agentes antimicrobianos e agentes antioxidantes (Salgado et al., 2015).

2.6.1- Plastificantes

Os plastificantes são moléculas importantes para a formulação de revestimentos com matriz de polissacarídeos, pois é capaz de modificar as

propriedades dos filmes diminuindo a rigidez e aumentando a flexibilidade (Gontard et al., 1993). O plastificante mais utilizado na elaboração de revestimentos é o glicerol (Swain et al., 2004).

É importante definir adequadamente a concentração ideal de plastificante a ser utilizada, visto que baixas concentrações resultam em baixa flexibilidade e baixa hidrofobicidade. Já as altas concentrações resultam em um revestimento pegajoso e de difícil aplicação (Gaudin et al., 2000; Mali et al., 2005; Chang et al., 2006; Shimazu et al., 2007).

O glicerol é um líquido incolor, de gosto adocicado, viscoso, sem cheiro e derivado de fontes naturais ou petroquímicas. A solubilidade do glicerol em água e sua higroscopia são explicadas por sua estrutura que apresenta três grupos hidroxila (Beatriz et al., 2011). Quando é adicionado no revestimento, o glicerol, através de pontes de hidrogênio, interage com as cadeias de polissacarídeos e diminui as interações intermoleculares, resultando no aumento da flexibilidade (Shimazu et al., 2007).

2.6.2. Surfactantes

Os agentes surfactantes são substâncias que apresentam uma parte polar e outra apolar, tendo afinidade com água e com lipídeos, apresentam a função de diminuir a tensão superficial e influenciar na superfície de contato de dois líquidos. O principal surfactante utilizado em revestimento ativo é o Tween 80 (Janjarasskul e Krochta, 2010; Rodriguez et al., 2006).

O Tween 80 é muito utilizado em revestimentos ativos que contenham óleos essenciais para melhorar a solubilização do material hidrofóbico (óleo essencial) em água. Sua fórmula química é $C_{64}H_{124}O_{26}$ e possui densidade de 1,06 g/cm³ (Pinto, 2012).

2.6.3. Antimicrobianos

Compostos bioativos também podem ser incorporados nos revestimentos, surgindo como uma alternativa ao uso dos conservantes químicos, visto que mantêm a qualidade do produto, contribuem para um maior prazo de validade,

favorecem a sustentabilidade do planeta por serem compostos biodegradáveis, além disso, não provocam malefícios para a saúde humana (Petkoska et al., 2021).

Os compostos bioativos, tais como óleos essenciais (OEs) e extratos aquosos ou etanólicos (EA/ EE) são extraídos de plantas e contribuem para o desenvolvimento de tecnologias ecologicamente corretas que possam melhorar as propriedades dos alimentos de rápida deterioração, como ocorre com as frutas (Bermúdez-Oria et al., 2017; Rosseto et al., 2021). Estes compostos bioativos também se mostram formas alternativas de controlar doenças de plantas, pois possuem ação fungitóxica, conseguindo inibir o crescimento micelial e a germinação de esporos dos fungos (Jinga et al., 2018).

As plantas produzem dois tipos de componentes orgânicos: os metabólitos primários que atuam nas funções biológicas fundamentais da planta e os metabólitos secundários, que atuam na sobrevivência da planta diante da competição do ambiente (Vizzotto et al., 2010). Os metabólitos secundários são uma forma de defesa natural das plantas contra patógenos e predadores (Santos, 2015; Jamal et al., 2008).

Após aplicação do revestimento, as substâncias bioativas provenientes do metabolismo secundário das plantas, conseguem migrar para o alimento e provocam aumento da fase hidrofóbica do polímero, redução da tendência do filme à capacidade de adsorção de água, e diminuição da permeabilidade ao vapor de água, formando uma estrutura mais compacta. Além disso, atuam como barreira, dificultando a entrada de patógenos na superfície do alimento (Fuciños et al., 2012; Rangaraj et al., 2021).

Os óleos essenciais são metabólitos secundários, que podem ser extraídos de plantas via métodos de hidrodestilação, destilação a vapor, extração por solventes orgânicos, extração por fluido supercrítico e prensagem a frio (Ríos e Recio, 2005; Yusoff, 2011; Barros, 2014). São compostos por fenóis, aldeídos, cetonas, terpenos, carboidratos, éteres e álcoois (Vianna et al., 2021). Os OEs possuem atividade antioxidante, antimicrobiana e podem aprimorar as propriedades de barreira dos revestimentos ativos (Fiore et al., 2021). São utilizados como substituintes de conservantes químicos, por serem aprovados como aditivos pela Food and Drug Administration (FDA) (Sharma et al., 2021).

Seydim et al. (2020) constataram que revestimentos comestíveis de proteína do soro do leite contendo óleos essenciais de orégano e alho são eficazes na inativação microbiana de queijo fatiado.

A utilização de revestimento ativo à base de O carboximetilquitosana associado ao óleo essencial de orégano é eficiente na redução da perda de massa de goiabas em até 81% e diminuição da velocidade do crescimento de bolores e leveduras nas frutas revestidas, quando comparadas às frutas sem cobertura (Tavares et al., 2018).

Óleo essencial de cravo-da-índia incorporado no revestimento à base de fécula de mandioca é eficiente no controle da antracnose e nas características físico-químicas do mamão (Santos et al., 2019).

Melgão et al. (2018) verificaram que o revestimento ativo à base de quitosana associado com óleo essencial de mentol se mostrou eficiente para conservação pós-colheita de morangos.

Embora o uso de óleos essenciais apresente muitos benefícios, vale destacar que eles apresentam algumas limitações, como baixa solubilidade, alta volatilidade, aroma forte e a possibilidade de afetar negativamente as propriedades organolépticas dos alimentos (Sharma et al., 2021).

Já os extratos vegetais que também são extraídos de plantas, geralmente das folhas, com um solvente que pode ser água ou álcool, apresentam em sua composição substâncias biologicamente ativas que podem atuar contra patógenos de plantas (Gelinski et al., 2007). Os extratos vegetais possuem ação antimicrobiana e são inofensivos ao meio ambiente, quando comparados às substâncias sintéticas (Phatik et al., 2014; Choudhury et al., 2018).

Pesquisas *in vitro* e *in vivo* estão relatadas na literatura e demonstram que diversos patógenos podem ser controlados com extratos vegetais. O *Colletotrichum gloesporioides*, agente que provoca antracnose em frutos de mamão, pode ser controlado com uso de extrato cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) e canela (*Cinnamomum zeylanicum*) nas concentrações de 15% em revestimento de quitosana (Casemiro et al., 2019). Extratos de gengibre e graviola também são eficazes para combater o *C. gloesporioides*, causador da antracnose do mamão (Alves et al., 2020).

Segundo Rocha (2019), o extrato da folha de *Prosopis Juliflora* (Sw) apresenta potencial antifúngico contra *C. gloesporioides* do cajueiro.

Em frutos de morangos, o extrato vegetal aquoso de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius Raddi*) atrasa o crescimento micelial do fungo fitopatogênico *Colletotrichum*, agente causal da antracnose em morangueiro (Melo e Zacharias, 2019).

2.7. Revestimento ativo de quitosana

A quitosana é um polissacarídeo derivado do processo de desacetilação da quitina em altas temperaturas. É encontrada no exoesqueleto de crustáceos, moluscos, parede celular de fungos e insetos (Cong et al., 2007). A molécula de quitosana (Figura 4) é formada por um grupo amina, na posição C-2, e dois grupos hidroxilo, nas posições C-3 e C-6. Alterações nestes grupos conferem diferenças nas características do produto, o que caracteriza suas diferentes aplicações do produto (Carvalho, 2020).

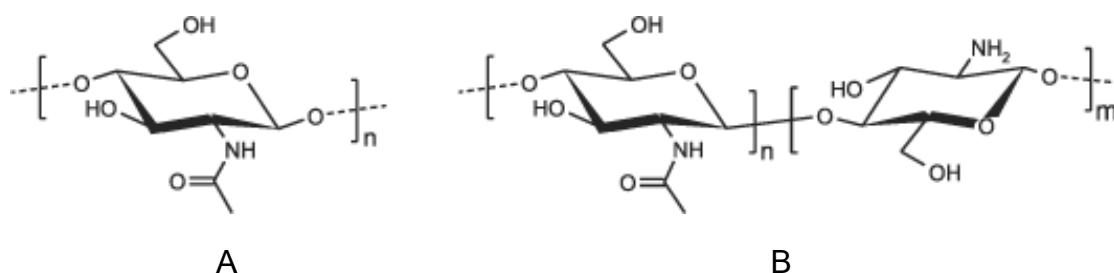


Figura 4: Estrutura química da quitina (A) e quitosana (B). Fonte: Silva et al. (2006).

A quitosana é um composto muito estudado devido suas propriedades físicas e biológicas. Ela é utilizada para formulações de cosméticos, produtos farmacêuticos, aplicações em biotecnologia, na agricultura e no processamento de alimentos (Alishah et al., 2011).

O produto é solúvel em solução com pH menor que 5, e quando é neutralizada, forma o filme (Porter et al., 2000). A quitosana forma revestimentos resistentes e apresenta características de baixo custo, é biodegradável, com propriedades antifúngicas e antimicrobianas. Além disso, possui permeabilidade seletiva aos gases (CO₂ e O₂) e boas propriedades mecânicas (Martínez-Camacho et al., 2010). O revestimento formado com a quitosana cria uma barreira semipermeável, controlando as trocas gasosas e diminuindo a perda de água,

mantendo a firmeza dos tecidos e reduzindo a degradação microbiana dos frutos, aumentando sua vida prateleira (Dong et al., 2004).

A quitosana é um composto inodoro, insípido e quando aplicada no alimento é capaz de formar um filme transparente, portanto não altera as propriedades dos alimentos (Campana-Filho et al., 2007; Shao et al., 2015).

Segundo Bautista-Baños et al. (2003), a quitosana mantém a qualidade de frutas e vegetais, reduz a taxa de respiração, reduz a produção de etileno e a transpiração. Também apresenta propriedades fungistáticas e/ou fungicidas contra patógenos que atacam diversas frutas e vegetais.

Estudos em pós-colheita com mamão minimamente processado mostraram que revestimentos formados com quitosana atuam de forma positiva na cor, firmeza e crescimento microbiano, contribuindo para uma maior conservação do mamão (González-Aguilar et al. 2009).

Já os estudos realizados por Luna et al. (2001) apontam que as perdas pós-colheita de mamão provocadas por fungos, tornavam-se menores nos tratamentos que utilizam revestimento com quitosana, quando comparados com tratamentos com banho de água quente e thiabendazole (fungicida).

O crescimento *in vitro* de *Colletotrichum gloesporioides* é inibido com a utilização de quitosana nas concentrações de 2,5% e 3% no período de incubação de sete a 25 dias. Já *in vivo* (nos frutos de mamão) ocorre efeito fungicida em frutos tratados com 1,5% de quitosana (Batista-Baños et al., 2003).

Vieira et al. (2009) comprovaram que a quitosana aplicada em mamão consegue aumentar a vida útil do fruto por seis dias, visto que reduz até cinco vezes a contaminação por fungos e leveduras e em 60% a contaminação por microrganismos mesófilos.

Oliveira et al. (2017) estudaram a aplicação de quitosana e do óleo essencial de *Mentha piperita* L. incorporados em revestimentos, para controle do crescimento micelial de cinco diferentes espécies de *Colletotrichum* (*C. asianum*, *C. dianesei*, *C. fructicola*, *C. tropicale* e *C. karstii*), responsáveis pela antracnose em manga (*Mangifera indica* L.) *in vitro* e *in situ*, usando a cultivar de manga Tommy Atkins. O crescimento *in vitro* foi inibido com a utilização de quitosana (2,5; 5; 7,5 e 10 mg/mL) e do óleo essencial de *Mentha piperita* L. (0,3; 0,6; 1,25; 2,5 e 5 µL/mL). No estudo *in vivo*, com aplicação de revestimento contendo 5mg/mL de quitosana e óleo essencial de *Mentha piperita* L. (0,6 ou 1,25 µl/mL) verificou-se que no 15°

dia de armazenamento as lesões eram menores nos tratamentos que usaram quitosana mais óleo essencial, quando comparados com fungicida difenoconazol.

2.8. Revestimento de carboximetilcelulose

A carboximetilcelulose (CMC) é um polissacarídeo derivado da celulose (Figura 5), amplamente utilizada como base para produção de revestimento ativo devido suas características que facilitam seu uso: é um produto solúvel em água, oriundo de fonte renovável, é abundante na natureza, apresenta baixo custo e não é tóxico. Além disso, a carboximetilcelulose forma filmes transparentes, fáceis de manusear e preparar (Santos et al, 2021).

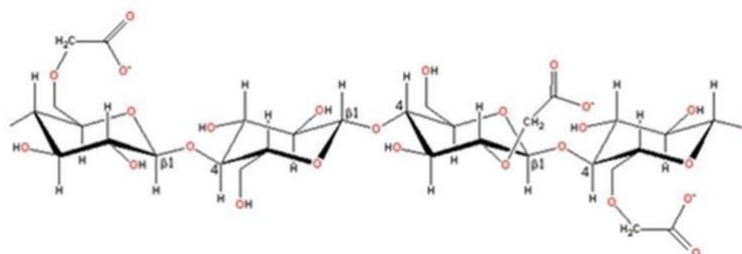


Figura 5: Estrutura química da carboximetilcelulose.
Fonte: Adaptado de Kaistner 1996.

A CMC é uma base muito interessante para o desenvolvimento de revestimento ativo, pois além das características já citadas, a CMC também apresenta alta propriedade de barreira ao oxigênio, característica que influencia na conservação do fruto revestido (Saxena et al., 2020).

De acordo com Eyiz (2020), o revestimento ativo à base de CMC preserva a qualidade dos frutos, além de prolongar sua vida útil. Em morangos tratados com CMC e óleo essencial de *Lippia sidoides* 62,5 a 125 $\mu\text{L L}^{-1}$ foi observada uma redução na severidade da doença provocada por *Botrytis cinerea*, além de menor perda de massa e mudanças mínimas nos atributos sensoriais (Oliveira et al., 2024).

Carvalho (2022) verificou que o revestimento preparado com 3% de CMC, aplicado em mangas durante o armazenamento a 20°C por 10 dias, foi eficiente para atrasar o amadurecimento da fruta, garantiu que não tivesse aumento dos sólidos solúveis totais, além de garantir que não acontecesse diminuição da

firmeza. Houve manutenção da cor da casca da manga, quando comparada com frutos que não receberam o revestimento.

2.9. Revestimento de amido

O amido de mandioca é o segundo polímero mais encontrado na natureza, e vem sendo utilizado na elaboração de revestimentos comestíveis por ser uma matéria prima que apresenta baixo custo, é transparente, apresenta boa resistência às trocas gasosas e resistência aos danos mecânicos (Nunes et al., 2017).

O preparo do revestimento de amido é simples e rápido, e para isso é necessário que ocorra a geleificação do amido, que acontece a partir da diluição em água a 70°C por alguns minutos e depois resfriamento. O revestimento de amido é transparente e brilhante, melhora o aspecto visual dos frutos, não é tóxico, e pode ser removido com água (Henrique et al., 1999).

A aplicação do revestimento de fécula de mandioca, na concentração de 5%, em tomates 'TY' proporcionou ao fruto maior firmeza e uma menor perda de massa, quando comparado ao tratamento controle. Além disso, foi observada uma preservação dos teores de ácidos orgânicos na polpa do fruto, retardamento do amadurecimento dos frutos e aumento da luminosidade (Carvalho et al., 2022).

O revestimento de amido de mandioca na concentração de 2,6 %, com adição de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.) e casca de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Breym) foi eficiente para reduzir a taxa de escurecimento enzimático e aumentar a vida útil de prateleira das bananas (Musa Subgrupo Prata) (Thode filho et al., 2021).

2.10. Extrato de *Momordica charantia* L.

Momordica charantia L. é uma planta conhecida popularmente como Melão-de-São-Caetano, pertencente à família *Cucurbitacea*. Considerada uma trepadeira, é uma planta muito cultivada em regiões tropicais e subtropicais para uso medicinal, na Índia, é utilizada para alimentação (Yan et al., 2019).

A planta é muito encontrada no Brasil e se caracteriza por apresentar gavinhas simples, longas e com caule herbáceo, fino e verde. Os frutos, quando maduros, apresentam de 2 a 7 cm de comprimento e 1,4 a 2 cm de largura, e

apresentam coloração amarelo-alaranjada. As folhas são alternadas, membranosas e simples (Figura 5). As flores apresentam coloração amarela, e as sementes são envoltas por uma substância avermelhada e comestível (de Oliveira et al., 2018).

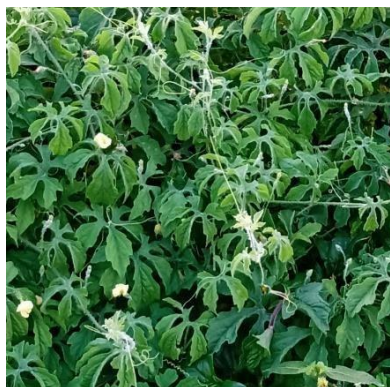


Figura 5: Folhas de *Momordica charantia* L. Fonte: Acervo pessoal.

Momordica charantia L. apresenta muitos compostos bioativos, como: alcaloides, taninos, saponinas, flavonoides, glicosídeos e esteroides que são responsáveis por atividades anticancerígenas, ateroscleróticas, anti-inflamatórias, antioxidantes, antidiabética, neuroprotetora, redução da obesidade e atividades antimicrobianas (de Oliveira et al., 2018).

Segundo Guarniz et al. (2019), os principais constituintes químicos das folhas de *M. charantia* L. são os triterpenoides tetracíclicos e seus glicosídeos, a maioria dos quais é conhecida como cucurbitanos, e são conhecidos por sua amargura e efeitos biológicos.

Extratos de *Momordica charantia* L. possuem ação contra *Staphylococcus aureus*, se mostrando-se uma alternativa que pode ser utilizada na saúde pública (do nascimento et al., 2019). Vieira (2019) identificou que extratos das folhas de *Momordica charantia* L. são eficazes para inibir o crescimento de leveduras do gênero *Candida*.

Celoto (2005) verificou que o extrato aquoso de *Momordica charantia* L. inibe 86% do fungo *Colletotrichum musae*, fitopatógeno causador da antracnose em frutos de bananeira. Já Celoto et al. (2008), identificaram que o extrato de *Momordica charantia* L. proporciona maiores porcentagens de inibição contra *Colletotrichum gloesporioides* quando comparado com outros 21 extratos vegetais.

2.11. Extrato e óleo de *Azadirachta indica* A. Juss

A árvore nim ou neem (*Azadirachta indica* A. Juss) pertence à família *Meliaceae* e ao gênero *Azadirachta*. É originária de Mianmar e da região do subcontinente indiano (Bittencourt, 2009; Morgan, 2009).

As folhas e as sementes de nim são utilizadas para produção de óleos e extratos com ação inseticida, inibidora do desenvolvimento, antifúngica e antibacteriana. As principais substâncias encontradas nestes óleos e extratos são a azadiractina, azadiradiona, nimbina e salanina, que são responsáveis pela atividade antifúngica, antibacteriana e inseticida desses óleos e extratos (Oliveira, 2015).

Já no ano de 2015, foi verificado por Duong et al. (2015), que o óleo de neem, inibiu o crescimento micelial dos fungos *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Colletotrichum* spp. e *Phytophthora capsici*.

Miyae Shamsi (2017), demonstrou que o extrato aquoso de neem, incorporado ao meio de cultivo BDA nas concentrações de 15% e 20%, foram eficientes para inibir totalmente o crescimento micelial e esporulação dos fungos *Curvularia brachyspora*, *Fusarium* sp. e *Rhizopus stolonifer*.

O extrato de casca de nim na concentração de 50% v/v, mostrou atividade antimicrobiana contra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Katiyar et al., 2023).

A planta de neem apresenta genes específicos com capacidade moduladora da atividade de enzimas antioxidantes e isso é uma alternativa que deve ser explorada, já que algumas rotas metabólicas podem ser ativadas no vegetal, a fim de induzir mecanismos de resistência às plantas. Isso pode garantir o manejo de algumas doenças e o controle de fitopatógenos, resultando na diminuição do uso de fungicidas sintéticos e agrotóxicos que provocam danos ao meio ambiente (de Melo et al., 2021).

3. TRABALHOS

3.1 EFEITO INIBITÓRIO DE REVESTIMENTOS COM DIFERENTES BASES POLIMÉRICAS NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO *IN VITRO* DE FUNGO CAUSADOR DE ANTRACNOSE

Reproduzido com permissão:

Isamara RG, Solange SS, Gabriel BT, Pedro SR, Eder DR. (2024). Inhibitory effect of coatings with different polymeric bases on germination and *in vitro* growth of anthracnose fungus. Food Science and Technology, 44: 11-22. DOI: <https://doi.org/10.5327/fst.00384>.

RESUMO

O fungo *Colletotrichum theobromicola* é uma das espécies que provoca uma doença no fruto do mamoeiro conhecida como antracnose, que inviabiliza o consumo do mamão, resultando em grandes perdas pós-colheita. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de três bases poliméricas em suas concentrações usuais: Amido (6% m/v), carboximetilcelulose (CMC, 1% m/v) e Quitosana (2% m/v), sobre os parâmetros de crescimento *in vitro* de *C. theobromicola*: germinação, contagem de conídios e permeabilização da membrana, a fim de identificar uma base polimérica mais adequada para ser aplicada no desenvolvimento de revestimento ativo para conservação pós-colheita de mamões. O crescimento *in vitro* foi determinado em placas de Petri, por sete dias, já a germinação e a permeabilização da membrana foram avaliadas após 24 h de incubação a $25 \pm 3^\circ\text{C}$ e a contagem de conídios foi feita com as amostras após sete dias de crescimento. Neste trabalho foi verificado que as diferentes bases poliméricas interferem na germinação e no crescimento micelial do fungo *C. theobromicola*. O revestimento com quitosana causou a inibição total da germinação e do crescimento *in vitro* do fungo. A germinação e o crescimento *in vitro* foram mais facilitados no revestimento com 6% de amido. No entanto, o revestimento contendo 1% de CMC também apresentou alta proporção de germinação dos conídios, porém com menor proporção de crescimento micelial do que o revestimento com 6% de amido. Assim, com base no alto custo da quitosana, a CMC pode ser considerada como uma base

polimérica mais adequada para a formulação de revestimentos ativos aplicados na conservação pós-colheita do mamão.

Palavras-chave: Amido; Carboximetilcelulose; Quitosana; *C. theobromicola*

INHIBITORY EFFECT OF COATINGS WITH DIFFERENT POLYMERIC BASES ON GERMINATION AND *IN VITRO* GROWTH OF ANTHRACNOSE-CAUSING FUNGUS

ABSTRACT

The fungus *Colletotrichum theobromicola* is one of the species that causes a disease in papaya fruit known as anthracnose, which makes papaya unviable for consumption, resulting in large post-harvest losses. The objective of this study was to evaluate the effect of three polymeric bases at their usual concentrations: Starch (6% w/v), Carboxymethyl cellulose (CMC, 1% w/v) and Chitosan (2% w/v), on the *in vitro* growth parameters of *C. theobromicola*: germination, conidial count and membrane permeabilization, in order to identify a more suitable polymeric base to be applied in the development of an active coating for post-harvest conservation of papayas. *In vitro* growth was determined in Petri dishes for 7 days, while germination and membrane permeabilization were evaluated after 24 h of incubation at $25 \pm 3^\circ\text{C}$, and conidial counts were performed on samples after 7 d of growth. In this study, it was verified that different polymeric bases interfere with the germination and mycelial growth of the fungus *C. theobromicola*. The chitosan coating caused total inhibition of germination and *in vitro* growth of the fungus. Germination and *in vitro* growth were facilitated more by the coating with 6% starch. However, the coating containing 1% CMC also showed a high proportion of conidial germination, but with a lower proportion of mycelial growth than the coating with 6% starch. Thus, based on the high cost of chitosan, CMC can be considered as a more suitable polymeric base for the formulation of active coatings applied in the post-harvest conservation of papaya.

Keywords: Starch; Carboxymethyl cellulose; Chitosan; *C. theobromicola*.

1. Introdução

A doença de antracnose nos frutos de mamoeiro é causada por algumas espécies de fungos do gênero *Colletotrichum spp*, sendo que dez espécies foram identificadas em culturas de mamoeiros no Brasil: *C. truncatum*, *C. okinawense*, *C. gloeosporioides*, *C. karsti*, *C. siamense*, *C. fructicola*, *C. plurivorum*, *C. theobromicola*, *C. chrysophilum*, *C. queenslandicum* (Santos Vieira et al., 2022).

A antracnose é caracterizada por lesões arredondadas alaranjadas e escuras na casca no fruto. Devido à antracnose cerca de 30% da produção de mamão é perdida, pois o fungo deixa o fruto inviável para o consumo. Tratamentos com fungicidas sintético são utilizados para combater a antracnose, mas seu uso prolongado pode provocar resistência aos patógenos, contaminação ambiental, além de representar um risco para a saúde dos consumidores (Ali et al., 2015).

Os revestimentos ativos têm se mostrado uma interessante fonte de pesquisa para controlar fungos na fase pós-colheita dos frutos, visto que possuem baixo custo, grande disponibilidade na natureza, não são tóxicos, além de serem biodegradáveis (Dos Passos Braga et al., 2019). Os revestimentos ativos prolongam a vida útil dos frutos, formando uma barreira semipermeável a gases, diminuindo a perda de água e taxa respiratória (Dotto et al., 2015). Os principais componentes utilizados na preparação dos revestimentos ativos são polissacarídeos, proteínas e lipídios (Friedrichsen et al., 2022; Chen et al., 2019).

O amido de mandioca é um polissacarídeo muito utilizado como fonte para preparo de revestimento ativo, e isso se deve às suas características hidrofílicas, ao seu baixo custo, fácil manuseio, abundância na natureza e biodegradabilidade (Villadiego et al., 2005). O revestimento de amido possui característica gelatinosa e de cor esbranquiçada com capacidade de retardar o amadurecimento de frutos e diminuir a perda de massa do produto (Costa et al., 2022). Estudos demonstram sua eficiência em aumentar a vida de prateleira da pêra (Botrel et al., 2010), reduzir a ocorrência da antracnose em goiabas 'Pedro Sato' (de Souza Coelho et al., 2017) além de preservar a qualidade dos morangos (do Amaral et al., 2020).

A carboximetilcelulose (CMC) é um polímero derivado da celulose, apresenta alta solubilidade em água, seu custo é baixo, seu revestimento é de coloração transparente e apresenta boas propriedades de barreira ao oxigênio, resultando em retardo da maturação do fruto e melhora da aparência comercial

(Silva et al., 2023; Dong, 2017). O revestimento de CMC associado ao óleo essencial de pimenta rosa foi eficaz para inibir a perda de massa de morangos (de Andrade et al., 2022).

Já a quitosana é um polissacarídeo de alto custo comercial, derivado da desacetilação da quitina a partir de resíduos biológicos marinhos de moluscos e crustáceos (Whistler, 1993). É um polissacarídeo muito utilizado nas formulações de revestimento ativo devido sua ação antimicrobiana e sua propriedade de barreira. Pavinatto et al. (2020) descrevem a utilização do revestimento de quitosana como barreira de proteção física e microbiológica de morangos in natura.

As pesquisas normalmente avaliam a ação de revestimentos de amido, carboximetilcelulose e quitosana incorporados com óleos e extratos vegetais que apresentam ação antifúngica contra antracnose (Assumpção et al., 2020; Trigo et al., 2012). Porém não há relatos na literatura sobre a avaliação da influência de diferentes bases poliméricas sobre o crescimento dos fungos, notadamente com a aplicação de testes microscópios para verificar o efeito destes revestimentos sobre o crescimento e germinação do fungo. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de três bases poliméricas: amido, CMC e quitosana, nas concentrações usuais aplicadas para revestimento dos frutos, sobre os parâmetros de crescimento do fungo, germinação e contagem de conídios, a fim de identificar uma base polimérica mais adequada para ser aplicada no desenvolvimento de revestimento ativo para conservação pós-colheita de mamões.

2. Material e métodos

2.1. Materiais

Os materiais utilizados para o preparo do revestimento foram adquiridos comercialmente, o amido solúvel P.A e a carboximetilcelulose foram adquiridos na Dinâmica Química Contemporânea Ltda e a quitosana adquirida na Sigma-Aldrich.

2.2. Isolamento e caracterização do fungo

O fungo *Colletotrichum spp* foi isolado diretamente de frutos de mamão *Carica papaya* L. adquiridos no mercado de Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

Os frutos foram mantidos em câmara de incubação BOD (SP Labor) na temperatura de 25 °C, até adquirir sintomas da doença e sinais do patógeno. O isolamento ocorreu na clínica fitossanitária da Universidade Estadual Norte do Fluminense Darcy Ribeiro, utilizando uma capela de fluxo laminar. Com o auxílio de uma alça de platina estéril, foi coletada parte da lesão da antracnose do fruto do mamão que, em seguida, foi colocada sobre a placa de Petri contendo 20 mL do meio de cultura Agar Batata Dextrose (BDA) (KASVI), esterilizado em autoclave, com temperatura de 121°C e pressão de 1 kgf/cm², durante 15 minutos. Na sequência as placas foram incubadas em B.O.D., a uma temperatura de 28°C por cinco dias, para observação do crescimento do fungo.

A caracterização morfológica do fungo foi realizada conforme metodologia descrita por Chaudhary et al. (2020), que consiste na observação de isolados com sete dias de crescimento, sendo observado a cor da cultura (Fig.1-A e B), o padrão de crescimento micelial e morfológico e as características dos esporos (Fig. 1-C), como comprimento e diâmetro, todas realizadas com o auxílio de um microscópio.

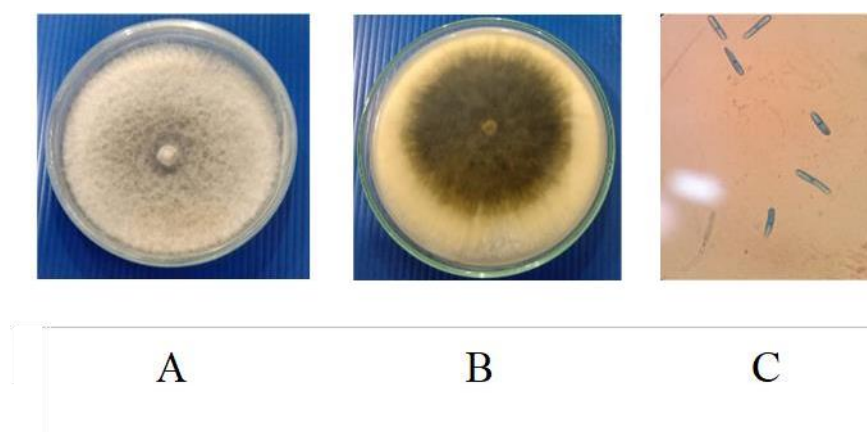


Figura 1: Características da cultura de *C. theobromicola* mostrando o micélio com vista superior da placa (A), micélio com vista inferior da placa (B) e características dos esporos (C). Fonte: Arquivo pessoal.

2.3. Identificação genética

A identificação do fungo foi realizada por meio do serviço de identificação fornecido pela Coleção de Culturas da Micoteca URM da UFPE (WFCC 604)

(UFPE, 2024), utilizando protocolo padronizado de extração de DNA e reações em cadeia de polimerase (PCRs). Resumidamente, para a extração do DNA foi utilizado o Promega Ge-nomic DNA Purification Kit (Wizard Genomic DNA Purification Kit), seguindo a metodologia recomendada pelo fabricante. Após a obtenção do DNA, foram realizadas PCRs para amplificar genes ou regiões mais adequadas, conforme descrito na literatura atual (Santos Vieira et al., 2020). A seguinte sequência foi identificada para *Colletotrichum theobromicola*:

Gene gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase

```
CCGTCAACGACCCCTTCATTGAGACCAAGTACGCTGTGAGTATCACCCCACT
TACCCCTCCAAACTCGCCACTACTTCACACCCGCCACGGCCGCTGCTGTCGT
TCACACCTTCCCGCCTGTATTTGGTAGACTACAAGGCCAACGTGAATTGATGC
CAATTGATACCATGGCTCGGCACGGCCGGACACAGCTATCACTCATCTCAGC
CCCATCTGTACATGTACTGACTCGCACTTCACAGGCCTACATGCTCAAGTAC
GACTCCACC.
```

2.4. Preparo dos revestimentos

2.4.1. Amido

O amido foi previamente seco em estufa (Quimis) a 105 °C por 24 h, pesado em balança analítica (GEHAKA AG 200) e transferido para Erlenmeyer de 250 mL onde foi dissolvido em água destilada, na concentração de 6% (m/v). Após ser dissolvido, o revestimento foi aquecido em banho-maria sobre placa aquecedora (FISATOM) até a temperatura de 70°C, permanecendo nesta temperatura por 15 minutos com agitação magnética constante, até ocorrer a gelatinização completa dos grânulos de amido. Posteriormente, o revestimento foi resfriado em banho de gelo até atingir a temperatura ambiente e teve seu pH corrigido para 5,6 (da Silva et al., 2019).

2.4.2. Carboximetilcelulose (CMC)

O revestimento de carboximetilcelulose foi preparado na concentração de 1% (m/v) e seguiu o mesmo padrão de preparo descrito para o amido. A CMA foi

dissolvida em água destilada (1 % m/v) e o revestimento foi aquecido em banho-maria sobre placa aquecedora até a temperatura de 70 °C, permanecendo nesta temperatura por 15 min com agitação magnética constante, até ocorrer a gelatinização completa e posteriormente, o revestimento foi resfriado em banho de gelo até atingir a temperatura ambiente e teve seu pH corrigido para 5,6 (Santos et al., 2021).

2.4.3. Quitosana

A quitosana, na concentração de 2% (m/v) foi dissolvida em uma solução aquosa (1% v/v) de ácido acético, com agitação constante em chapa aquecedora por 6 h, mantendo a temperatura de 40°C. O pH da solução foi corrigido para 5,6, para garantir que o ácido acético não interfira na ação antifúngica. Posteriormente, o revestimento foi resfriado em temperatura ambiente (Granja et al., 2021).

2.5. Preparo das placas de Petri

Placas de Petri de 9 cm de diâmetro foram preparadas com 20 mL de meio de cultura BDA (batata 200 g/l, dextrose 20 g/l, ágar 20 g/l) (KASVI), devidamente esterilizado em autoclave, com temperatura de 121°C e pressão de 1 kgf/cm², por 15 min. Após solidificação do meio BDA e a formação de uma camada regular em toda a placa de Petri foi adicionado um volume de 10 mL de revestimento ativo e foram acondicionadas em geladeira por 24 h, para solidificação do revestimento na placa.

A inoculação do fungo foi realizada em câmara de fluxo laminar, fazendo um poço no centro de cada placa de Petri com o auxílio de um furador de cobre e adicionando 100 µm de solução de esporos do fungo de *C. theobromicola* com a concentração de 65,5 x 10⁵ células. Posteriormente as placas foram vedadas com filme PVC e mantidas em B.O.D. na temperatura de 25 °C, sete dias, com fotoperíodo de 12 horas.

2.6. Análise do crescimento micelial

A avaliação do crescimento micelial foi verificada a cada dia, pela mensuração do diâmetro das colônias, em quatro direções diametralmente opostas, obtendo-se a média dos diâmetros de desenvolvimento dos micélios. Ao fim de sete dias foi construído a curva de crescimento do fungo e foi calculada a área do crescimento do micélio, levando em consideração a área de um círculo (Eq. 1).

$$A = \pi d^2 / 4 \quad (\text{Eq. 1})$$

Em que: A é a área do micélio na placa (cm²), π corresponde ao valor de “pi”, e d é o valor do diâmetro do micélio na placa (cm).

2.7. Contagem de conídios

A produção de conídio por *C. theobromicola* foi avaliada através da contagem de conídios de parte do micélio que foram retirados dos tratamentos descritos anteriormente para avaliação do crescimento micelial. A partir de cada placa de Petri contendo o fungo com sete dias de crescimento, 10 discos de 5 mm foram retirados, com o auxílio de um furador de cobre, em duas regiões do halo de crescimento, na região central no entorno do ponto de inoculação e na borda da região de crescimento (Figura. 2). Os discos foram transferidos para um tubo tipo Falcon individual contendo 10 mL de uma mistura (1:1) de solução salina (NaCl a 0,85% v/v) e solução de Tween 80 (0,1% v/v). Após agitação em agitador de tubos do tipo Vortex (QL-901) por 30 segundos, uma alíquota de 0,5 mL da solução foi colocada na câmara de Neubauer e os conídios foram contados no quadrante C, nos pontos A, B, C, D e E com auxílio de um microscópio óptico (Nikon eclipse E200) com aumento de 40 x. Os resultados foram expressos como número de conídio por mL (Guerra et al., 2015).

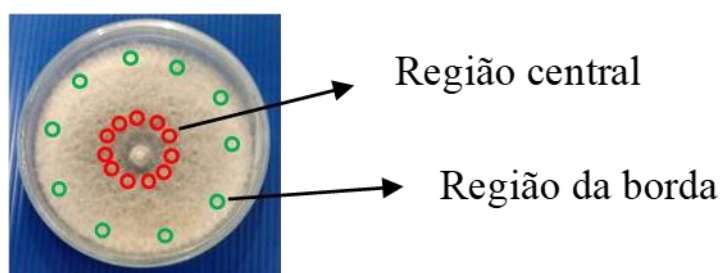


Figura 2: Placa de Petri contendo *C. theobromicola* com sete dias de crescimento, destacando os locais de amostragens de esporos na região central, no entorno do ponto de inoculação (círculos vermelhos), e na borda externa da região de crescimento (círculos verdes). Fonte: Arquivo pessoal.

2.8. Germinação de conídio

Para avaliação dos efeitos dos revestimentos sobre a germinação de conídios, alíquotas de 1 mL de suspensão de conídios de *C. theobromicola* (10^5 conídios/mL) obtida a partir de uma cultura de sete dias de crescimento, foram colocadas em tubos tipo Falcon contendo 10 mL de revestimento, agitados manualmente e mantidas em câmara BOD a 25 °C por 24 horas. Posteriormente foi adicionado o corante azul de lactofenol para paralisar a germinação, e foi realizado agitação em agitador de tubos do tipo Vortex (QL-901) por 30 segundos. Posteriormente uma alíquota da mistura contidas no tubo tipo Falcon foi colocada em Câmara de Neubauer para proceder com a contagem do número de conídios germinados, com auxílio de microscópio óptico (Nikon eclipse E200) com aumento de 40 x. Foram considerados conídios germinados os que apresentaram tubo de germinação com 50 % do tamanho do conídio (Guerra et al., 2015). A avaliação foi realizada determinando-se o número de conídios germinados por mL, e a eficácia da inibição da germinação de conídios foi avaliada por meio da comparação da porcentagem de conídios germinados no meio contendo dispersões dos revestimentos ativos, em relação ao ensaio de controle com meio BDA.

2.9. Microscopia eletrônica de varredura do crescimento micelial

De cada placa de Petri contendo o fungo com sete dias de crescimento, foi retirado um disco de 5 mm de cada tratamento, com auxílio de um furador de cobre,

na região central ao redor do ponto de inoculação. Posteriormente, as amostras foram fixadas em solução de glutaraldeído a 2,5%, deixadas por 1 hora em temperatura ambiente e depois armazenadas a 4°C por 24 horas. As amostras foram então desidratadas em solução de acetona (30 a 100%), secas no ponto crítico de CO₂ e montadas em suporte de alumínio (coberto com uma camada de papel alumínio e fixado com fita de carbono). As amostras foram revestidas com ouro (20-30 nm) em um evaporador para observação em um Microscópio Eletrônico de Varredura ZEISS EVO: 40 (Portes et al., 2015).

2.10. Permeabilização da membrana plasmática

A avaliação da permeabilização da membrana dos conídios do fungo *C. theobromicola* foi conduzida por meio de microscopia de fluorescência, empregando a sonda Sytox Green. O Sytox Green é um corante de elevada afinidade por ácidos nucleicos, exibindo a capacidade de penetrar de forma eficiente em células cujas membranas plasmáticas encontram-se comprometidas, ao passo que não atravessa membranas celulares íntegras. O ensaio foi realizado conforme descrito no item 2.7. Após ensaio de inibição de germinação, volumes de 100 µL das células submetidas às diferentes condições de revestimentos foram submetidos a uma incubação com 0,2 µL de Sytox Green, sob proteção da luz, por um período de 15 min. Após esse intervalo, as células foram sujeitas a uma centrifugação de 800 g e submetidas à análise por microscopia de contraste de interferência diferencial (DIC), empregando um microscópio óptico (Axioplan.A2, Zeiss) equipado com um conjunto de filtros de fluorescência para detecção de fluoresceína (comprimentos de onda de excitação 450 - 490 nm; emissão 500 nm). Como controle negativo, foram utilizadas células incubadas somente com o Sytox Green (Thevissen et al., 1999).

A porcentagem de células permeabilizadas foi calculada com base no número total de células no DIC e imagens fluorescentes de dez campos microscópicos aleatórios para cada amostra, assumindo o número total de células no campo claro de cada amostra como 100% (Taveira et al., 2022).

2.11. Análises estatísticas

O ensaio de crescimento micelial foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado utilizando três tipos de revestimentos (amido, CMC e quitosana), com dez repetições. As análises de germinação de conídios foram feitas com cinco repetições, já a contagem do número de conídios produzidos em cada tratamento, foram realizadas com 10 repetições. Os dados foram avaliados por meio de ANOVA, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey com probabilidade de 95% ($p \leq 0,05$), utilizando o software computacional R studio.

3. Resultados e discussões

3.1. Crescimento micelial

O crescimento micelial é caracterizado como uma massa filamentosa formada a partir da germinação de conídios que formam tubos germinativos, que são longos filamentos que se ramificam. O micélio do fungo constitui seu sistema vegetativo que é responsável pela absorção de nutrientes e seu desenvolvimento, seu filamento simples é chamado de hifa (Putzke et al., 1998).

Para o seu desenvolvimento os fungos precisam de uma fonte de carbono, além de nitrogênio, água, sais minerais e fatores de crescimento (Lima, 2015). Durante seu metabolismo, o fungo secreta exoenzimas que degradam compostos para obtenção de carbono, nitrogênio, enxofre e outros nutrientes (Donini et al., 2005).

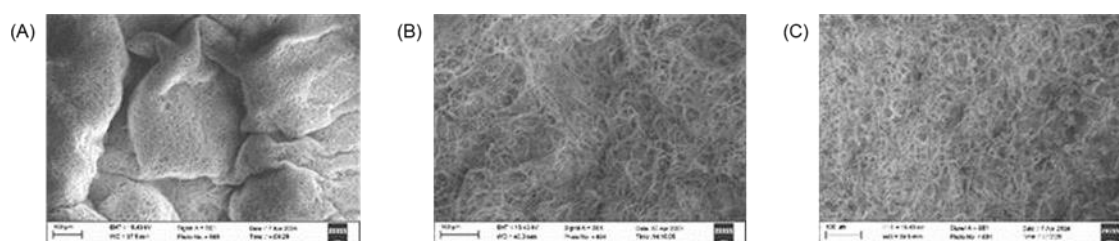


Figura 3: Imagens microscópicas do crescimento de micélios de *C. theobromicola* após sete dias de incubação a $25 \pm 3^\circ\text{C}$ em diferentes revestimentos: (A) Tratamento controle com BDA puro, (B) revestimento de amido a 6% e (C) 1% de revestimento CMC.

Na Figura 3, são apresentadas as imagens microscópicas de amostras de fungos que foram retiradas da superfície das placas de Petri contendo o micélio após sete dias de incubação em diferentes revestimentos. Semelhanças notáveis podem ser observadas entre estruturas de hifas crescendo em revestimento de amido de 6% (Figura 3B) e revestimento de CMC de 1% (Figura 3C), que parecem um tecido liso, intrincado e regular em comparação com a estrutura aglomerada observada no tratamento de controle com BDA puro (Figura 3A), mostrando sobreposições de estruturas densas de hifas formando vales e colinas sobre a placa.

Os ensaios de crescimento micelial do fungo *C. theobromicola* ao longo de sete dias mostraram que as bases poliméricas de amido e CMC proporcionam o crescimento do fungo, enquanto na base de quitosana o fungo não cresce ao longo de sete dias quando comparados com o tratamento controle (meio BDA), onde se tem o crescimento máximo ao fim de sete dias (Tabela 1). Nota-se que nos primeiros dias de crescimento do fungo (dias 1 e 2), as medidas entre os tratamentos controle, CMC 1% e amido a 6% têm áreas de crescimento semelhantes, mas a partir do terceiro dia começa a ocorrer diferenciação entre os tratamentos. Destaca-se que após sete dias de incubação ocorreu a maior área de crescimento no tratamento controle ($46,5 \pm 3,7 \text{ cm}^2$), seguida pelo revestimento de amido ($28,9 \pm 2,1 \text{ cm}^2$) e pelo revestimento de CMC ($23,6 \pm 2,5 \text{ cm}^2$), enquanto o revestimento com quitosana não apresentou crescimento micelial.

Tabela 1: Áreas do crescimento (cm^2) micelial *in vitro* de *Colletotrichum theobromicola* em revestimentos de amido (6%), CMC (1%), quitosana (1%) e controle (meio BDA), ao longo de sete dias de incubação a $25 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$. Os dados representam as médias de 10 repetições.

	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7
Controle	$0,4 \pm 0,1 \text{ gA}$	$2,9 \pm 0,4 \text{ fA}$	$7,3 \pm 0,3 \text{ eA}$	$14,8 \pm 1,4 \text{ dA}$	$23,2 \pm 1,4 \text{ cA}$	$34,8 \pm 2,1 \text{ bA}$	$46,5 \pm 3 \text{ aA}$
CMC	$0,4 \pm 0,03 \text{ gA}$	$2,2 \pm 0,4 \text{ fB}$	$6,5 \pm 0,5 \text{ eB}$	$9,7 \pm 0,9 \text{ dB}$	$11,8 \pm 1,2 \text{ cC}$	$14,8 \pm 1,3 \text{ bC}$	$23,6 \pm 2,5 \text{ aC}$
Amido	$0,4 \pm 0,03 \text{ gA}$	$2,2 \pm 0,3 \text{ fB}$	$5,5 \pm 0,5 \text{ eC}$	$10,6 \pm 0,6 \text{ dB}$	$15,5 \pm 1,4 \text{ cB}$	$22,4 \pm 2,2 \text{ bB}$	$28,9 \pm 2,1 \text{ aB}$
Quitosana	$0 \pm 0 \text{ aB}$	$0 \pm 0 \text{ aC}$	$0 \pm 0 \text{ aD}$	$0 \pm 0 \text{ aC}$	$0 \pm 0 \text{ aD}$	$0 \pm 0 \text{ aD}$	$0 \pm 0 \text{ aD}$

Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey com 5% de significância.

O revestimento de amido tem se mostrado uma base polimérica muito utilizada em frutos, justamente por suas propriedades de barreira e por ser um veículo para incorporação de agentes ativos como óleos e extratos que possuem ação antifúngica contra *C. gloeosporioides* (Serpa et al., 2014). Revestimento ativo à base de amido foi utilizado para controlar o fungo *Botrytis cinerea*, principal fungo responsável por deteriorar o morango (Gomes, 2022). Os trabalhos de Costa et al., (2022) e Silva et al., (2016) também utilizaram revestimentos de amido de mandioca para preservação da qualidade pós-colheita de frutos.

O revestimento com 1% CMC apresentou menor área de crescimento do *C. theobromicola* do que o revestimento de amido, e com uma redução de 49% de área de crescimento em relação ao tratamento controle ao final de sete dias de incubação. A CMC vem sendo utilizada como revestimento ativo em diversos frutos como em morangos (Shahbazi, 2018), em mamão minimamente processado (Trigo et al., 2012) e em mangas (Amariz et al., 2010).

O único revestimento em que não houve crescimento micelial de *C. theobromicola* foi o tratamento com quitosana na concentração de 2%. Diferentes estudos mostram a ação positiva no controle *in vitro* de fitopatógenos pela quitosana. Liu et al. (2007) constataram a inibição total do crescimento micelial de *B. cinerea* utilizando quitosana na concentração de 5%, com três dias de incubação. Resultados semelhantes foram encontrados por Camili et al. (2007), que verificaram a inibição total de *B. cinerea* em cinco dias de incubação, nas concentrações de 0,5, 1, 1,5 e 2% de quitosana.

A limitação de nutrientes, notadamente carbono (C) e nitrogênio (N), aumenta a atividade antifúngica da quitosana para patógenos. A privação de nutrientes modifica a arquitetura da parede celular que afeta o crescimento fúngico (Lopez-Moya et al., 2015).

A quitosana é um potente agente antimicrobiano e sua ação se deve a sua carga superficial que se torna positiva quando entra em contato com fluidos fisiológicos, contribuindo para que os grupos amino protonados da quitosana possam se ligar aos grupos aniônicos das paredes celulares de microrganismos, inibindo seu crescimento (Chua et al., 2008; Kong et al., 2010).

Maia et al (2010), em seu trabalho *in vitro* com *Elsione ampelina*, agente que provoca a antracnose na videira, verificaram que o tratamento com quitosana a 0,016% reduziu em 57% o crescimento micelial. Resultados semelhantes foram

encontrados por Botelho et al. (2010), que verificaram que o tratamento de quitosana na concentração de 0,016% reduziu o crescimento micelial do fungo *Penicillium sp.* em 34,2%. Enquanto no trabalho de Rivero Gonzáles et al. (2009), a quitosana teve efeito fungistático na concentração de 0,1% sobre os fungos *Alternaria padwickii* e *Bipolaris orizae*, causadores da mancha de alternaria e mancha parda do arroz.

No desenvolvimento de revestimentos ativos é importante considerar os custos da base polimérica, tendo em vista que o uso desta tecnologia impacta nos custos agregados na comercialização dos frutos. Considerando o valor comercial de cada base polimérica (US\$1 = R\$ 5.40, IPEA, 2024): quitosana (R\$ 17,98/g), CMC (R\$ 0,21/ g) e amido (R\$ 0,05/g), tem-se que o custo da matéria-prima para preparar 100 mL de revestimentos equivale a R\$35,96 para quitosana 2%, R\$ 0,21 para CMC 1% e R\$0,30 para amido 6%. Desta forma, para os revestimentos de menor custo, o valor do revestimento com CMC é 30% mais baixo do que o revestimento com amido.

3.2. Contagem de conídios

Os dados da contagem de conídios obtidos na região central e na borda da área de crescimento do *Colletotrichum theobromicola* estão demonstrados na Tabela 2. Nota-se que a contagem de conídios/mL da região central foi maior do que na região da borda do micélio, podendo estar relacionado com a formação dos conidióforos, que são hifas vegetativas que formam os conídios (Putzke et al., 1998). No centro do micélio há mais hifas vegetativas, portanto, maior número de conídios, enquanto na borda do micélio há menor número de hifas vegetativas, resultando em uma contagem com menos conídios.

Tabela 2: Valores médios da contagem de conídios (conídios/mL) de *Colletotrichum theobromicola* inoculados em diferentes bases poliméricas, após sete dias de incubação a $25 \pm 3^\circ\text{C}$, avaliadas na região central do ponto de inoculação da colônia e na região da borda externa da colônia. Os dados representam as médias de 10 repetições.

Tratamentos	Região central da colônia	Região da borda externa
Controle	46±18,2 aA	32,3±18,3 bA
CMC 1%	31,1±9,1 aA	22,1±6,8 bA
Amido 6%	32,6±17,2 aA	25,9±17,8 bA
Quitosana 2%	2,4±2,3 aB	1,0±1,3 aB

Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas na mesma coluna e minúsculas na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey com 5% de significância.

Nota-se na Tabela 2 que a contagem de conídios não foi afetada pelo tipo de revestimento, com exceção da quitosana, tanto na região central da colônia, quanto na região da borda externa de crescimento do fungo na placa. Já o revestimento de quitosana a 2% difere dos demais revestimentos, apresentando um baixo valor de produção de conídios, tanto na região central quanto da borda, não apresentando diferença estatística entre região central e região da borda. Debnath et al. (2022) observaram que a quitosana é tóxica para a célula do fungo e reduz a esporulação.

3.3. Germinação de conídios

Os conídios necessitam de calor, nutrientes e umidade para poderem germinar, e o resultado desta germinação é a formação de um ou mais filamentos finos, conhecidos como tubos germinativos (Putzke et al., 1998). Na Figura 4 estão apresentadas as imagens microscópicas dos conídios de *C. theobromicola* germinados (A), com o tubo germinativo aparente, e conídios de *C. theobromicola* não germinados (B).

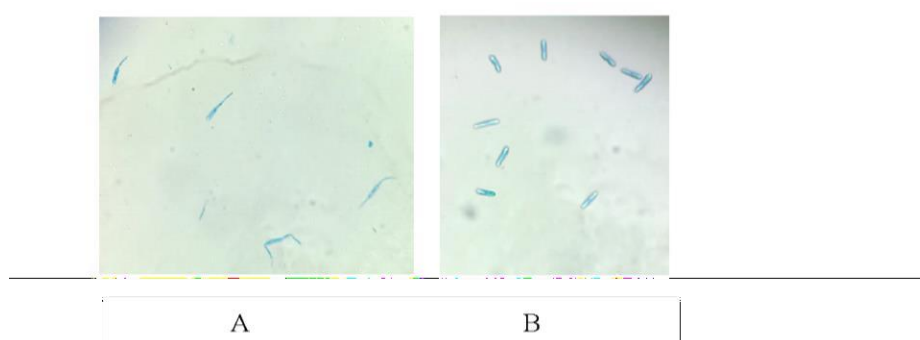


Figura 4: Imagens microscópicas (40 X) de Conídios de *C. theobromicola* com tubo germinativo (A) e conídios de *C. theobromicola* não germinados (B). Fonte: Acervo pessoal.

Neste trabalho foi realizado um ajuste de metodologia para definir a diluição de solução de conídios necessária para contagem em câmara de Neubauer. De início foi testada a diluição de 100 µL de solução de conídios em 10 mL de revestimento, mas a diluição foi excessiva, resultando em uma contagem pequena de conídios e sem variabilidade dos resultados (dados não mostrados). Desta forma, a diluição foi feita conforme a metodologia citada no tópico 2.7. Os resultados estão apresentados na Tabela 3.

Os ensaios de germinação dos conídios foram testados em revestimentos de amido com concentrações mais baixas para verificar o efeito da concentração do substrato na inibição da germinação do conídio. Além disso, foram testados também os efeitos do Tween 20 (usado no preparo do revestimento de quitosana) e da água estéril sobre a germinação dos conídios. Nota-se na Tabela 3 que os conídios não germinaram na solução de 1% de Tween 20, nem na água estéril, visto que não existe nutriente para a germinação dos conídios. O mesmo efeito de inibição total da germinação de conídios foi provocado pela quitosana.

Tabela 3: Valores médios da contagem de conídios (conídios/mL) de *Colletotrichum theobromicola* germinados e não germinados em diferentes bases poliméricas, após 24 horas de incubação a $25 \pm 3^\circ\text{C}$. Os dados representam as médias de cinco repetições.

Tratamentos	Conídios germinados	Conídios não-germinados	Proporção de conídios germinados (%/mL)
Sol. BDA 3,9%	15,3±0,8 aA	0±0 bC	100 A
Água estéril	0±0 b D	10,6±0,7 aA	0 E
Tween20 1%	0±0 b D	12,1±0,3 aA	0 E
Amido 1,5%	0,4±0,2 bD	13,7±0,9 aA	2,9 D
Amido 3,0 %	5,4±0,7 bC	9,1±0,8 aAB	37,5 C
Amido 6%	12,5±0,7 aAB	3,0±0,4 bBC	80,5 B
CMC 1%	9,9±0,6 aB	3,6±0,5 bB	73,4 B
Quitosana 2%	0±0 bD	13,5±0,9 aA	0 E

Médias com diferentes letras maiúsculas na mesma coluna e minúsculas na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey com 5% de significância.

Ao contrário, o tratamento com solução de 3,9% de BDA (controle) proporcionou 100% de germinação do fungo, mostrando que é um meio de cultura rico em nutrientes para o desenvolvimento de *C. theobromicola*. Já os tratamentos

com amido nas diferentes concentrações e o tratamento de CMC a 1% promoveram a germinação parcial dos conídios.

A concentração de amido no revestimento influenciou na proporção de germinação de conídios (Tabela 3). Destaca-se que o aumento da concentração de amido proporciona os nutrientes necessários para a formação e desenvolvimento do tubo germinativo dos conídios. Importante ressaltar que as concentrações de amido mais usadas na formulação de revestimentos variam entre 3% e 6%, sendo que nos ensaios preliminares de laboratório a concentração de 6% de amido foi mais adequada para o revestimento do mamão. Porém, nessas concentrações a germinação de conídios alcança 80,5%, atingindo uma proporção de germinação similar àquela obtida para o revestimento de CMC.

A concentração de 1% de CMC usada na formulação do revestimento é um valor limite para se conseguir a consistência adequada para imersão dos frutos. Ensaios de laboratórios mostraram que em concentrações ligeiramente superiores ocorre a formação de revestimentos muito espessos (dados não apresentados). A proporção de germinação de conídios em revestimento com 1% de CMC alcançou 73,4% de conídios germinados, indicando que o *C. theobromicola* utiliza a CMC como fonte de energia (Tabela 3). Para degradar a celulose em glicose é necessária a ação de enzimas específicas para tal função. Somente três tipos de enzimas fazem esta degradação: a celulase de ação endo (endoglucanase), celulasas de ação exo (celobiohidrolase) e celobiase (glicosidases) (Eriksson et al, 1990).

Os ensaios do revestimento com quitosana na concentração de 2% mostraram a inibição total de germinação de conídios (Tabela 3). Importante destacar que esta concentração é utilizada na formulação de revestimentos para diferentes tipos de frutas, incluindo o mamão. Testes utilizando concentrações de 0,5% e 1,0% de quitosana foram realizados no laboratório, mas também provocaram inibição total da germinação de conídios (dados não apresentados). Há trabalhos na literatura que mostram que a quitosana afeta a germinação e a morfologia das hifas de fungos *Rhizopus stolonifer* e *B. cinerea* que crescem nos frutos (Ghaouth et al, 1991; Verleet et al, 2017).

A atividade fungicida da quitosana foi testada após um esfregaço em placa de Petri contendo meio de cultura BDA, inoculando os conídios que receberam o tratamento de quitosana a 2%, constatando-se que não houve crescimento do

fungo. Isso foi verificado por Lopez-Moya et al, (2015), que também constataram a morte celular de células fúngicas em contato com a quitosana.

A atividade antifúngica da quitosana pode ser influenciada pelo pH do meio que altera a sua solubilidade durante o preparo do revestimento. O grupamento amina se torna carregado positivamente ($-NH_3^+$) em pH levemente ácido, fazendo com que a quitosana seja mais solúvel e tenha uma melhor atividade antimicrobiana que a quitina (Price et al, 2007; Chua et al, 2008; Kong et al, 2010).

3.4- Permeabilização da membrana plasmática

Os testes de permeabilização de membranas foram acompanhados por análises de imagens microscópicas dos conídios (Figura 5). Nota-se que após um período de incubação de 24 horas, somente o tratamento utilizando quitosana na concentração de 2% foi capaz de causar a permeabilização da membrana plasmática dos conídios de *C. theobromicola*. Este fato é indicado pelo notável e intenso sinal de fluorescência, denotando que o tratamento com quitosana facilitou a entrada e a subsequente marcação da sonda, sugerindo, portanto, a efetiva permeabilização dessa membrana, com 100% das células permeabilizadas (Tabela 4). Contrariamente, nas condições avaliadas, os tratamentos com CMC e amido não demonstraram capacidade em induzir a permeabilização da membrana plasmática dos conídios, apresentando 0% de células permeabilizadas.

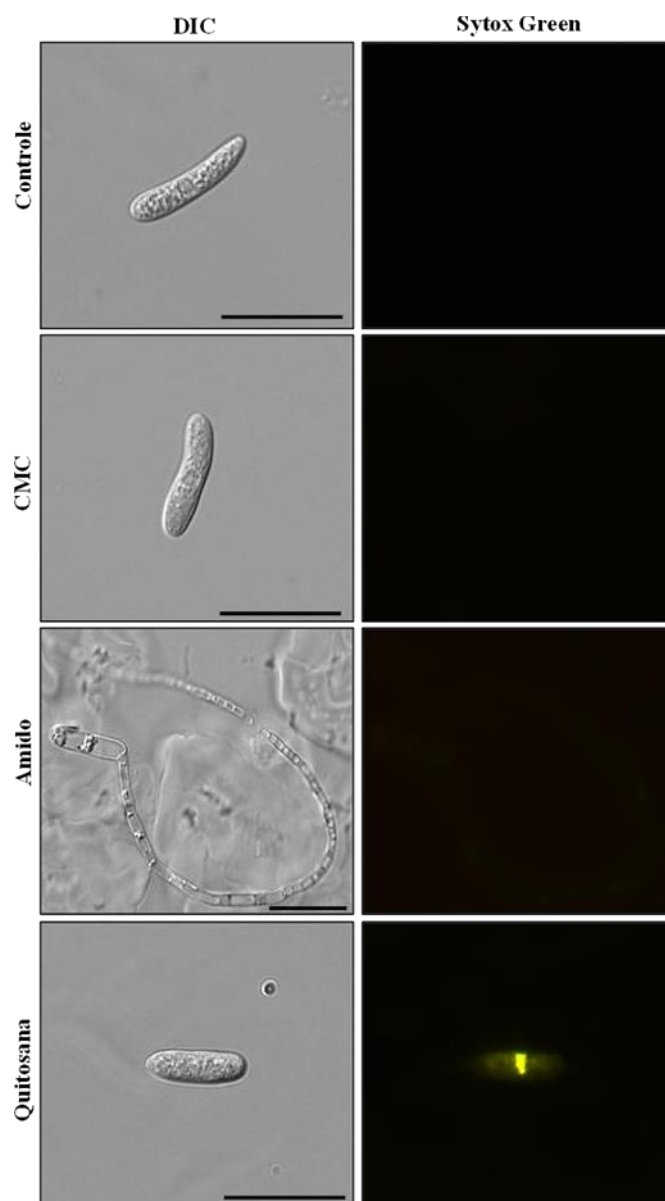


Figura 5: Imagens de microscopia de fluorescência dos conídios destacando as imagens feitas em campo claro, usando um Contraste de Interferência Diferencial (DIC), e em campo escuro, usando a sonda fluorescente Sytox green. Os conídios foram avaliados após 24 horas de incubação a $25 \pm 3^\circ\text{C}$ em diferentes bases poliméricas. Barras de 20 μm .

A parede celular fúngica é composta por quitina, um polissacarídeo que em alguns fungos fitopatogênicos presentes no mamão, ocorrem na composição de 13% até 37%. A enzima quitinase presente na quitosana consegue degradar a ligação β -1,4 da quitina, colaborando para danos na parede celular (Lucas-Bautista et al, 2019; Pontón, 2008; Muzzarelli, 2011).

A quitosana dificulta o crescimento de diferentes fitopatógenos e fungos, incluindo, *Alternaria spp.*, *Colletotrichum spp.* ou *Trichoderma spp.* Além disso,

permeabiliza a membrana plasmática desencadeando a produção intracelular de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Lopez-Moya et al, 2015).

Diferentes estudos mostram que diferentes mecanismos de ação são propostos para a quitosana, sendo que os mais aceitos são: (i) alteração da permeabilidade da membrana ou parede celular do microrganismo, causando seu rompimento; ii) interação das quitosanas com o DNA do micro-organismo, afetando a síntese de proteínas devido à inibição do mRNA; (iii) quelação de nutrientes (íons metálicos) pelas quitosanas, os quais são essenciais para o crescimento microbiano; ou (iv) formação de um filme polimérico espesso sobre a superfície celular do microrganismo, impedindo trocas gasosas e de nutrientes com o meio externo, levando à morte celular (Li et al., 2010; Lee et al., 2013; Park et al., 2011; Elsabee et al., 2013; Kakaei et al., 2016; Nowzari et al., 2013; Tayel et al., 2010; Champer et al., 2013).

Tabela 4: Dados da contagem do número de conídios/100 μ L feitas em campo claro (DIC), e em campo escuro (Sytox green), e da porcentagem de permeabilização da membrana dos conídios avaliados após 24 horas de incubação a $25 \pm 3^\circ\text{C}$ em diferentes bases poliméricas.

Tratamentos	Conídios no DIC	Conídios no Sytox green	Proporção de conídios permeabilizados (%)
Controle	11 $\pm$ 0,32 Aa	0 $\pm$ 0 Bb	0 B
Amido 6%	11 $\pm$ 0,32 Aa	0 $\pm$ 0 Bb	0 B
CMC 1%	10 $\pm$ 0 Ba	0 $\pm$ 0 Bb	0 B
Quitosana 2%	11 $\pm$ 0,32 Aa	11 $\pm$ 0,32 Aa	100 A

Médias com diferentes letras maiúsculas na mesma coluna e minúsculas na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey com 5% de significância.

4. Conclusão

Neste trabalho foi verificado que as diferentes bases poliméricas interferem na germinação e no crescimento micelial do fungo *C. theobromicola*.

O revestimento com quitosana causou a inibição total da germinação e do crescimento *in vitro* do fungo, com efeito fungicida. Parte do mecanismo de morte dos conídios causada pela quitosana pode ser explicada pela permeabilização da membrana plasmática em 100% dos conídios, observada nos ensaios de microscopia de fluorescência.

A germinação e o crescimento *in vitro* do fungo foram mais facilitados no revestimento com amido, aumentando com a concentração de amido até 6%, alcançando valores iguais ao do tratamento controle contendo o meio de cultura puro com 3,9% de BDA. No entanto, o revestimento contendo 1% de CMC também apresentou alta proporção de germinação dos conídios, porém com menor proporção de crescimento micelial do que o revestimento com 6% de amido.

Considerando o alto custo da quitosana, a CMC pode ser considerada como uma base polimérica mais adequada para a formulação de revestimentos ativos aplicados na conservação pós-colheita do mamão.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro e as bolsas de pesquisa concedidas pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ (Brasil), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES (Brasil) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPQ (Brasil).

Referências

- Ali, A., Pheng, T. W., & Mustafa, M. A. (2015). Application of lemongrass oil in vapour phase for the effective control of anthracnose of 'Sekaki' papaya. *Journal of Applied Microbiology*, 118(6), 1456-1464. <https://doi.org/10.1111/jam.12782>.
- Amariz, A., M. A. C. Lima, D. C. G. Trindade, A. C. N Santos, e T. P. Ribeiro. (2010). "Recobrimentos à base de carboximetilcelulose e dextrina em mangas 'Tommy Atkins'." *Ciência Rural* 40 (10): 2199-2205.
- Assumpção, Rafaela; Nunes, Raquel Soares Casaes. (2020). Antracnose em frutos nativos da Amazônia e metodologias alternativas naturais de controle de fungos toxigênicos causadores da doença. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 12, p. 99676-99688.
- Botelho, R.V. et al, (2010). Quitosana no controle de *Penicillium* sp. na pós-colheita de maçãs. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v.5, p.200-206.

Disponível

em:

<<http://www.abaroecologia.org.br/ojs2/index.php/rbagroecologia/article/view/9776>>. Acesso em: 28 setembro. 2023.

- Botrel, D. A., Soares, N. D. F. F., Camilloto, G. P., & Fernandes, R. V. D. B. (2010). Revestimento ativo de amido na conservação pós-colheita de pera Williams minimamente processada. *Ciência Rural*, 40, 1814-1820.
- Camili, E.C. et al. (2007). Avaliação de quitosana, aplicada em pós-colheita, na proteção de uva 'Itália' contra *Botrytis cinérea*. *Summa Phytopathologica*, v.33, p.215-221. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/sp/v33n3/01.pdf>>. Acesso em: 20 setembro. 2023. doi: 10.1590/S0100-54052007000300001.
- Champer, J.; Patel, J.; Fernando, N.; Salehi, E.; Wong, V.; Kim, J. (2013). *AMB Express*, 3, 1.
- Chaudhary, M.M., Patel, D.S., Chaudhary, D.H. e Dighule, S.B. (2020). Isolamento e caracterização de fungos associados à deterioração dos frutos do mamão. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9 (4), 3434-3437.
- Chen, H. et al. (2019). Application of protein-based films and coatings for food packaging: A Review. *Polymers*, v. 11, n. 2039, p. 1-32.
- Chua, K. G.; Neoh, E. T.; Kang, W. Wang. (2008). Surface functionalization of titanium with hyalurinic acid/chitosan polyelectrolyte multilayers and RGD for promoting osteoblast functions and inhibiting bacterial adhesion, *Biomaterials*, V.29, p. 1412-1421.
- Costa, F., Braga, R. C., Bastos, M. D. S. R., dos Santos, D. N., & Frota, M. M. (2022). Revestimentos comestíveis à base de fécula de mandioca (*manihot esculenta*) em produtos vegetais: uma revisão. *Research, Society and Development*, 11(4), e54511427428-e54511427428.
- da Silva, A. C. G., Silva, N. D. S., & de Sousa, F. F. (2019). Pós-colheita do maracujá amarelo com revestimentos a base de amido da entrecasca de mandioca. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 14(2), 238-245.

- da Silva, B. K. O., Rocha, N. D., Pimentel, T. C., & Klososki, S. J. (2016). Películas de amido de mandioca na conservação pós-colheita de morango, maracujá e pimenta doce. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v.18, n.3, p.283-291, 2016.
- de Andrade, C. M., Bicalho, K. C., Gomes, I. R., Menditi, A. C. C., & de Resende, E. D. (2022). Avaliação de revestimentos ativos de baixo custo incorporados com óleo essencial de pimenta rosa para conservação de morango. *Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de alimentos*.
- de Souza Coelho, C. C., de Oliveira Fonseca, M. J., Soares, A. G., da Silveira Campos, R., & Silva, O. F. (2017). Aplicação de revestimento filmogênico à base de amido de mandioca e de óleo de cravo-da-índia na conservação pós-colheita de goiaba 'Pedro Sato'. *Revista Engenharia na Agricultura*, 25(6), 479-490.
- Debnath, D., Samal, I., Mohapatra, C., Routray, S., Kesawat, M. S., & Labanya, R. (2022). Chitosan: An Autocidal Molecule of Plant Pathogenic Fungus. *Life*, 12(11), 1908.
- do Amaral, D. P., Bicalho, K. C., da Matta, L. D. S. V., & de Resende, E. D. (2020). Introdução de novas tecnologias na cadeia produtiva do morango para preservação de qualidade e aumento do tempo de armazenamento e comercialização dos frutos. *Mostra de Extensão IFF-UENF-UFF-UFRRJ*, 12.
- Dong, F., & Wang, X. (2017) Efeitos da carboximetilcelulose incorporada com revestimentos compostos de óleo essencial gálico para melhorar a qualidade de morangos. *Jornal Internacional de Macromoléculas Biológicas*, 104, 821-826.
- Donini, L.P.; Bernardi, E.; Minotto, E.; Nascimento, J.S. (2005). Desenvolvimento *in vitro* de *Pleurotus* spp. sob a influência de diferentes substratos e dextrose. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.72, n.3, p.331-338.
- Dos Passos Braga, S., Lundgren, G. A., Macedo, S. A., Tavares, J. F., dos Santos Vieira, W. A., Câmara, M. P. S., & de Souza, E. L. (2019). Application of coatings formed by chitosan and *Mentha* essential oils to control anthracnose caused by *Colletotrichum gloesporioides* and *C. brevisporum* in papaya

- (*Carica papaya* L.) fruit. *International Journal of Biological Macromolecules*, 139, 631-639. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.010>.
- Dotto, L. G., Vieira, M. L. G., & Pinto, L. A. A. (2015). Use of chitosan solutions for the microbiological shelf life extension of papaya fruits during storage at room temperature. *Food Science and Technology*, 64(1), 126-130. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.042>
- Elsabee, M. Z.; Abdou, E. S. (2013). *Sci. Eng.*, 33, 1819.
- Eriksson K-E, Blanchette RA, Ander P. (1990). *Microbial and Enzymatic Degradation of Wood and Wood Components*. Berlin: Springer-Verlag.
- Friedrichsen, Jéssica Souza Alves et al. (2022). Propriedades e funcionalidades oferecidas a alimentos por filmes e revestimentos comestíveis: Uma revisão. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 13, p. e468111335649-e468111335649.
- Ghaouth, A.; Arul, J.; Ponnampalam, R.; Boulet, M. (1991). Chitosan Coating Effect on Storability and Quality of Fresh Strawberries. *J. Food Sci.*, 56, 1618- 1620.
- Gomes, M. M. A. Revestimento de frutas e hortaliças como forma de conservação pós-colheita: uma revisão sobre a cultura do Morango. (2022). 47 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) - Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, Paraíba, Brasil, 2022.
- Granja, R. D. C. B., de Almeida Neves, F. P., Feitoza, G. S., de Seixas, J. R. P. C., & da Silva Siqueira, L. C. (2021). Avaliação do efeito do revestimento à base de quitosana na conservação pós-colheita do Umbu. *Brazilian Journal of Development*, 7(10), 95693-95706.
- Guerra, I.C.D.; Oliveira, P.D.L.; Pontes, A.L.S.; Lúcio, A.S.S.C.; Tavares, J.F.; Barbosa-Filho, J.M.; Madruga, M.S.; Souza, E. L. (2015) Coatings comprising chitosan and *Mentha piperita* L. or *Mentha x villosa* Huds essential oils to prevent common postharvest mold infections and maintain the quality of cherry tomato fruit. *International Journal of Food Microbiology*, v. 214, p. 168-178.

- Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA) (2024). Taxa de câmbio anual. IPEA. Retrieved from <http://www.ipeadata.gov.br/ExibeSerie.aspx?stub=1&serid=38590&module=M>.
- Thevissen, K., Terras, F. R., & Broekaert, W. F. (1999). Permeabilization of fungal membranes by plant defensins inhibits fungal growth. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(12), 5451-5458.
- Kakaei, S.; Shahbazi, Y. (2016). *LWT - Food Sci. Technol*, 72, 432.
- Kong, M.; Chen, X. G.; Xing, K.; Park, H. J. (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*, v. 144, n. 1, p. 51-63.
- Lee, D. S.; Je, J. Y.; J. (2013) *Agric. Food Chem.*, 61, 6574.
- Li, X. Fang; Feng, X. Qiang; Yang, S.; Fu, G. Qing; Wang, T. pu; Su, Z. Xing. (2010). *Carbohydr. Polym.*, 79, 493.
- Lima, S. F. (2015). Bioprospecção da atividade antimicrobiana de extratos brutos de fungos endofíticos isolados da espécie *Oryctanthus alveolatus* (Kunth) Kuijt.
- Liu, J. et al. (2007). Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, v.44, p.300-3. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925521407000026>>. Acesso em: 20 setembro. 2023. doi: 10.1016/j.postharvbio.2006.12.019.
- Lopez-Moya, F.; Colom-Valiente, M.F.; Martinez-Peinado, P.; Martinez-Lopez, J.E.; Puelles, E.; Sempere-Ortells, J.M.; Lopez-Llorca, L.V. (2015). Carbon and nitrogen limitation increase chitosan antifungal activity in *Neurospora crassa* and fungal human pathogens. *Fungal Biol*, 119, 154-169.
- Lucas-Bautista, J. A., Bautista-Baños, S., Ventura-Aguilar, R. I., & Gómez-Ramírez, M. (2019). Determinación de quitina en hongos postcosecha y de quitinasas en frutos de papaya “Maradol”. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 37(1), 1-7.

- Maia, A.J. et al. (2010). Ação de quitosana sobre o desenvolvimento de *Plasmopora viticola* e *Elsione ampelina*, *in vitro* e em videiras cv. 'Isabel'. *Summa Phytopathologica*, v.36, p.203-209. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-4052010000300003&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 8 setembro. 2023. doi: 10.1590/S0100-54052010000300003.
- Muzzarelli, R. A. (2011). Chitin nanostructures in living organisms. *hk*, 1-34.
- Nowzari, F.; Shábanpour, B.; Ojagh, S. M. (2013). *Food Chem*, 141, 1667.
- Park, S. C.; Nah, J. W.; Park, Y. (2011); *Macromol. Res*, 19, 853.
- Pavinatto, A.; de Almeida Mattos, A. V.; Malpass, A. C. G.; Okura, M. H.; Balogh, D. T.; Sanfelice, R. C. (2020). *Int. J. Biol. Macromol*, 151, 1004
- Pontón, J. (2008). La pared celular de los hongos y el mecanismo de acción de la anidulafungina. *Revista Iberoamericana de Micología*, 25(2), 78-82.
- Price, M. G.; Berry, H. A. (2007). Hyaluronic acid: the scientific and clinical evidence, *Journal of Plastic, Reconstructive e Aesthetic Surgery*, V. 60, p. 1110-1119.
- Portes, J. A., Souza, T. G., Santos, T. A. T., Silva, L. L. R., Ribeiro, T. P., Pereira, M. D., & Seabra, S. H. (2015). Reduction of toxoplasma gondii development due to inhibition of parasite antioxidant en-zymes by a dinuclear iron (III) compound. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(12), 7374-7386. <https://doi.org/10.1128/AAC.00057-15>.
- Putzke, J.; Putzke, M. T. L. (1998). *Os Reinos dos Fungos*. Vol. I. Santa Cruz do Sul: EDUNISC.
- Ribeiro, Juliana Martins et al. (2023). Efeito do melado de cana-de-açúcar no desenvolvimento *in vitro* de bananeira (*Musa spp.*) cv. Maçã.
- Rivero Gonzáles, D. et al. (2009). Actividad antifúngica *in vitro* de la quitosana sigma frente a hongos fitopatógenos causantes del manchado del grano en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.). *Fitossanidad*, v.13, p.101-107. Disponível

em: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1562-30092009000200005&script=sci_arttext>. Acesso em: 20 setembro. 2023.

Santos, V. S., Santos, V. S. D., Fernandes, R. D. S., Ferreira Júnior, C. R., Aouada, F. A., Américo-Pinheiro, J. H., & Moura, M. R. D. (2021). Avaliação e caracterização de biofilme comestível de carboximetilcelulose contendo nanopartículas de quitosana e Cúrcuma longa. *Matéria* (Rio de Janeiro), 26, e12926.

Santos Vieira, W. A., Bezerra, P. A., da Silva, A. C., Veloso, J. S., Câmara, M. P. S., & Doyle, V. P. (2020). Optimal markers for the identification of *Colletotrichum* species. *Molecular Phylo-genetic and Evolution*, 143, 106694. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.106694>.

Santos Vieira, W.A., Veloso, J.S., Silva, A.C., Santos Nunes, A., Doyle, V.P., Castlebury, L.A., Câmara, M.P.S. (2022). Elucidating the *Colletotrichum* spp. diversity responsible for papaya anthracnose in Brazil. *Fungal Biology*, 126, 623 – 630. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2022.08.001>

Shahbazi, Y. (2018). Application of carboxymethyl cellulose and chitosan coatings containing *Mentha spicata* essential oil in fresh strawberries. *Elsevier B. V.*, v. 112, p. 264 – 272.

Silva, Adriana Carvalho Sousa et al. (2023). Conservação pós-colheita de mangas pelo uso de revestimentos à base de pectina e carboximetilcelulose associados a ceras vegetais. Dissertação de Mestrado. Disponível em: <https://repositorio.ifgoiano.edu.br/handle/prefix/3860>.

Serpa, M. F. P., Castricini, A., Mitsobuzi, G. P., Martins, R. N., Batista, M. F., & Almeida, T. H. D. (2014). Conservação de manga com uso de fécula de mandioca preparada com extrato de cravo e canela. *Revista Ceres*, 61, 975-982.

Souza, N. A. B. de et al. (2010). Possíveis mecanismos de atividade antifúngica de óleos essenciais contra fungos patogênicos. Tese de Doutorado. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/tede/6853>.

- Taveira, Gabriel Bonan et al. (2022). A new bioinspired peptide on defensin from *C. annuum* fruits: Antimicrobial activity, mechanisms of action and therapeutical potential. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, v. 1866, n. 11, p. 130218, 2022.
- Tayel, A. A.; Moussa, S.; Opwis, K.; Knittel, D.; Schollmeyer, E.; Nickisch-Hartfiel, A. (2010). *Int. J. Biol. Macromol*, 47, 10.
- Trigo, J. M., Albertini, S., Spoto, M. H. F., Sarmiento, S. B. S., Reyes, A. E. L., & Sarriés, G. A. (2012). Efeito de revestimentos comestíveis na conservação de mamões minimamente processados. *Brazilian Journal of Food Technology*, 15, 125-133.
- Verleet, A.; Mincke, S.; Stevens, C. V. (2017). Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives. *Carbohydr. Polym.*, 164, 268-283.
- Villadiego, Alba Manuela Durango; Soares, Nilda De Fátima Ferreira; Andrade, Nélío José De; Puschmann, Rolf; Minim, Valéria Paula Rodrigues; Cruz, Renato. (2005). Filmes e revestimentos comestíveis na conservação de produtos alimentícios/ edible films and coatings for the preservation of food products. *Ceres*, [S. l.], v. 52, n. 300. Disponível em: <http://www.ceres.ufv.br/ojs/index.php/ceres/article/view/3040>. Acesso em: 27 jul. 2023.
- Whistler, R. L. (1993). Chitin. In *Industrial gums* (pp. 601-604). Elsevier. 10.1016/B978-0-08-092654-4.50026-7.

3.2 INIBIÇÃO DA GERMINAÇÃO E DO CRESCIMENTO *IN VITRO* DO FUNGO *COLLETOTRICHUM OKINAWENSE* COM REVESTIMENTO DE CARBOXIMETILCELULOSE INCORPORADO COM DIFERENTES AGENTES ATIVOS

Reproduzido com permissão:

Isamara RG, Solange SS, Gabriel BT, Eduardo NF, Marcos PSC, Eder DR. (2024). Inibição da germinação e do crescimento *in vitro* do fungo *Colletotrichum okinawense* com revestimento de carboximetilcelulose incorporados com diferentes agentes ativos.

RESUMO

O fungo *Colletotrichum okinawense* é considerado o principal fungo patogênico na cultura do mamão, sendo avaliado como uma das cepas mais virulentas da antracnose nos frutos, resultando em grandes perdas pós-colheita, afetando a comercialização dos frutos. O seu controle pós-colheita visa atrasar o estabelecimento da doença e preservar a qualidade dos frutos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de revestimentos ativos de carboximetilcelulose (CMC, 1% m/v) incorporado com três diferentes agentes ativos: extrato hidroalcóolico de *Azadirachta indica* A. Juss., extrato hidroalcóolico de *Momordica charantia* L. e óleo vegetal de *Azadirachta indica* A. Juss. sobre os parâmetros de crescimento *in vitro* de *C. okinawense* a fim de identificar um agente ativo mais adequado para ser aplicado no desenvolvimento de revestimento ativo para conservação pós-colheita de mamões. O crescimento *in vitro* foi determinado em placas de Petri, após 7 dias, já a germinação e a permeabilização da membrana foram avaliadas após 24 h de incubação a $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$. Foi realizada cromatografia líquida e gasosa para identificação dos principais componentes dos agentes ativos. Neste trabalho foi verificado que a CMC é uma base polimérica de baixo custo com grande potencial para ser utilizada como revestimento ativo, frente ao fungo *C. okinawense*. Os extratos hidroalcóolicos de *Azadirachta indica* A. Juss. e de *Momordica charantia* L. inibiram a germinação de esporos em 24 horas, mas não foram eficientes para inibir o crescimento micelial do fungo *C. okinawense*, enquanto o óleo vegetal de

Azadirachta indica A. Juss, em baixas concentrações, inibe o crescimento micelial. No entanto, à medida que se aumenta a concentração, observa-se que ocorre aumento da germinação em 24 horas e aumento do crescimento micelial em sete dias. Assim, com base na inibição do crescimento micelial, a CMC associada ao óleo vegetal de *Azadirachta indica* A. Juss. é adequada para a formulação de revestimentos ativos aplicados na conservação pós-colheita do mamão.

Palavras - chave: Carboximetilcelulose; *C. okinawense*; Agentes ativos.

INHIBITION OF GERMINATION AND *IN VITRO* GROWTH OF THE FUNGUS *COLLETOTRICHUM OKINAWENSE* WITH CARBOXYMETHYLCELLULOSE COATING INCORPORATED WITH DIFFERENT ACTIVE AGENTS

Reproduzido com permissão:

Isamara RG, Solange SS, Gabriel BT, Eduardo NF, Marcos PSC, Eder DR. (2024). Inhibition of germination and *in vitro* growth of the fungus *colletotrichum okinawense* with carboxymethylcellulose coating incorporated with different active agentes.

ABSTRACT

The fungus *Colletotrichum okinawense* is considered the main pathogenic fungus in papaya crops, being evaluated as one of the most virulent strains of anthracnose in fruits, resulting in great postharvest losses, affecting the commercialization of fruits. Its postharvest control aims to delay the establishment of the disease and preserve the quality of the fruits. The objective of this study was to evaluate the effect of active coatings of Carboxymethylcellulose (CMC, 1% m/v) incorporated with three different active agents: hydroalcoholic extract of *Azadirachta indica* A. Juss., hydroalcoholic extract of *Momordica charantia* L. and vegetable oil of *Azadirachta indica* A. Juss. on the *in vitro* growth parameters of *C. okinawense* in order to identify a more suitable active agent to be applied in the development of active coating for postharvest conservation of papayas. *In vitro* growth was determined in Petri dishes after 7 days, and germination and membrane permeabilization were evaluated after 24 h of incubation at $25 \pm 3^\circ\text{C}$. Liquid and gas chromatography were performed to identify the main components of the active agents. In this study, it was verified that CMC is a low-cost polymeric base with great potential to be used as an active coating against the fungus *C. okinawense*. The hydroalcoholic extracts of *Azadirachta indica* A. Juss. and *Momordica charantia* L. inhibited spore germination in 24 hours but were not efficient in inhibiting mycelial growth of the fungus *C. okinawense*, while the vegetable oil of *Azadirachta indica* A. Juss. in low concentrations inhibits mycelial growth, but as the concentration increases, it is observed that there is an increase in germination in 24 hours and an

increase in mycelial growth in 7 days. Thus, based on the inhibition of mycelial growth, CMC associated with vegetable oil from *Azadirachta indica* A. Juss. is suitable for the formulation of active coatings applied in the post-harvest preservation of papaya.

Keywords: Carboxymethyl cellulose; *C. okinawense*; Active agents.

1. Introdução

O mamão é um fruto amplamente consumido e de grande importância mundial, graças às suas características nutricionais e sua importância na economia global. Embora amplamente disseminado, esta cultura tem sofrido grandes perdas pós-colheita, provocadas principalmente pela antracnose, impactando o mercado e a comercialização dos frutos (Tan et al., 2023).

Segundo as principais estatísticas de perdas e desperdício de alimentos em 2022, as perdas pós-colheita de frutos e vegetais são de aproximadamente 45%, sendo a principal causa dessa perda, as doenças fúngicas que aparecem após o amadurecimento de frutos e vegetais. A antracnose é uma doença provocada por fungos fitopatogênicos, se caracteriza por ser uma doença quiescente, onde nenhum sintoma é apresentado enquanto o fruto está verde, se manifestando apenas no fruto maduro, e resultando em lesões alaranjadas e escuras na casca do fruto, deixando-o inviável para o consumo (Yi et al., 2022).

Atualmente fungo *C. okinawense* é a espécie mais prevalente associada à antracnose do mamoeiro no Brasil, representando 57% dos isolados amostrados em todo o Brasil, foi encontrada em sete dos nove estados brasileiros amostrados, sendo a espécie mais prevalente na Bahia, Paraíba, Rio Grande do Norte e Espírito Santo, que são os maiores produtores de mamão e contêm a maior diversidade de espécies de *Colletotrichum*. O fungo *C. okinawense* também é considerado uma das espécies mais agressivas em frutos de mamão, induzindo sintomas típicos de antracnose cinco dias após a inoculação (Vieira et al., 2022).

Em comparação com os fungicidas sintéticos, os revestimentos ativos têm se mostrado uma interessante alternativa para controlar fungos na fase pós-colheita dos frutos, pois apresentam baixo custo, estão disponíveis na natureza, não contaminam o ambiente, não apresentam riscos para a saúde do consumidor, além de ser biodegradável e não provocar resistência aos patógenos (Ali et al., 2015; Dos Passos Braga et al., 2019).

A carboximetilcelulose (CMC), derivada da celulose, é considerada uma boa base polimérica para a formulação de revestimento ativo visando a conservação pós-colheita do mamão, contribuindo para o retardo da maturação do fruto e melhora na aparência visual (Gomes et al., 2024). A CMC é um polímero solúvel em água, apresenta baixo custo, formando um revestimento transparente, que pode ser associado a óleos e extratos vegetais, formando um revestimento ativo que

contribui para o prolongamento da vida útil dos frutos, diminuindo a perda de água e a taxa respiratória (Bahmid et al., 2024). O revestimento de CMC a 3% é eficiente para atrasar o amadurecimento de mangas, suprimir o aumento de sólidos solúveis totais, mitigar a diminuição da firmeza e proporcionar uma acidez titulável substancialmente maior, juntamente com a manutenção da cor da casca, em contraste com frutas não tratadas (Ali et al., 2022). Já o tratamento de CMC ($1,5 \text{ g L}^{-1}$) atrasa significativamente a perda de massa e a deterioração, além de manter maior firmeza, açúcares, acidez titulável, teor de ácido ascórbico, teor total de fenol e atributos sensoriais em goiaba cv. 'Allahabad Safeda' por até 12 dias em condições de armazenamento ambiente (Kumar et al., 2021).

Os extratos e óleos vegetais são produtos naturais, obtidos a partir do metabolismo secundário das plantas, com o objetivo de proteger a planta contra estresse biótico e abiótico. Também são amplamente utilizados na indústria farmacológica, podendo ter ações antioxidantes, antifúngicas, antibacterianas entre outras (Pacheco Borges et al., 2020).

A *Azadirachta indica* A. Juss. é uma planta popularmente conhecida por Nim, que apresenta muitas moléculas químicas, sendo utilizada como matéria prima para extratos aquosos e hidroalcóolicos, além de óleos vegetais que apresentam potenciais antifúngicos, anti-inflamatórios e antioxidantes (Gupta et al., 2017). A maioria das moléculas químicas são extraídas das folhas, podendo ser classificadas como isoprenoides e os não-isoprenoides. No grupo dos isoprenoides estão os diterpenoides, os triterpenoides, as vilasininas, os limonoides e as C-secomeliacinas, já os não-isoprenoides isolados da planta, podem ser proteínas, polissacarídeos, compostos sulfatados, polifenóis dihidrochalconas, coumarinas, taninos e compostos alifáticos e dentre estas moléculas, o triterpenoide isolado de folhas de Nim é uma das principais moléculas com função antifúngica (Brahmachari G. 2004).

De Melo et al. (2021), identificou que o extrato hidroalcólico e o óleo de *A. Indica* A. Juss., ambos usados em concentrações crescentes de 0,25% a 1,0% são eficientes para controlar o crescimento micelial *in vitro* do fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *Vasinfectum*. Foi demonstrado por Wang et al. (2010) que extratos da planta de *A. indica* A. Juss., nas concentrações crescentes de 50, 100 e 200 mg/mL são tóxicos para patógenos fúngicos, como *Poria monticolad* que infecta a madeira, *Aspergillus flavus* de sementes de soja e *Pyricularia oryzae* que infecta a

planta de arroz no campo e o arroz colhido, sendo capazes de diminuir significativamente o tamanho da lesão.

Momordica charantia L., também conhecida como melão de São Caetano é uma planta da família das curcubitáceas, popularmente conhecida por suas ações antidiabetes, antihelmíntica, antifúngica e antidiarreica, teratogênica e anti-inflamatória. Os extratos obtidos das folhas das plantas são ricos em taninos, flavonoides, compostos fenólicos, dentre outros (Gayathry et al., 2022; Li et al., 2015).

Silva et al. (2019) demonstraram que o extrato da folha de *M. charantia* L. tem ação fungistática frente a todas as espécies de *Candida* testadas, tendo concentrações inibitórias de 312,5µg/mL para *C. albicans* e 625µg/mL para *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. glabrata*. O mesmo extrato demonstrou capacidade fungicida nas espécies *C. albicans* e na *C. tropicalis*, nas concentrações 625µg/mL e 1250µg/mL respectivamente. O extrato de *M. charantia* L. nas concentrações de 15%, 25% e 50% também foram eficientes para inibir o crescimento micelial do fungo *Fusarium* sp. *in vitro* (de Brito et al., 2018).

Já existem pesquisas que avaliaram a ação de diferentes revestimentos ativos incorporados com óleos e extratos vegetais para a conservação pós-colheita de frutos (Amancio, 2020; Alves et al., 2022; Mendonça, 2023), porém não existe um estudo criterioso sobre a influência de diferentes agentes ativos, bem como a comparação de agentes ativos polares e apolares sobre o crescimento de fungos da antracnose de mamão e principalmente poucos relatos sobre o controle do fungo *C. okinawense*. Neste contexto é importante mostrar a aplicação de testes microscópios para verificar o efeito destes agentes ativos incorporados no revestimento sobre o crescimento e germinação do fungo *C. okinawense*. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do revestimento ativo de carboximetilcelulose (CMC, 1% m/v) incorporado a três diferentes agentes ativos: extrato hidroalcólico de *A. indica* A. Juss., extrato hidroalcólico de *M. charantia* L. e óleo vegetal de *A. indica* A. Juss. sobre os parâmetros de crescimento *in vitro* de *C. okinawense* a fim de identificar um agente ativo mais adequado para ser aplicado no desenvolvimento de revestimento ativo para conservação pós-colheita de mamões.

2. Material e métodos

2.1. Materiais

Os materiais utilizados para o preparo do revestimento foram adquiridos comercialmente, a carboximetilcelulose foi adquirida na Dinâmica Química Contemporânea Ltda e os agentes ativos (extrato hidroalcolólico de *A. indica* A. Juss., e óleo de *A. indica* A. Juss., obtido por prensagem e extrato hidroalcolólico de *Momordica charantia* L.) foram adquiridos comercialmente da empresa Mundo dos óleos.

2.2. Obtenção do fungo *Colletotrichum okinawense*

O fungo *C. okinawense* utilizado neste trabalho foi isolado de lesões de mamão coletados em lavouras do Espírito Santo- Brasil, obtido por meio de parceria com o Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Recife, onde o isolamento e caracterização foram realizados (Vieira et al, 2022). No Laboratório de Tecnologia de Alimentos da UENF, o fungo foi repicado em placas de petri, contendo meio de cultura BDA para o trabalho, conforme Figura 1.

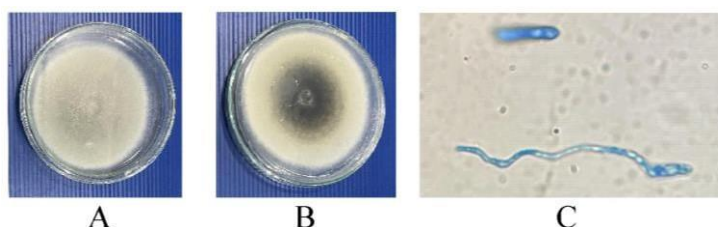


Figura 1: Características da cultura de *C. okinawense* mostrando o micélio com vista superior da placa (A), vista inferior (B) e conídio germinado e não germinado (C). Fonte: Arquivo pessoal.

2.3. Preparo do revestimento de carboximetilcelulose (CMC)

O revestimento de carboximetilcelulose foi preparado na concentração de 1% (m/v). Primeiramente, a CMC foi dissolvida em água destilada (1 % m/v) e a solução foi aquecida em banho-maria sobre placa aquecedora (Fisatom/502 cm), com agitação magnética constante até a temperatura de 70 °C por um tempo de 30

minutos. Posteriormente, o revestimento foi resfriado em banho de gelo até atingir a temperatura 25°C e teve seu pH corrigido para 5,6 (Gomes et al., 2024).

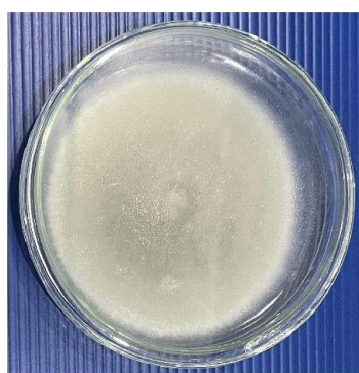
2.3. Preparo das placas de Petri

Foram utilizadas placas de Petri de 9 cm de diâmetro, preparadas com 20 mL de meio de cultura BDA (batata 200 g/l, dextrose 20 g/l, ágar 20 g/l) (KASVI), devidamente esterilizado em autoclave, com temperatura de 121°C e pressão de 1 kgf/cm², por 15 min. Após solidificação do meio BDA e a formação de uma camada regular em toda a placa de Petri, foi adicionado um volume de 10 mL de revestimento ativo e as placas foram acondicionadas em geladeira por 24 h, para solidificação do revestimento na placa.

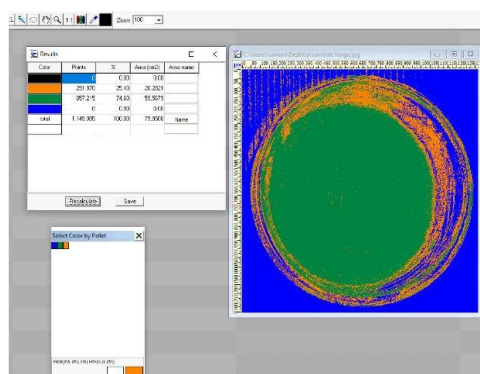
Para a inoculação do fungo, dentro de uma câmara de fluxo laminar, foi realizada um poço no centro de cada placa de Petri, com auxílio de um furador de cobre, e foi adicionado 100 µm de solução de esporos do fungo de *C. okinawense* com a concentração de $65,5 \times 10^5$ células. Posteriormente as placas foram vedadas com filme de policloreto de vinila (PVC) e mantidas em B.O.D. na temperatura de 25 °C, por sete dias com fotoperíodo de 12 horas (Gomes et al., 2024).

2.4. Análise do crescimento micelial

A avaliação do crescimento micelial foi realizada por análise de imagens da placa de Petri com sete dias de crescimento (Figura 2), pela mensuração da área de crescimento do fungo na placa de Petri utilizando o programa QUANT versão 1.0.1 (Liberato, 2001).



A



B

Figura 2: Placa de Petri com crescimento micelial do fungo *C. okinawense* (A), Análise de crescimento micelial de *C. okinawense* por meio de análise de imagens com o programa QUANT 1.0.1. (B) Fonte: Arquivo pessoal.

2.5. Germinação de conídios

Foram preparadas alíquotas de 1 mL de suspensão de conídios de *C. okinawense* (10^5 conídios/mL) obtida a partir de uma cultura de sete dias de crescimento. Posteriormente, foram colocadas em tubos tipo Falcon contendo 10 mL de revestimento, agitadas manualmente e mantidas em câmara BOD a 25 °C por 24 horas. Em seguida, foi adicionado o corante azul de lactofenol para paralisar a germinação, sendo realizada agitação em agitador de tubos do tipo Vortex (QL-901) por 30 segundos. Uma alíquota da mistura contidas no tubo tipo Falcon foi colocada em Câmara de Neubauer para proceder com a contagem do número de conídios germinados, com auxílio de microscópio óptico (Nikon eclipse E200) com aumento de 40 x. Foram considerados conídios germinados os que apresentaram tubo de germinação com 50 % do tamanho do conídio (Guerra et al., 2015). A avaliação foi realizada determinando-se o número de conídios germinados por mL, e a eficácia da inibição da germinação de conídios foi avaliada por meio de comparação da porcentagem de conídios germinados no meio contendo dispersões dos revestimentos ativos, com relação ao ensaio de controle com meio BDA (Gomes et al., 2024).

2.6. Análise de permeabilização da membrana plasmática

A análise foi feita por meio de microscopia de fluorescência, utilizando a sonda Sytox Green para a avaliação da permeabilização da membrana dos conídios do fungo *C. okinawense*. O Sytox Green é um corante de elevada afinidade por ácidos nucleicos, exibindo a capacidade de penetrar de forma eficiente em células cujas membranas plasmáticas encontram-se comprometidas, ao passo que não atravessa membranas celulares íntegras. Após o ensaio de inibição de germinação, volumes de 100 µL das células submetidas às diferentes condições de agentes ativos no revestimento foram submetidos a uma incubação com 0,2 µL de Sytox Green, sob proteção da luz, por um período de 15 minutos. Após esse intervalo, as células foram sujeitas a uma centrifugação de 800 g e submetidas à análise por microscopia de contraste de interferência diferencial (DIC) empregando um

microscópio óptico (Axioplan.A2, Zeiss) equipado com um conjunto de filtros de fluorescência para detecção de fluoresceína (comprimentos de onda de excitação 450 - 490 nm; emissão 500 nm). Como controle negativo, foram utilizadas células incubadas somente com o Sytox Green (Thevissen et al., 1999).

A porcentagem de células permeabilizadas foi calculada com base no número total de células no DIC e imagens fluorescentes de dez campos microscópicos aleatórios para cada amostra, assumindo o número total de células no campo claro de cada amostra como 100% (Taveira et al., 2022).

2.7. Cromatografia dos extratos e óleos

2.7.1. Óleo de *A. indica* A. Juss.

O óleo de *A. indica* A. Juss. foi dissolvido em 1 mL de Diclorometano, derivatizado pela adição de 10 μ L de N, O-bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida (BSTFA) e analisado por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM), utilizando o equipamento PerkinElmer® Clarus® 680 com uma coluna PerkinElmer® Elite-5ms (30 m x 0.25 mm I.D. x 0.25 μ m). A temperatura da coluna foi programada inicialmente em 40°C, mantida por dois minutos, com uma posterior elevação a 80°C na razão de 10°C min⁻¹ e manutenção por cinco minutos. Por fim, houve novamente uma elevação da temperatura a 300°C com razão de 5°C min⁻¹, sendo a temperatura final mantida por 15 minutos. A duração total da análise foi de 70 minutos. O gás de arraste utilizado foi o He com um fluxo de 1 mLmin⁻¹. O equipamento foi ajustado para operar no modo de injeção split em uma razão 1:10, o volume de injeção foi de 1 μ L e as temperaturas do injetor e do detector foram mantidas a 260°C e 290°C, respectivamente. A identificação dos componentes do Óleo de *A. indica* A. Juss. foi baseada no padrão de fragmentação observado nos espectros de massas mediante comparação com os espectros contidos na biblioteca do equipamento (NIST MS Search v 2.3).

2.7.2. Extrato hidroalcoólico de *A. indica* A. Juss. e extrato hidroalcoólico de *Momordica charantia* L.

Para a análise de cromatografia do extrato hidroalcóolico de *A. indica* A. Juss. e extrato hidroalcóolico de *M. charantia* L. foram utilizados volume de injeção 10 µl e um fluxo de 0,5 mL.min⁻¹. Foram observados os seguintes comprimentos de onda 215, 235, 254, 280, 320, 340, 380 e 420 nm e os espectros de Ultravioleta foram todos registrados na faixa de 190 a 640 nm.

A fase móvel foi composta de água MilliQ, acidificada com ácido fórmico à 0,1% com pH de 3,3 (A) e Acetonitrila grau HPLC (B). No início da análise, a proporção era de 95 % da A e 5% de B; em 50 minutos a proporção se inverte para 100 % de B; foi mantido 100% de B por mais 10 minutos, para a lavagem da coluna, e voltando a condição inicial em 61 minutos. O tempo entre análises foi de 10 minutos. A coluna utilizada foi a Hypersil Gold C18-RP com dimensões de 250 x 4,6 mm e com partícula de 5 micra do fabricante Thermo Scientific. As identificações dos componentes dos extratos foram baseadas nos padrões de fragmentação observados nos espectros de massas mediante comparação com os espectros contidos na literatura.

2.8. Análises estatísticas

O ensaio de crescimento micelial foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, utilizando três tipos de agentes ativos no revestimento de CMC em diferentes concentrações (Extrato de *A. indica* A. Juss., extrato de *M. charantia* e óleo de *A. indica* A. Juss.), com quatro repetições. As análises de germinação de conídios foram feitas com quatro repetições, já a permeabilização da membrana foi realizada com 10 repetições. Os dados foram avaliados por meio de ANOVA, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey com probabilidade de 95% ($\leq 0,05$), utilizando o software computacional Jamovi 2.4.8.

3. Resultados e discussões

3.1. Crescimento micelial

Para se desenvolverem, os fungos precisam de carbono, nitrogênio, água, sais minerais e fatores de crescimento (Lima, 2015). O crescimento micelial é uma

massa filamentosa que se forma a partir da germinação dos conídios do fungo, desenvolvendo as hifas, que são finos filamentos (Putzke et al., 1998).

Os ensaios de crescimento micelial do fungo *C. okinawense*, ao longo de sete dias, mostraram que, assim como já havia sido verificado por Gomes (2024), a CMC é uma base polimérica de baixo custo e que permite o crescimento micelial do fungo de forma semelhante ao que acontece com o crescimento do fungo somente com meio de cultura BDA (Tabela 1).

Nas condições testadas neste experimento, o extrato hidroalcólico de *M. charantia* L. nas concentrações variando de 1% a 20% não foram eficientes para inibir o crescimento micelial do fungo *C. okinawense*. Com a concentração de extrato a 20%, o crescimento micelial atingiu 83,4% da placa de petri ao fim de sete dias. De maneira semelhante, o extrato hidroalcólico de *A. Indica* A. Juss., variando nas concentrações de 3% a 20%, não foram eficazes para inibir o crescimento micelial do fungo *C. okinawense*. O extrato na concentração de 20% permitiu que o crescimento micelial atingisse 90,1% da placa de Petri (Tabela 1).

Já o óleo vegetal de *A. Indica* A. Juss. variando nas concentrações de 0,05% a 1%, inibiram totalmente o crescimento micelial do fungo *C. okinawense*, se mostrando um óleo interessante para inibição, quando usado em concentrações mais baixas. Ao contrário, à medida que a concentração de óleo de *A. Indica* A. Juss. aumenta ocorre a ampliação do crescimento micelial do fungo (Tabela 1).

Tabela 1: Áreas do crescimento (cm²) micelial *in vitro* de *Colletotrichum okinawense* em revestimentos de CMC com diferentes concentrações dos agentes ativos após sete dias de incubação a 25 ± 3 °C. Os dados representam as médias de quatro repetições, com respectivo erro padrão da média.

Tratamento	Área de crescimento micelial (%)
Controle (só BDA)	96,1 ± 1,41 A
Controle com CMC	96,4 ± 1,55 A
Controle + tween 20	97,7 ± 1,34 A
Controle + álcool de cereais	98,0 ± 0,80 A
Fungicida	0,0 ± 0 F
EXT. <i>M. charantia</i> L. 1 %	98,7 ± 0,41 A
EXT. <i>M. charantia</i> L. 3 %	98,3 ± 0,38 A
EXT. <i>M. charantia</i> L. 4 %	92,1 ± 1,31 B
EXT. <i>M. charantia</i> L. 4,25 %	82,7 ± 4,25 D
EXT. <i>M. charantia</i> L. 4,50 %	90,4 ± 2,58 CD
EXT. <i>M. charantia</i> L. 4,75 %	87,7 ± 2,72 D
EXT. <i>M. charantia</i> L. 5,0 %	79,1 ± 3,86 D
EXT. <i>M. charantia</i> L. 6,0 %	84,4 ± 3,06 D
EXT. <i>M. charantia</i> L. 7,0 %	87,7 ± 5,70 D
EXT. <i>M. charantia</i> L. 8,0 %	91,0 ± 1,59 C
EXT. <i>M. charantia</i> L. 9 %	92,4 ± 0,69 B
EXT. <i>M. charantia</i> L. 10 %	88,2 ± 0 D
EXT. <i>M. charantia</i> L. 12 %	84,6 ± 5,06 D
EXT. <i>M. charantia</i> L. 15 %	86 ± 1,35 D
EXT. <i>M. charantia</i> L. 20 %	83,4 ± 3,36 D
EXT. de <i>A. indica</i> A. Juss. 3 %	99,3 ± 0 A
EXT. de <i>A. indica</i> A. Juss. 4 %	92,4 ± 1,45 C
EXT. de <i>A. indica</i> A. Juss. 4,25 %	91,4 ± 1,20 C
EXT. de <i>A. indica</i> A. Juss. 4,50 %	92,4 ± 2,64 C
Ext. de <i>A. indica</i> A. Juss. 5 %	97,9 ± 1,38 A
Ext. de <i>A. indica</i> A. Juss. 7 %	95,7 ± 2,18 A
Ext. de <i>A. indica</i> A. Juss. 8 %	92,6 ± 1,49 B
Ext. de <i>A. indica</i> A. Juss. 9 %	93,7 ± 0 B
Ext. de <i>A. indica</i> A. Juss. 10 %	84,6 ± 2,08 D
Ext. de <i>A. indica</i> A. Juss. 11 %	89,3 ± 1,49 D
Ext. de <i>A. indica</i> A. Juss. 12 %	92,6 ± 1,10 C
Ext. de <i>A. indica</i> A. Juss. 15 %	88,2 ± 1,56 D
Ext. de <i>A. indica</i> A. Juss. 20 %	90,1 ± 1,30 C
Óleo de <i>A. indica</i> A. Juss. 0,05 %	0,0 ± 0,0 F
Óleo de <i>A. indica</i> A. Juss. 0,1 %	0,0 ± 0,0 F
Óleo de <i>A. indica</i> A. Juss. 0,15 %	0,0 ± 0,0 F
Óleo de <i>A. indica</i> A. Juss. 1 %	0,0 ± 0,0 F
Óleo de <i>A. indica</i> A. Juss. 3 %	49,9 ± 9,63 E
Óleo de <i>A. indica</i> A. Juss. 4 %	74,4 ± 1,59 D
Óleo de <i>A. indica</i> A. Juss. 5 %	95,1 ± 1,38 C
Óleo de <i>A. indica</i> A. Juss. 6 %	79,9 ± 1,59 D
Óleo de <i>A. indica</i> A. Juss. 12 %	84,9 ± 2,11 D

Médias com diferentes letras maiúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey com 5% de significância.

O resultado deste trabalho vai de encontro aos resultados de Silva et al. (2021), onde o óleo de *A. indica* A. Juss. permitiu o crescimento dos patógenos *Fusarium sp* e *Aspergillus sp*, mostrando que o mesmo usado em altas concentrações promove a replicação *in vitro* destes fungos.

Cada óleo ou extrato possui sua atividade biológica, e isso depende da sua composição química, que é determinada pelo genótipo da planta e influenciada pelas condições ambientais e agrônômicas (Sivakumar e Bautista-Baños, 2014). Porém, a sensibilidade que cada fungo apresenta aos óleos e extratos depende do tipo do produto, da concentração utilizada e dos compostos presentes no produto, pois os compostos individuais podem exibir atividade antifúngica isoladamente ou em conjunto com outros compostos (Sarkhosh et al., 2017).

Moraes (2022) cita que o óleo essencial de laranja doce na concentração de 50 µL/mL é efetivo para inibir o crescimento micelial de *C. okinawense* em 90% ao fim de sete dias de incubação. Já com o óleo essencial de limão siciliano, também na concentração de 50 µL/mL, foi verificada a inibição de 88 % dos micélios de *C. okinawense*.

O óleo essencial de tomilho, na concentração de 2000 µL L⁻¹ exibe forte atividade antifúngica, eliminando totalmente a deterioração causada por *C. gloesporioides* (Sarkhosh et al., 2017).

3.2. Germinação de conídios

A germinação de conídios da espécie *Colletotrichum* se trata da emissão de tubo germinativo, um filamento fino, responsável pela produção de conídios em sua extremidade. Para que ocorra a germinação, além de nutrientes disponíveis e calor, é essencial que tenha a presença de água livre ou em elevada umidade relativa (>90%) (Menezes, 2006).

O tratamento controle, preparado com solução de meio de cultura Batata Dextrose Ágar na concentração de 3,9% proporcionou 100% de germinação de conídios (Figura 3) ao passo que o tratamento contendo somente revestimento ativo de CMC (1% m/v) teve 71,9% dos conídios germinados. Já o tratamento controle + Tween 20 teve 90,6 % dos conídios germinados.

Neste experimento foi observado que, à medida que se aumenta a concentração dos extratos hidroalcóolicos de *M. charantia* L. e de *A. indica* A. Juss. no revestimento, ocorre a diminuição da proporção da germinação de conídios em 24 horas (Figura 3). Ao contrário, o aumento da concentração de óleo essencial de *A. indica* A. Juss. promove um aumento também da proporção de conídios germinados em 24 horas.

Resultados semelhantes foram encontrados por de Melo et al. (2021), ao observarem que o aumento da concentração do extrato de *A. indica* A. Juss. promove a diminuição progressiva da esporulação de *Fusarium*. No entanto, o mesmo padrão não foi observado nos tratamentos com o óleo de *A. indica* A. Juss., em que fungos crescidos nas placas que continham 0,50% do óleo, esporularam significativamente mais que o fungo crescido na concentração de 0,25% e nas demais concentrações utilizadas, não seguindo, portanto, a lógica observada no ensaio com o extrato.

Quando observamos os tratamentos realizados com extrato de *M. charantia* L. vimos que, com 1% de extrato no revestimento, a proporção de germinação foi 53,1%, sendo que, o aumento da concentração de extrato provoca uma redução da proporção de conídios germinados, atingindo 3,13% nas concentrações de 5% (Figura 3).

No extrato de *A. indica* A. Juss. também ocorre a diminuição da germinação à medida que se aumenta a concentração de extrato no revestimento. Com 1% de extrato tem-se 71,9% dos conídios germinados, já com o extrato a 5% tem-se 6,25% dos conídios, germinados e com 6% de extrato nenhum conídio germina em 24 horas (Figura 3).

A germinação com óleo de *A. indica* A. Juss. apresenta um comportamento diferente dos extratos hidroalcóolicos. Nota-se, na Figura 3, que à medida que se aumenta a concentração de óleo tem-se, também, o aumento na germinação de conídios. Na concentração de 1% de óleo no revestimento ocorre germinação de 50% dos conídios, já com 5% de óleo verifica-se 93,8% de conídios germinados. Por outro lado, nas concentrações ainda menores de óleo no revestimento, foram encontrados valores também menores de germinação, alcançando 28,1% de germinação no revestimento contendo 0,5% de óleo (dados não mostrados).

O principal mecanismo de ação que a maioria dos óleos essenciais exerce está relacionado com danos na parede celular, envolvendo o processo de

desnaturação e coagulação de proteínas. Os óleos essenciais alteram a permeabilidade da membrana citoplasmática aos íons hidrogênio (H^+) e potássio (K^+), que compromete os processos vitais da célula como transporte de elétrons, translocação de proteínas, processo de fosforilação e outras reações dependentes de enzimas, resultando em perda do controle quimiosmótico da célula afetada e, conseqüentemente, na morte do microrganismo (Dorman e Deans, 2000 citado por Bona et al., 2012).

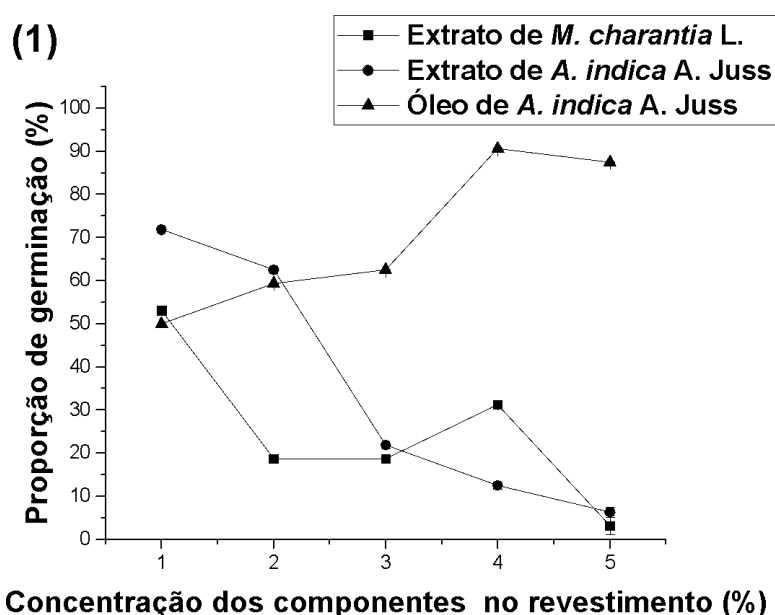


Figura 3: Proporção da germinação de conídios (%) de *C. okinawense* em diferentes concentrações de agentes ativos no revestimento de CMC, após 24 horas de incubação a $25 \pm 3^\circ C$. Os dados representam as médias de quatro repetições e as barras estão indicando o coeficiente de variação das medidas. Fonte: Arquivo pessoal.

3.4. Análise de permeabilidade da membrana plasmática

Os testes de permeabilidade de membranas foram acompanhados por análises de imagens microscópicas dos conídios (Figura 4). Nota-se que após um período de incubação de 24 horas, somente o tratamento utilizando extrato de *M. charantia* L., na concentração de 6% foi capaz de causar a permeabilização da membrana plasmática dos conídios de *C. okinawense*. Este fato é indicado pelo notável e intenso sinal de fluorescência, denotando que o tratamento com *M. charantia* L. na concentração de 6% facilitou a entrada e a subsequente marcação da sonda, promovendo, portanto, a efetiva permeabilização dessa membrana, com

100% das células permeabilizadas (Tabela 2). Ao contrário, nas condições avaliadas, os outros tratamentos não demonstraram capacidade em induzir a permeabilização da membrana plasmática dos conídios, apresentando 0% de células permeabilizadas.

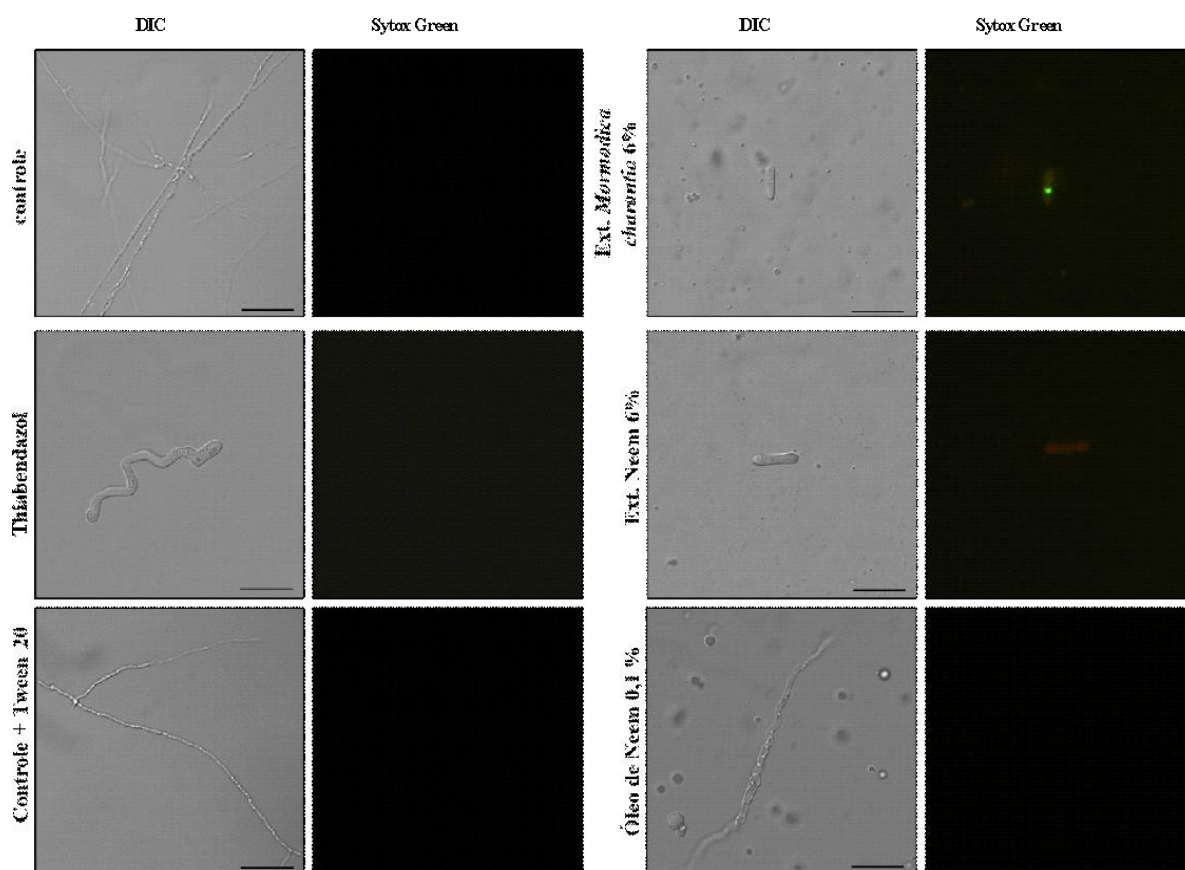


Figura 4: Imagens de microscopia de fluorescência dos conídios destacando as imagens feitas em campo claro, usando um Contraste de Interferência Diferencial (DIC), e em campo escuro, usando a sonda fluorescente Sytox green. Os conídios foram avaliados após 24 horas de incubação a $25 \pm 3^\circ\text{C}$ em diferentes bases poliméricas, Barras de 20 μm .

Os tratamentos de controle somente com CMC e com CMC + Tween não permeabilizaram a membrana plasmática, pelo contrário mostram tubos germinativos muito crescidos, prontos para efetivarem o crescimento micelial do fungo *C. okinawense* (Figura 4).

O tratamento com o fungicida Thiabendazol na concentração de 0,00065 mg/l, concentração usualmente utilizada nas *packing houses* de mamão brasileiro para combater os fungos que provocam a antracnose, não foi efetivo para permeabilizar a membrana plasmática dos conídios de *C. okinawense* (Figura 4).

Tabela 2: Dados da contagem do número de conídios/100 μ L feitas em campo claro (DIC), e em campo escuro (Sytox green), e da porcentagem de permeabilização da membrana dos conídios avaliados após 24 horas de incubação a $25 \pm 3^\circ\text{C}$ em diferentes agentes ativos no revestimento de CMC.

Tratamentos	Conídios no DIC	Conídios no Sytox green	Proporção de conídios permeabilizados (%)
Controle	10 $\pm$ 0	-	-
Tiabendazol	10 $\pm$ 0	-	-
Controle + Tween 20	10 $\pm$ 0	-	-
Ext. de <i>M. charantia</i> 6%	10 $\pm$ 0	9 $\pm$ 0	90
Ext. de <i>A. indica</i> A. Juss. 6%	10 $\pm$ 0	-	-
Óleo de <i>A. indica</i> A. Juss. 0,1%	10 $\pm$ 0	-	-
Óleo de <i>A. indica</i> A. Juss. 5%	10 $\pm$ 0	-	-
Ext. de <i>M. charantia</i> 12%	10 $\pm$ 0	-	-
Ext. de <i>A. indica</i> A. Juss. 12%	10 $\pm$ 0	-	-

Médias com diferentes letras maiúsculas na mesma coluna e minúsculas na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

No tratamento com 6% de extrato de *A. indica* A. Juss. observa-se células com aspecto avermelhado, mas que não foram marcadas com a sonda Sytox Green. Esse aspecto avermelhado nos conídios indicam um estresse oxidativo, mostrando que o extrato de *A. indica* A. Juss., na concentração de 6%, provoca uma desordem interna na célula (Figura 4). O estresse oxidativo ocorre devido à produção exagerada de espécies reativas de oxigênio (EROs) e nitrogênio (ERNs), além de fatores exógenos, resultando em um desequilíbrio que promove alterações funcionais e estruturais de proteínas, peroxidação lipídica e danos no DNA (Vasconcelos et al., 2007).

Já no tratamento com óleo de *A. indica* A. Juss. na concentração de 0,1 % (o tratamento mais efetivo para inibir o crescimento micelial) não houve permeabilização da membrana. No entanto podemos observar um tubo germinativo grande, com presença de microvacúolos indicativo de que a célula está aumentando sua atividade celular, com acréscimo dos microvacúolos de suco celular (Figura 4). Em processos de degeneração celular é comum o aumento de vacúolos, indicando que alguma desordem celular está acontecendo (Serra, 2020).

Segundo Juven et al. (1994), os óleos provocam um aumento na atividade celular do fungo, deixando a membrana mais permeável à absorção, o que resulta em perda de conteúdo celular vital. Isso acontece devido ao grupo OH^- presente na

estrutura molecular de alguns óleos que permite a ligação a grupos amina e hidroxilamina de proteínas presentes nas membranas celulares dos fungos.

Tratamentos com maiores concentrações de extrato de *M. charantia* L. (12%), extrato de *A. indica* A. Juss. (12%) e óleo de *A. indica* A. Juss. (5%) também foram realizados (dados não apresentados). Os testes mostraram que, nessas condições, não houve permeabilização da membrana plasmática dos conídios e não foi observado nenhum estresse oxidativo nos conídios.

3.5. Cromatografia dos agentes ativos

Na análise do óleo de *A. indica* A. Juss. foram identificados cinco principais componentes, com diferentes tempos de reação. O ácido octadecadienoico, mais conhecido como ácido linoleico, apresentou tempo de retenção de 36.01, já o ethyl isso-allocholeate apresentou tempo de retenção de 54.731, o trinolein, um triacilglicerol natural encontrado em várias plantas apresentou tempo de retenção de 56.595, já a dipalmitina, derivado de TMS, apresentou tempo de retenção de 57.862 e o 2-oleoylglycerol com tempo de retenção de 61.318. O perfil cromatográfico deste óleo pode ser visualizado na Figura 5.

Os compostos majoritários do óleo de *A. indica* A. Juss. são semelhantes com os componentes majoritários apresentados na literatura. De forma geral pode apresentar alguma diferença entre um composto e outro que ocorre devido à composição do óleo *A. indica* A. Juss. ser variável em função da variedade da planta, do solo, clima e tratamentos culturais (Pinto et al, 2010).

Um dos componentes do óleo de *A. indica* A. Juss. mais citados na literatura, responsável pela ação antifúngica é o Azadiractina (Govindachari et al., 1998). Machado et al., (2015), em seus estudos *in vitro* concluiu que o óleo de *A. indica* A. Juss., na concentração de 64 mL L⁻¹ foi eficiente para controlar o crescimento micelial dos fungos *Lasiodiplodia theobromae* e *C. gloesporioides*.

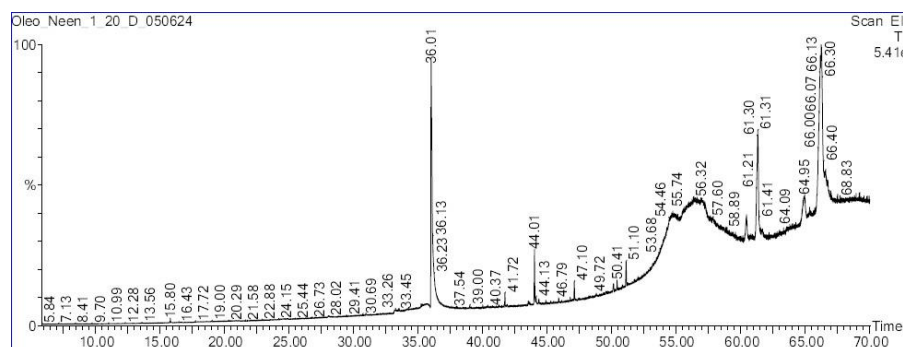


Figura 5: Perfil cromatográfico do CG massas do óleo vegetal de *A. indica* A. Juss. destacando os picos dos componentes encontrado nos seus tempos de retenção.

Já na análise do extrato de *A. indica* A. Juss., foram encontrados cinco principais compostos, com identificação não confirmada na literatura. O primeiro composto majoritário apresenta tempo de retenção de 6.895 e área de 7.3242%, o segundo tem tempo de retenção de 7.744 e área de 8.094%, o terceiro foi apresenta tempo de retenção de 8.178 e área de 5.5530%, o quarto componente tem tempo de retenção de 14.040 e área de 8.1541% e o quinto componente majoritário apresenta tempo de retenção de 15.137 e área de 2.4667%. O perfil cromatográfico deste extrato hidroalcóolico pode ser visualizado na Figura 6.

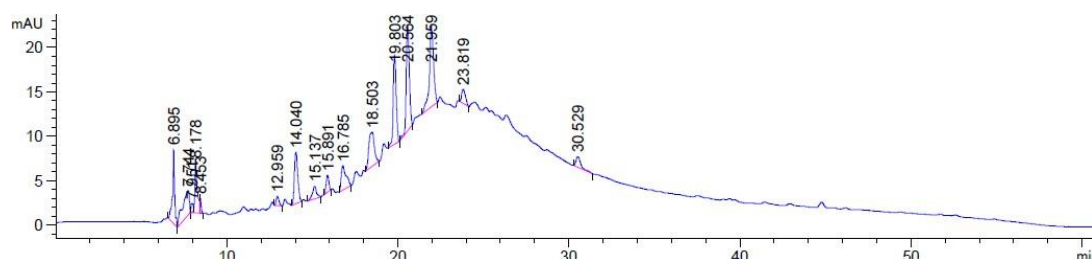


Figura 6: Perfil de cromatografia do HPLC do extrato de *A. indica* A. Juss. com os principais picos dos componentes encontrados nos seus tempos de retenção em destaque.

Segundo Santos et al. (2012), no extrato de *A. indica* A. Juss., o principal componente encontrado que está associado com ações antifúngicas e antiparasitárias é a Azadiractina, assim como no óleo, porém, devido à forma de extração, o componente pode estar em menor quantidade.

Já na análise do extrato de *M. charantia* L., foram encontrados cinco componentes majoritários, mas com identificação não confirmada na literatura. O primeiro componente apresenta tempo de retenção de 6.884 e área de 7.3414%, o segundo componente apresenta tempo de retenção de 7.742 e área de 7.9158%,

o terceiro componente tem tempo de retenção de 18.598 e área de 17.5366%, e o quarto componente apresenta tempo de retenção de 20.568 e área de 9.7685%, e o quinto e último componente tem tempo de retenção 44.782 e área de 6.8320%. O perfil cromatográfico deste extrato hidroalcólico pode ser visualizado na Figura 7.

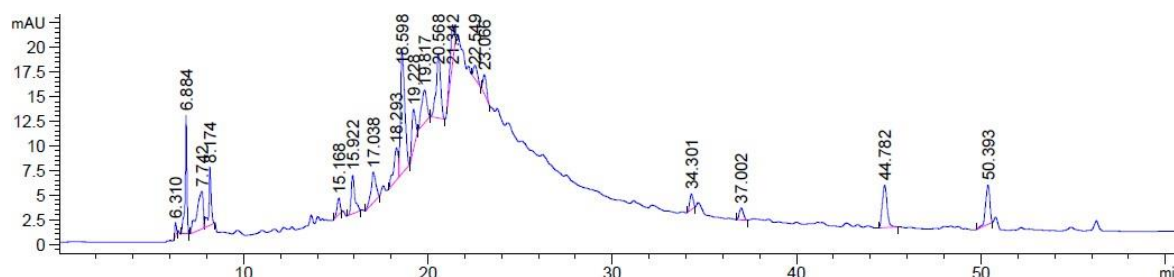


Figura 7: Imagem de cromatografia do HPLC do extrato de *M. charantia* L. com os pontos em destaque. Fonte: Acervo pessoal.

O extrato de *M. charantia* L. contém uma grande quantidade de metabólitos secundários, tais como, a tricosantina, momordicinas, triterpenos, esteroides, saponinas, flavonoides, taninos e triterpenosglicosidados em sua composição química, componentes que estão associados à ação antifúngica e antimicrobiana (do Nascimento et al., 2019).

3. Conclusão

Neste trabalho verificou-se que o revestimento de CMC com baixas concentrações de óleo de Nim foi efetivo para inibir o crescimento *in vitro* do *C. okinawense*, possivelmente devido à alteração verificada no tubo germinativo do conídio, com presença de microvacúolos. Porém, em concentrações acima de 1% ocorre o estímulo ao seu crescimento *in vitro*. A germinação de conídios ocorre em menor proporção sob baixas concentrações do óleo de Nim, contudo ela aumenta com a concentração do óleo que possui componentes de ácidos graxos e glicerol que, possivelmente, estimulam o crescimento do fungo.

A germinação de conídios foi inibida durante 24 horas nos revestimentos contendo extratos hidroalcólicos de *A. indica* A. Juss. e de *M. charantia* L. isso pode ser atribuído à permeabilização de membranas provocada pelo extrato de *M. charantia* L., ou mesmo pela mudança de aspecto e cor do conídio provocada pelo extrato de *A. indica* A. Juss. A inibição da germinação ocorreu em função do aumento das concentrações dos dois extratos até níveis de 6% no revestimento.

O aumento da concentração dos extratos hidroalcoólicos de *A. indica* A. Juss. e de *M. charantia* L. não inibiu o crescimento do *C. okinawense*, indicando que o fungo se adaptou ao revestimento ativo durante a incubação de sete dias.

O revestimento ativo de CMC contendo menos de 1% de óleo de *A. indica* A. Juss. foi efetivo para inibir a germinação e o crescimento *in vitro* de *C. okinawense*.

4. Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro e as bolsas de pesquisa concedidas pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ (Brasil), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES (Brasil) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPQ (Brasil),

Referências

- Ali, A., Pheng, T. W., & Mustafa, M. A. (2015). Application of lemongrass oil in vapour phase for the effective control of anthracnose of 'Sekaki' papaya. *Journal of Applied Microbiology*, 118(6), 1456-1464. <https://doi.org/10.1111/jam.12782>.
- Ali, S., Anjum, M. A., Khan, A. S., Nawaz, A., Ejaz, S., Khaliq, G., ... & Saleem, M. S. (2022). Carboxymethyl cellulose coating delays ripening of harvested mango fruits by regulating softening enzymes activities. *Food Chemistry*, 380, 131804.
- Alves, A. S. S., Costa, A. M. T., da Silva, A. V., da Silva Simões, C. V., Souza, I. A., Costa, R. M. C. E., & Stamford, T. C. M. (2022). Revestimentos comestíveis à base de polissacarídeos em frutas: uma revisão narrativa. *Avanços em ciência e tecnologia de alimentos-volume 6*, 6, 388-402.
- Amancio, D. F. (2020). Efeito da aplicação de revestimentos comestíveis para conservação de tomate italiano (*Solanum lycopersicum* L.) 'Ravena' in natura.
- As principais estatísticas de perda e desperdício de alimentos de 2022. Disponível online: <https://www.postharvest.com/blog/top-food-waste-statistics-of-2021/> (acessado em 20 de agosto de 2024).

- Bahmid, N. A., Siddiqui, S. A., Ariyanto, H. D., Sasmitaloka, K. S., Rathod, N. B., Wahono, S. K., ... & Indrianingsih, A. W. (2024). Cellulose-based coating for tropical fruits: method, characteristic and functionality. *Food Reviews International*, 40(4), 1069-1092.
- Bona, T. D. M. M.; Pickler, L.; Miglino, L. B.; Kuritza, L. N.; Vasconcelos, S. P.; Santin, E. (2012). Óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta no controle de Salmonella, Eimeria e Clostridium em frangos de corte. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.32, n.5, p. 411-418, 2012.
- Brahmachari G (2004) Neem -an omnipotent plant: a retrospection. *Chembiochem*5(4):408-421.
- de Brito, J. C. S. K., Junior, O. D. R. L., da Silva, V. G., & Siqueira, A. K. (2018). Atividade antifúngica dos extratos de *Luffa cylindrica*, *Xanthosoma sagittifolium* e *Momordica charantia* sobre *Fusarium* sp. *Revista Eletrônica Científica da Uergs*, 4(5), 734-742.
- de Melo, T. A., & de Souza Serra, I. M. R. (2021). Efeito do extrato hidroalcoólico e do óleo de nim (*Azadirachta indica*) sobre o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* e na resistência induzida de quiabeiros à fusariose. *Research, Society and Development*, 10(2), e7110212357-e7110212357.
- do Nascimento, T. H. D., da Silva, A. A. R., Bertão, A. M. S., & Maiola, M. R. A. (2019). Avaliação da atividade antimicrobiana de *Momordica charantia* L, contra *Staphylococcus aureus*. *Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa*, 34(67), 31-42.
- Dorman, H. J. D.; Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oil. *Journal of Applied Microbiology*, v. 83, p. 308-316, 2000.
- Dos Passos Braga, S., Lundgren, G. A., Macedo, S. A., Tavares, J. F., dos Santos Vieira, W. A., Câmara, M. P. S., & de Souza, E. L. (2019). Application of coatings formed by chitosan and *Mentha* essential oils to control anthracnose caused by *Colletotrichum gloesporioides* and *C. brevisporum* in papaya (*Carica papaya* L.) fruit. *International Journal of Biological Macromolecules*, 139, 631-639. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.010>.

- Gayathry, K. S., & John, J. A. (2022). A comprehensive review on bitter gourd (*Momordica charantia* L.) as a gold mine of functional bioactive components for therapeutic foods. *Food Production, Processing and Nutrition*, 4(1), 10.
- Govindachari, T.R.; Suresh, G.; Gopalakrishnan, G.; Banumathy, B.; Masilamani, S. (1998). Identification of antifungal compounds from the seed oil of *Azadirachta indica* *Phytoparasitica*, New York, v.26, n.2, p.1-8, 1998.
- Gupta, S. C., Prasad, S., Tyagi, A. K., Kunnumakkara, A. B., & Aggarwal, B. B. (2017). Neem (*Azadirachta indica*): An indian traditional panacea with modern molecular basis. *Phytomedicine*, 34, 14-20.
- Kumar, S., Baswal, A. K., Ramezani, A., Gill, K. S., & Mirza, A. A. (2021). Impact of carboxymethyl cellulose based edible coating on storage life and quality of guava fruit cv. 'Allahabad Safeda' under ambient storage conditions. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15 (5), 4805-4812.
- Juven, B.J; Kanner, J.; Shued, F.; Weisslowiz, H. (1994). Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *Journal Applied Microbiology* 76:626-631, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-672.1994.tb01661.x>
- Liberato, J. R., Tatagiba, J. D. S., & da Silva Tatagiba, J. (2001). Avaliação de fungicidas *in vitro* e em pós-colheita para o controle da antracnose e da podridão peduncular em frutos de mamão.
- Li, W., Lin, Z., Yang, C., Wang, Y., & Qiao, Y. (2015). Study on the chemical constituents of *Momordica charantia* L. leaves and method for their quantitative determination. *Biomed Res*, 26(3), 415-419.
- Lima, S. F. (2015). Bioprospecção da atividade antimicrobiana de extratos brutos de fungos endofíticos isolados da espécie *Oryctanthus alveolatus* (Kunth) Kuijt.
- Machado, P. P., da Costa Vieira, G. H., & Machado, R. A. (2015). Uso da própolis e óleo de nim no controle dos fungos *Lasiodiplodia theobromae* e *Colletotrichum gloeosporioides*: principais patógenos que acometem os frutos da manga. *Revista de Agricultura Neotropical*, 2(4), 31-37.

- Moraes, C. R. D. O. (2022). Óleos essenciais cítricos como manejo alternativo da antracnose causada pelos fungos *Colletotrichum okinawense* e *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de mamoeiro.
- Mendonça, A. A. D. O. (2023). Revestimentos comestíveis na conservação pós-colheita de frutos: uma revisão bibliográfica.
- Menezes, M. (2006). Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica, 3, 170-179.
- Santos, A. V., de Oliveira, R. A., & Albuquerque, G. R. (2012). Efeito *in vitro* do extrato de nim (*Azadirachta indica*) e óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum*) sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Brazilian Journal of Veterinary Medicine, 34(2), 111-115.
- Sarkhosh, A., Schaffer, B., Vargas, AI, Palmateer, AJ, Lopez, P., Soleymani, A., & Farzaneh, M. (2017). Atividade antifúngica de cinco óleos essenciais extraídos de plantas contra antracnose em mamão. *Biological Agriculture & Horticulture*, 34 (1), 18-26. <https://doi.org/10.1080/01448765.2017.1358667>.
- Serra, R. S. (2020). Alterações histopatológicas e citotóxicas no intestino médio de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) causadas por acaricida e fungicida.
- Silva, A. C. P., Carvalho, J. W. P., Pascuali, L. C., Porto, A. G., & Silva, S. S. (2021). Propriedade antifúngica de óleos essenciais e extratos vegetais sobre *Fusarium* sp. E *Aspergillus* sp. ISOLADOS DE FEIJÃO. *Holos*, 37(7), 1-15.
- Silva, B. F. D., Paixão, T. S., Gatti, M. A. N., Queiroz-Fernandes, G. M. D., Marcelino, M. C. L., & Neves, F. T. A. (2019). Avaliação Da Atividade Antifúngica Dos Extratos Etanólicos Do Melão-De-São Caetano (*Momordica charantia* L.) frente a diferentes espécies de *Candida*. *Rev. Salusvita* (Online).
- Sivakumar D, Bautista-Baños S. 2014. Uma revisão sobre o uso de óleos essenciais para controle de deterioração pós-colheita e manutenção da qualidade da fruta durante o armazenamento. *Crop Prot.* 64 :27- 37. [10.1016/j.cropro.2014.05.012](https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.05.012)
- Taveira, Gabriel Bonan et al. A new bioinspired peptide on defensin from *C. annuum* fruits: Antimicrobial activity, mechanisms of action and therapeutical

- potential. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, v. 1866, n. 11, p. 130218, 2022.
- Tan, G. H., Ali, A., & Siddiqui, Y. (2023). Major fungal postharvest diseases of papaya: Current and prospective diagnosis methods. *Crop Protection*, 106399.
- Thevissen, K., Terras, F. R., & Broekaert, W. F. (1999). Permeabilization of fungal membranes by plant defensins inhibits fungal growth. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(12), 5451-5458.
- Vasconcelos, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Química Nova*. São Paulo, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.
- Vieira, W. A. D. S., Veloso, J. S., Silva, A., Nunes, A. D. S., Doyle, V. P., Castlebury, L. A., & Câmara, M. P. S. (2022). Elucidating the *Colletotrichum* spp. diversity responsible for papaya anthracnose in Brazil. *Fungal biology*, 126(10), 623-630.
- Yi, R. H., Lian, T., Su, J. J., & Chen, J. (2022). First report of internal black rot on *Carica papaya* fruit caused by *Fusarium sulawesiense* in China. *Plant Disease*, 106(1), 319.
- Pacheco Borges, L., & Alves Amorim, V. (2020). metabólitos secundários de plantas. *Revista Agrotecnologia*, 11(1).
- Pinto, J. S. D. S., & Lanças, F. M. (2010). Hidrólise do óleo de *Azadirachta indica* em água subcrítica e determinação da composição dos triacilglicerídeos e ácidos graxos por cromatografia gasosa de alta resolução a alta temperatura e cromatografia gasosa de alta resolução acoplada à espectrometria de massas. *Química Nova*, 33, 394-397.
- Putzke, J.; Putzke, M. T. L. (1998). *Os Reinos dos Fungos*. Vol. I. Santa Cruz do Sul: EDUNISC.
- Wang, J., Li, J., Cao, J., & Jiang, W. (2010). Antifungal activities of neem (*Azadirachta indica*) seed kernel extracts on postharvest diseases in fruits. *African Journal of Microbiology Research*, 4(11), 1100-1104.

3.3. CONTROLE DE FUNGO *COLLETOTRICHUM OKINAWENSE* COM USO DE REVESTIMENTOS ATIVOS INCORPORADOS COM PRODUTOS NATURAIS DURANTE O ARMAZENAMENTO DE MAMÃO 'ALIANÇA'

Reproduzido com permissão:

Isamara RG e Eder DR. (2024). Controle de fungo *Colletotrichum okinawense* com uso de revestimento ativo incorporado com produtos naturais durante o armazenamento de mamão 'Aliança'

RESUMO

A antracnose é uma doença que afeta o fruto do mamão, acometendo os frutos ainda verdes em campo, por meio dos conídios dos fungos do gênero *Colletotrichum*. Quando o fruto amadurece a lesão aparece e inviabiliza a sua comercialização. Os revestimentos ativos incorporados aos produtos naturais representam uma tecnologia muito utilizada e eficiente para controlar o crescimento de fungos durante o armazenamento dos frutos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a aplicação de revestimentos ativos para o controle da perda de massa, mudança de cor, incidência de fungos e alterações físico-químicas de mamões durante o armazenamento em câmara fria a 12º C e com 90% de umidade relativa, durante um período de 30 dias. Os frutos de mamão foram submetidos a diferentes tratamentos: controle (frutos apenas sanitizados), revestimento de Quitosana 2%, revestimento de carboximetilcelulose (CMC) 1% com 0,5% de óleo de *Azadirachta indica* A. Juss., revestimento de CMC 1% com extrato de *Momordica charantia* L. a 5%, utilizando um total de 52 frutos por tratamento. Os resultados foram interpretados por análise de variância e teste Tukey a 5% de significância. Os revestimentos foram eficazes para retardar a maturação dos frutos, preservando a cor verde por maior tempo, inibindo o crescimento micelial do fungo *Colletotrichum okinawense*. Os frutos que foram revestidos com quitosana e CMC contendo óleo de Nim tiveram crescimento de fungos aos 12 dias, enquanto no tratamento controle o crescimento de fungos iniciou aos 18 dias. Nos isolados obtidos dos diferentes tratamentos, não foram identificadas estruturas morfológicas típicas de *C. okinawense*, com exceção do controle, indicando que todos os

revestimentos foram efetivos para inibir o crescimento deste fungo. Na análise das características físico-químicas dos frutos verificou-se que os revestimentos retardaram o processo de amadurecimento, acidez de polpa, conteúdos de açúcares e ácido ascórbico.

Palavras-chave: Antracnose; Mamão; Revestimento ativo, armazenamento, qualidade dos frutos.

3.3. CONTROL OF *COLLETOTRICHUM OKINAWENSE* FUNGUS USING ACTIVE COATING INCORPORATED WITH NATURAL PRODUCTS DURING STORAGE OF 'ALIANÇA' PAPAYA

Reproduzido com permissão:

Isamara RG e Eder DR. (2024). Control of *Colletotrichum okinawense* fungus using active coating incorporated with natural products during storage of 'Aliança' papaya

ABSTRACT

Anthracnose is a disease that affects papaya fruits, affecting fruits that are still green in the field, through the conidia of fungi of the genus *Colletotrichum*. When the fruit ripens, lesions appear and make it unviable for sale. Active coatings incorporated with natural products represent a widely used and efficient technology to control fungal growth during fruit storage. The present study aimed to evaluate the application of active coatings to control weight loss, color change, incidence of fungi and physical-chemical changes in papayas during storage in a cold chamber at 12°C and 90% relative humidity, for a period of 30 days. Papaya fruits were subjected to different treatments: Control (fruits only sanitized), Chitosan coating 2%, carboxymethyl cellulose (CMC) coating 1% with 0.5% *Azadirachta indica* A. Juss. oil, CMC coating 1% with *Momordica charantia* L. extract at 5%, using a total of 52 fruits per treatment. The results were interpreted by analysis of variance and Tukey test at 5% significance. The coatings were effective in delaying fruit ripening, preserving the green color for a longer time, and inhibiting the mycelial growth of the fungus *Colletotrichum okinawense*. Fruits coated with chitosan and CMC containing Neem oil showed fungal growth at 12 days, while in the control treatment fungal growth began at 18 days. In the isolates obtained from the different treatments, no morphological structures typical of *C. okinawense* were identified, with the exception of the control, indicating that all coatings were effective in inhibiting the growth of this fungus. In the analysis of the physicochemical characteristics of the fruits, it was

found that the coatings delayed the ripening process, pulp acidity, sugar and ascorbic acid contents.

Keywords: Anthracnose; Papaya; Active coating, storage, fruit quality.

1. Introdução

O mamão é um fruto amplamente consumido em todo o mundo por ser fonte de vitamina C e fibras. Ele apresenta padrão de respiração climatérico, ou seja, completa o seu amadurecimento mesmo após colhido. Essa característica influencia na sua conservação pós-colheita, sendo que a melhor forma de estocar e transportar o fruto é em câmara refrigerada (Almeida e Martins, 2022).

O Brasil tem destaque na produção de mamão, tanto para o mercado interno quanto o externo. Os estados da Bahia e Espírito Santo estão entre os maiores produtores do fruto. Embora amplamente consumido, o fruto sofre grandes perdas pós-colheita devido à incidência de fungos fitopatogênicos (Almeida e Martins, 2022; Serafini et al, 2021; Chitarra e Chitarra, 2005).

A antracnose é a principal doença que acomete o mamão e provoca perdas pós-colheita, ela se caracteriza por formar uma lesão arredondada no fruto, deixando impróprio para o consumo. Esta doença acontece ainda no campo, com o fruto verde, onde os conídios ficam na forma latente, germinando quando o fruto está maduro e apresentando a doença (Jeffries et al., 1990).

Vieira et al. (2022) descrevem que existem vários fungos responsáveis pela antracnose, tais como: *colletotrichum okinawense*, *C. gloesporioides*, *C. theobromicola*, *C. fructicola*, *C. chryshophilum*, *C. plurivorum*, *C. truncatum*, *C. Karsti*, *C. siamense* e *C. queenslandicum*, sendo o fungo *C. okinawense* o mais prevalente, encontrado em nove estados produtores de mamão.

O uso de revestimento ativo com diferentes bases poliméricas tem se mostrado uma tecnologia eficiente para inibir o crescimento de fungos durante o armazenamento de frutos. Essa tecnologia é de baixo custo, fácil preparo e aplicação e confere proteção ao fruto, atuando como uma barreira a gases (Azevedo et al., 2007).

A quitosana é um polímero hidrofílico, oriundo da desacetilação da quitina, que forma um revestimento ativo de coloração transparente e com potencial antimicrobiano (Kean e Thanou, 2010). A quitosana tem sido eficiente para controlar fungos em algumas frutas. Em uvas o revestimento de quitosana foi eficiente para controlar o fungo *Botrytis cinerea* (Camili et al., 2007), já em mangas controlou a antracnose provocada pelo fungo *C. gloesporioides* (Zhu et al., 2008).

A carboximetilcelulose (CMC) é uma base polimérica de baixo custo muito utilizada para preparo de revestimentos ativos. Em goiabas, Forato et al. (2015),

utilizaram o revestimento com CMC e concluíram que foi eficiente para aumentar a vida útil das goiabas, preservou a cor, a firmeza e reduziu a perda de massa dos frutos.

Os revestimentos ativos se destacam como uma tecnologia interessante, pois permite a incorporação de agentes ativos, naturais ou sintéticos que apresentam ação antifúngica, antioxidante, antibacteriana, de acordo com sua composição (Domingues et al, 2024; de Almeida et al, 2021).

A aplicação do óleo de *Azadirachta indica* A. Juss. utilizando 200 µg, garantiu 60% de inibição do crescimento micelial e 53,8% de inibição da germinação do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Silva et al., 2011). Já o extrato de folhas de *Azadirachta indica* A. Juss. inibiu o crescimento vegetativo de *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceri, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, e *Sclerotinia sclerotiorum* (Mossini; Kemmelmeier, 2004).

O extrato da folha de *Momordica charantia* L. foi eficaz contra cepas de *Candida*, sendo fungistático nas concentrações de 312,5µg/mL para *C. albicans* e 625µg/mL para *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. glabrata* e apresentou capacidade fungicida na concentração de 625µg/mL para a espécie *C. albicans* e 1250µg/mL para *C. tropicalis* (da Silva et al, 2019).

Neste trabalho propõe-se a utilização de uma base polimérica CMC na concentração de 1%, da quitosana a 2%, utilizando o óleo de *Azadirachta indica* A. Juss. a 0,5% e o extrato de *Momordica charantia* L. a 5%, tendo como referência uma pesquisa anterior que realizou testes *in vitro* avaliando a germinação de conídios e crescimento micelial de fungos causadores da antracnose (Gomes et al, 2024).

Existem estudos que avaliaram a ação de revestimentos ativos incorporados com óleos e extratos vegetais para a conservação pós-colheita de frutos (Alves et al., 2022), porém, ainda existem lacunas sobre a influência de diferentes agentes ativos, considerando as características de agentes ativos incorporados nos revestimentos, sobre o crescimento de fungos causadores da antracnose do mamão.

Neste trabalho, investiga-se a aplicação de revestimentos com agentes ativos naturais, que afetam interações com a base polimérica, avaliando os seus efeitos sobre o crescimento de fungos durante o armazenamento do mamão. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do revestimento ativo de

carboximetilcelulose (CMC, 1% m/v) incorporado com 0,5% de óleo de *A. indica* A. Juss., e com extrato de *Momordica charantia* L. a 5%, além do revestimento ativo de quitosana 2% que, conforme estudo anterior apresentou efeito de ruptura da membrana de conídios de fungos causadores de antracnose, comparando com o tratamento controle (frutos sem revestimento), monitorando os parâmetros de perda de massa, cor, incidência de fungos e alterações físico químicas, durante o armazenamento de mamões em condições de refrigeração.

2. Material e métodos

2.1. Materiais

Todos os materiais utilizados no preparo do revestimento foram adquiridos comercialmente, a carboximetilcelulose foi adquirida na Dinâmica Química Contemporânea Ltda e os agentes ativos (óleo de *A. indica* A. Juss. e extrato hidroalcóolico de *Momordica charantia* L.) foram adquiridos comercialmente da empresa Mundo dos Óleos.

2.2. Obtenção dos frutos de mamão

Os frutos de mamão cultivar Aliança foram cedidos pela empresa Caliman Agrícola S. A, situada em Linhares - ES. Os 208 frutos utilizados neste experimento tinham padrão de peso de 450 g e 15% da coloração da casca amarela.

Os frutos foram transportados em caixas de papelão acartonado, sob refrigeração, para o Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA/CCTA/UENF), onde foram selecionados, visando a escolha de frutos ausentes de defeitos e sem injúrias mecânicas. Posteriormente os frutos foram higienizados com banho de solução clorada e em seguida lavados em banho de água destilada e secos naturalmente. Os frutos foram mantidos provisoriamente em câmara fria a 12 °C e 90% UR, até a condução dos ensaios (Figura 1).



Figura 1: Acondicionamento dos frutos em câmara fria na temperatura de 12° C e UR 90%. Fonte: Acervo pessoal.

2.3. Preparo dos revestimentos ativos

O revestimento de carboximetilcelulose foi preparado na concentração de 1% (m/v). Primeiramente a CMC foi dissolvida em água destilada (1 % m/v) e a solução foi aquecida em banho-maria sobre placa aquecedora, com agitação magnética constante até a temperatura de 70 °C por um tempo de 30 minutos. Posteriormente, o revestimento foi resfriado em banho de gelo até atingir a temperatura 25°C, teve a incorporação dos agentes ativos naturais, foi realizada a homogeneização (Gehaka/PG200) e posteriormente seu pH corrigido para 5,6 (Gomes et al., 2024).

A quitosana na concentração de 2% (m/v) foi preparada com uma solução aquosa (1% v/v) de ácido acético, com agitação constante em chapa aquecedora por 6 h, mantendo a temperatura de 40°C. O pH da solução foi corrigido para 5,6, para garantir que o ácido acético não interfira na ação antifúngica. Posteriormente, o revestimento foi resfriado em temperatura ambiente (Granja et al., 2021).

2.4. Análise de perda de massa

As medidas de massa de cada fruto foram realizadas no início do armazenamento (primeiro dia), e em intervalos de seis dias, durante os 30 dias de armazenamento, com 40 repetições para cada tratamento. As medidas foram feitas em balança semianalítica (Gehaka BG 2000), que possui precisão de 0.01.

Os resultados de perda de massa serão calculados em relação à massa inicial dos frutos, sendo normalizados em g 100 g⁻¹ do fruto.

$$PM = \frac{(Pi - Pf)}{Pi} \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde:

PM = representa a perda de massa dos frutos (%);

Pi = o peso inicial do mamão (g) no início do armazenamento;

Pf = o peso do mamão (g) em cada tempo de amostragem.

2.5. Análise de cor da casca dos frutos de mamão

A análise de cor da casca dos frutos foi realizada com auxílio de um colorímetro da marca Hunterlab Miniscan Spectrophotometer XE Plus, previamente calibrado com placas refletivas de cores preta e branca, com padrão de iluminação D 65 e observador com ângulo de 10°. As medidas foram feitas em dois pontos equidistantes do fruto: uma no lado (EXP), lado exposto ao sol; e outra do lado (NEXP), lado não exposto ao sol, realizadas no primeiro dia de armazenamento e depois em intervalos de seis dias durante 30 dias de armazenamento dos frutos, com 40 repetições.

Os resultados foram expressos pelo sistema CIE L, “a” e “b” de Hunter, em que os valores de CIE L (luminosidade ou brilho) variam de preto (0) ao branco (100); os valores de CIE “a” correspondem à variação de tonalidades de cor vermelha (a+) até cor verde (a-); e os valores de CIE “b” indicam variação na faixa de cor amarela (b+) até a cor azul (b-).

2.6. Análise do crescimento de fungos no fruto

Para determinação da área de crescimento fúngico nos frutos, foram feitas imagens da superfície do fruto no primeiro dia do experimento e depois disso a cada seis dias, durante o armazenamento de 30 dias. As imagens foram feitas sobre uma mesa com auxílio de uma haste de metal, com câmera de celular Iphone 13, com 24 megapixels, distância de foco de 30 centímetros, ambiente de fundo de cor azul e iluminação com lâmpadas fluorescentes, com 40 repetições.

As imagens foram processadas no programa Quant, após a redução do número de cores para 80 tonalidades, com definição das faixas dos parâmetros de

cor RGB típicos do crescimento de fungos. Os resultados foram expressos em % da superfície do fruto contendo a mancha de crescimento de fungos (Liberato, 2001).

Além disso, também foi quantificado o número de frutos com presença ou ausência de fungos nos diferentes tratamentos, ao longo do armazenamento dos mamões.

2.7. Análises físico - químicas

As análises físico-químicas foram realizadas no tempo de 0 dias (início do tratamento), tempo de 12 dias de armazenamento, 24 dias de armazenamento e 30 dias de armazenamento, utilizando três repetições de frutos por tratamento.

2.7.1. Acidez titulável e pH (potencial hidrogeniônico)

Na avaliação da acidez total titulável e do pH, 5 g da polpa do fruto foram homogeneizadas em triturador (Gehaka/PG200), por 10 minutos, para promover o rompimento dos tecidos. As análises foram feitas em triplicatas, com três repetições de amostras de três frutos para cada tratamento.

A análise de acidez titulável foi determinada por titulação, de acordo com a metodologia descrita por Molon, (2003). Uma amostra de 10 g da polpa do fruto (que foi anteriormente homogeneizada em turrator por 10 min) foi transferida para um Erlenmeyer de 125 mL, teve o volume completado para 100 mL de água destilada, com adição de 3 gotas de indicador fenolftaleína. A titulação foi conduzida com solução NaOH 0,1 M até o ponto de viragem do indicador de incolor para rosa.

Os resultados foram expressos em teor de acidez (% ácido cítrico), conforme Equação 2.

$$\text{Acidez total (\%)} = \frac{V \times N \times f \times F \times 100}{P} \quad (\text{Eq. 2})$$

2)

Onde:

V (mL) = volume de NaOH gasto na titulação;

f = fator de correção da solução de NaOH;

F = fator do ácido predominante no fruto (ácido cítrico);

P = peso ou volume da amostra (g ou mL);

N = normalidade da solução de NaOH.

2.7.2. Sólidos solúveis totais (SST)

A análise de sólidos solúveis totais foi feita com o mesmo material utilizado para análise de acidez, utilizando um refratômetro digital (modelo ATAGO PAL-3, Japão) no início do experimento e nos três tempos de armazenamento. Três gotas da polpa do fruto triturada na temperatura de 25 ± 2 foram colocadas sobre o refratômetro para a leitura, conforme metodologia descrita na AOAC, (1997). Os resultados foram expressos em °Brix.

2.7.3. Açúcares redutores e açúcares totais

Para a determinação de açúcares redutores e açúcares totais foram pesados 2 g da amostra homogeneizada em turrator e seguido o método de Lane-Eynon, também conhecida como Método de Fehling (Normas do Instituto Adolfo Lutz, 2008).

Para isso foram transferidos para um erlenmeyer de 250 mL, com auxílio de pipeta, 5 mL da solução A e 5 mL da solução B de Fehling, e adicionados 50 mL de água destilada, aquecendo-se até a ebulição. Em seguida, a amostra teste foi transferida para uma bureta de 25 mL e adicionada gota a gota sobre a solução de Fehling, em ebulição, agitando-se sempre até que a solução passou da cor azul a incolor. Foram adicionadas 2 a 3 gotas de azul de metileno e concluída a titulação

com a mudança de coloração, ficando um resíduo de cor vermelho tijolo no fundo do erlenmeyer.

O licor de Fehling foi padronizado anteriormente com uma solução de glicose a 0,5% v/v em água, com três repetições.

Os resultados para açúcares redutores foram expressos em teor de açúcar redutor (% glicídios redutores em glicose), conforme Equação 3:

$$AR = \frac{\frac{FC}{2} \times 100 \times 100}{V \times P} \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde:

AR = Conteúdo de açúcares redutores (%)

FC = título da solução de Fehling;

V = volume da amostra gasto na titulação, em mL;

P = peso da amostra em g.

Para a determinação de açúcares totais foi realizado uma hidrólise ácida, utilizando-se 25 mL da amostra aquecida a 60 °C, que recebeu a adição de 0,5 mL de HCl concentrado e permaneceu em banho-maria, durante 60 min. Posteriormente, a amostra foi resfriada à temperatura ambiente e neutralizada com solução de hidróxido de sódio a 30%, o que foi verificado com adição de gotas de fenolftaleína e com o uso de tiras de papel de tornassol. A solução foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e o volume foi completado com água destilada. A partir daí, foi feita a determinação, conforme descrito, para o ensaio de açúcar redutor.

Os resultados de açúcares totais foram expressos em teor de açúcar total (% glicídios totais, glicose + sacarose), conforme Equação 4:

$$AT = \frac{\frac{FC}{2} \times 100 \times 100}{V \times P} \quad (\text{Eq. 4})$$

Onde:

AT = Conteúdo de açúcares solúveis totais (%)

FC = título da solução de Fehling;

V = volume da amostra gasto na titulação, em mL;

P = peso da amostra em g.

2.7.4. Vitamina C

Para determinação de vitamina C, foram pesados 10 g de polpa de mamão homogeneizada em turrator e foi depositada em um Erlenmeyer de 250 mL, foi adicionado 2 mL de ácido sulfúrico a 20% (v/v). Após acidificar a amostra foi adicionado 1 mL da solução de iodeto de potássio e 1 mL da solução de amido a 1%. Posteriormente foi titulado imediatamente com uma solução de iodato de potássio 0,005 mol. L⁻¹. Ao final da titulação ocorreu o aparecimento da cor azul intenso (Normas do Instituto Adolfo Lutz, 2008).

A solução de amido foi preparada com um pouco de água destilada em temperatura ambiente em aproximadamente 0,5000g de amido solúvel previamente pesado, formando assim uma pasta. Após a formação da pasta, foi adicionado 40 mL de água em ebulição em agitação constante. Ao atingir a temperatura ambiente, essa solução foi inserida em um balão de 50 mL e foi acrescida água até atingir a linha do menisco.

Para o preparo da solução de iodeto de potássio (KI), foi adicionado 3,0000g de KI p.a em um balão volumétrico de 50 mL, em seguida, adicionou-se água destilada para homogeneização e completou-se o volume do balão até atingir a linha do menisco.

Para o preparo da solução de iodato de potássio com concentração de 0,005 mol. L⁻¹, foi pesado quantitativamente em um béquer de 50 mL, a quantidade de 0,5336g de KIO₃ a 99% sendo previamente seco em estufa a 180°C. Dissolveu-se em água destilada e transferiu-se para um balão volumétrico de 500 mL completando o volume com água até o menisco. Após a solução ser homogeneizada, foi transferida para um frasco de vidro âmbar, limpo e seco.

Os resultados foram expressos em teor de vitamina C (% ácido ascórbico), conforme Equação 5:

$$\text{Vit C} = \frac{V \times F}{P} \times 100 \quad (\text{Eq. 5})$$

Onde:

Vit C = Teor de vitamina C na amostra (% ácido ascórbico)

V= volume de iodato gasto na titulação (mL);

F= 8,806 ou 0,8806 respectivamente para KIO_3 0,02 M ou 0,002 M;

P= massa da amostra (g).

2.8. Análises estatísticas

As análises estatísticas foram processadas no programa Jamovi, sendo realizada análise de variância, seguido por teste de comparação de médias pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$. Os gráficos foram feitos no programa Origin.

3. Resultados e discussão

3.1. Análise de perda de massa

A perda de massa nos frutos acontece devido à evaporação da água dos frutos no ambiente de armazenamento, sofrendo efeito do metabolismo dos mesmos durante o armazenamento, uma vez que o fruto continua sua respiração e transpiração, o que provoca perda de água e amolecimento dos tecidos dos frutos (Carvalho e Lima 2008).

De acordo com a Figura 2, podemos observar que todos os frutos perderam massa ao longo dos 30 dias de armazenamento, ocorrendo um aumento progressivo ao longo do tempo. O tratamento que teve maior perda de massa ao

longo de 30 dias foi aquele com revestimento dos frutos com CMC 1% + Óleo de *A. indica* A. Juss. 0,5%, tendo uma perda de massa de 7% aos 30 dias.

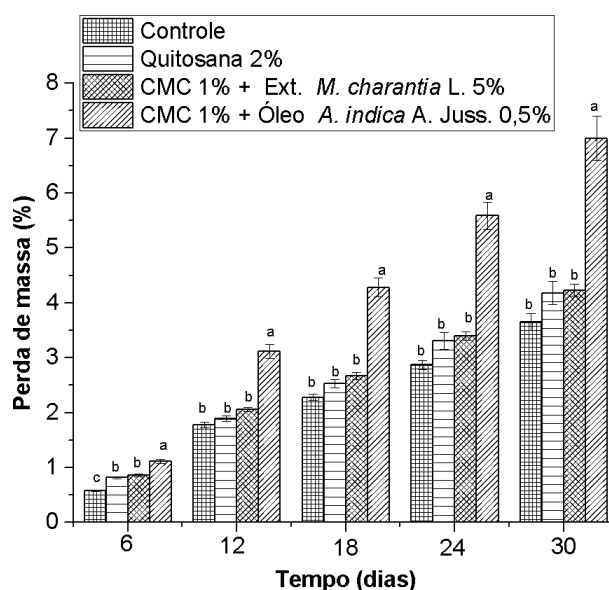


Figura 2: Proporção de perda de massa (%) dos frutos submetidos aos diferentes tratamentos de revestimentos ativos, armazenados em câmara fria a 12º C e 90 % de umidade relativa. Os dados apresentam as médias de 40 repetições e as barras estão indicando o erro padrão das medidas, com testes de comparação de médias a 5% de significância.

Resultados semelhantes foram encontrados por Domingues et al. (2024), que demonstraram que mamões revestidos com CMC contendo óleo essencial de capim limão apresentaram maior perda de massa (21,50%) do que o tratamento controle (18,82%).

Carnelossi et al. (2009) também verificaram que frutos de mamão tratados com óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* (eucalipto) apresentaram maior perda de massa (35,1 g) do que o tratamento controle (4,4 g).

No presente experimento verificou-se que os frutos do tratamento controle apresentaram uma tendência de menor perda de massa em comparação aos frutos que passaram pelos tratamentos com quitosana 2% e aqueles que foram revestidos com CMC + extrato de *M. charantia* L. 5%. A análise estatística não demonstrou diferenças significativas entre os tratamentos dentro dos intervalos de tempo de armazenamento. Porém, os frutos revestidos com CMC 1% + Óleo de *A. indica* A.

Juss. 0,5% apresentaram maior perda de massa ao longo de todo o armazenamento. Esta maior perda de massa pode ser atribuída à perda de umidade associada ao revestimento impregnado na superfície dos frutos. Neste caso, a incorporação de pequena concentração de óleo no revestimento contribuiu para o aumento da perda de massa, possivelmente pela formação de uma camada que agrega mais umidade.

O revestimento com quitosana a 2% não foi eficiente para reduzir a perda de massa dos frutos durante os 30 dias do armazenamento. Outros trabalhos também mostram que em outras frutas como pêssigo 'Douradão' o revestimento de quitosana também não foi eficiente em reduzir a perda de massa dos frutos (Santos et al., 2008).

O tratamento com CMC + extrato de *M. charantia* L. 5% também não reduziu a perda de massa, quando comparado com o tratamento controle, mas apresentou menor perda de massa que o tratamento de CMC 1% + Óleo de *A. indica* A. Juss. 0,5%. Demartelaere et al. (2015), identificaram que os frutos de mamão pulverizados com extrato de *M. charantia* L. apresentaram maiores notas de aparência quando se utilizava a concentração de 10 µg. mL⁻¹ e quando comparado com o extrato de *Allamanda blanchetti* na mesma concentração.

A perda de massa dos frutos está associada à taxa de transferência de massa de vapor d'água da superfície dos frutos, sendo influenciada pelo *déficit* de pressão de vapor d'água em relação ao ambiente de armazenamento, em que o menor gradiente de pressão de vapor entre o fruto e o ambiente de armazenamento reduz a taxa de transpiração dos frutos (Sanches et al., 2011).

3.2. Análise de cor da casca dos frutos de mamão

A cor da casca dos frutos está atrelada aos seus pigmentos orgânicos que sofrem transformações durante a maturação, alterando a sua cor verde (com muita clorofila), com degradação da clorofila e sintetização de compostos carotenoides que vão ser responsáveis por deixar a cor do fruto com aspecto amarelado na fase madura (Borges et al., 2016).

Os frutos, no início do armazenamento, apresentaram coloração verde e, ao longo do tempo de estocagem, sofreram uma mudança de tonalidade até atingir a coloração amarelada, conforme indicado pelos parâmetros de cor mostrados na Figura 3.

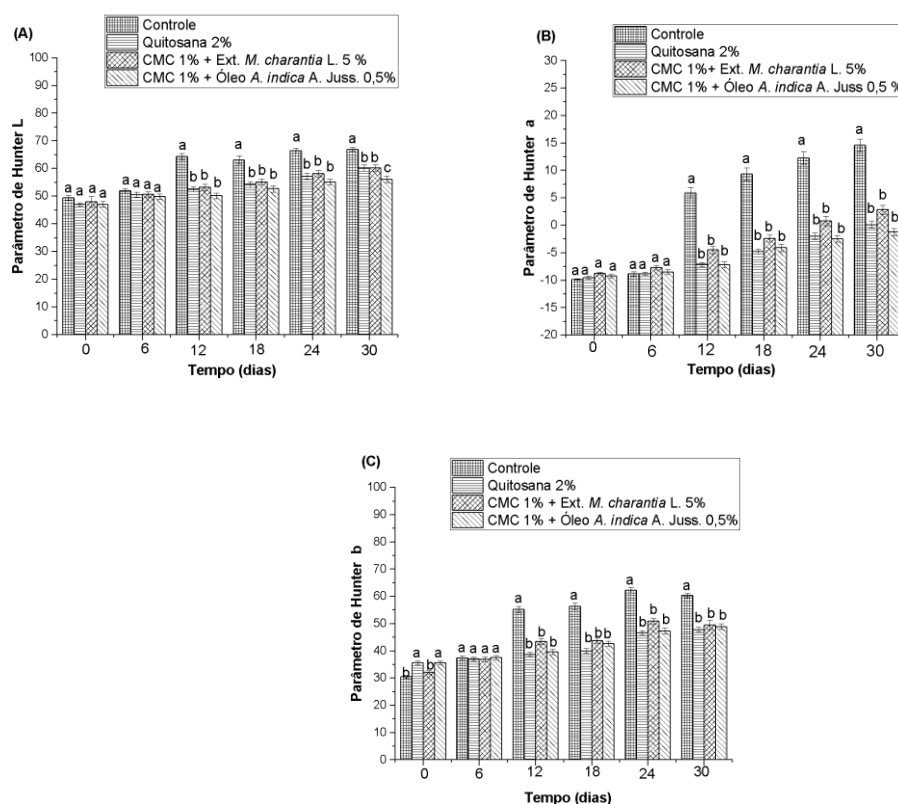


Figura 3: Parâmetro de Hunter L (A), parâmetro de Hunter a (B) e parâmetro de Hunter b (C) dos frutos submetidos aos diferentes tratamentos de revestimentos, armazenados em 12° C e 90 % de umidade relativa. Os dados apresentam as médias de 40 repetições e as barras estão indicando o erro padrão das medidas, com testes de comparação de médias em cada tempo de armazenamento, a 5% de significância.

As medidas do parâmetro de Hunter L, que determina a luminosidade ou brilho, variando do preto (0) ao branco (100), mostram que nos tempos de 0 e 6 dias, todos os tratamentos nos frutos promoveram valores de brilho em torno de 50, não apresentando entre os tratamentos, em cada intervalo de tempo (Figura 3.A). Já, a partir do 12° dia, o tratamento controle apresentou maior brilho, quando comparado aos tratamentos de quitosana a 2%, CMC + extrato de *M. charantia* L. 5% e CMC 1% + Óleo de *A. indica* A. Juss. 0,5%.

Já o parâmetro de Hunter a que determina a variação das tonalidades na faixa do vermelho (a+) ao verde (a-) mostra que no início do armazenamento

(tempo de 0 dias e 6 dias) todos os tratamentos apresentaram frutos de coloração verde (valores negativos de Hunter a). Contudo, a partir do 12º dia, o tratamento controle começou a se diferir dos demais tratamentos, apresentando uma mudança da cor verde típica do processo de amadurecimento, enquanto os tratamentos de quitosana a 2%, CMC + extrato de *M. charantia* L. 5% e CMC 1% + Óleo de *A. indica* A. Juss. 0,5% ainda apresentaram uma tonalidade mais esverdeada (Figura 3B). Destaca-se que todos os revestimentos retardaram a mudança da cor verde dos frutos, independentemente do tipo de revestimento.

As medidas do parâmetro de Hunter b, que indicam variações da cor amarela (b+) até a cor azul (b-), mostram que os frutos foram amadurecendo ao longo de 30 dias de armazenamento, aumentando a coloração amarela. No início do armazenamento, aos seis dias, todos os frutos apresentaram os mesmos valores para o parâmetro de Hunter b. Mas, a partir do 12º dia os frutos apresentaram uma evolução destacada do índice de cor amarela no tratamento de controle. Mesmo assim, os índices de cor não foram afetados pelos tipos de revestimentos, em cada intervalo de tempo de armazenamento (Figura 3.C).

A aplicação de revestimentos de CMC 1% + dextrina 0,2 % e CMC 0,8 % e dextrina 0,5% em magas 'Tommy Atkins' foram eficazes para retardar o amadurecimento dos frutos (coloração amarela) (Amariz et al. 2008).

Forato et al. (2015) constataram que o revestimento de CMC a 1% foi eficiente para retardar as alterações da cor da casca em frutos de goiaba, preservando a coloração verde por mais tempo.

O revestimento de quitosana 1,5% retardaram o amadurecimento de mangas 'Tommy Atkins', durante nove dias de armazenamento a 23 °C (Souza et al., 2011). Em carambolas tratadas com quitosana a 2% e 3%, mostraram que o revestimento agiu atenuando as trocas gasosas com o meio externo, retardando a síntese de pigmentos e a senescência, preservando a cor natural dos frutos (Sanches et al., 2018).

Os revestimentos de quitosana a 2%, CMC + extrato de *M. charantia* L. 5% e CMC 1% + Óleo de *A. indica* A. Juss. 0,5% demoraram mais tempo para apresentar coloração amarela, quando comparado com o controle, indicando que os revestimentos foram eficientes para reduzir os processos metabólicos dos frutos, conforme ilustrado na Figura 4. Isso acontece, pois os revestimentos formam uma camada protetora na superfície dos frutos que reduz as trocas gasosas do

ambiente, além de reduzir a síntese de carotenoides e a degradação da clorofila (Bautista-Banões et al., 2006).

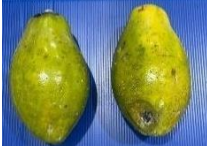
			
T0- 0 dias	T1- 0 dias	T2- 0 dias	T3- 0 dias
			
T0- 6 dias	T1- 6 dias	T2- 6 dias	T3- 6 dias
			
T0- 12 dias	T1- 12 dias	T2- 12 dias	T3- 12 dias
			
T0- 18 dias	T1- 18 dias	T2- 18 dias	T3- 18 dias
			
T0- 24 dias	T1- 24 dias	T2- 24 dias	T3- 24 dias
			
T0- 30 dias	T1- 30 dias	T2- 30 dias	T3- 30 dias

Figura 4: Aparência de amostras dos frutos durante os intervalos de tempo de 0, 6, 12, 18, 24 e 30 dias de armazenamento em câmara fria a 12 °C e 90 %UR. T0- controle; T1- frutos revestidos com quitosana 2%; T2- frutos revestidos com CMC 1% + Ext. *M. charantia* L. 5% e T3- frutos revestidos com óleo de *A. indica* A. Juss. 0,5%.

3.3. Análise do crescimento de fungos no fruto

Nos ensaios *in vivo*, com os diferentes revestimentos ativos, foram observados que o aparecimento de fungos iniciou no 12º dia de armazenamento, onde os tratamentos de quitosana 2% já apresentava três frutos contaminados. e o tratamento de CMC + óleo de *A. indica* A. Juss. 0,5%, apresentavam seis frutos contaminados (Figura 5).

No tempo de 18 dias de armazenamento todos os tratamentos já apresentavam frutos contaminados, sendo que o tratamento controle apresentava cinco frutos contaminados; o tratamento de quitosana 2% continham 24 frutos contaminados; o tratamento de CMC + Ext. *M. charantia* L. 5% apresentaram 11 frutos contaminados; e o tratamento de CMC + óleo de *A. indica* A. Juss. 0,5% teve 27 frutos contaminados (Figura 5).

Aos 24 dias de armazenamento o tratamento controle apresentava 97,5 % dos frutos contaminados; já o tratamento de quitosana, 2% tinham 100% dos frutos contaminados; o tratamento de CMC + Ext. *M. charantia* L. 5% apresentavam 92,5% dos frutos contaminados; e o tratamento de CMC + óleo de *A. indica* A. Juss. 0,5% com 100% dos frutos contaminados.

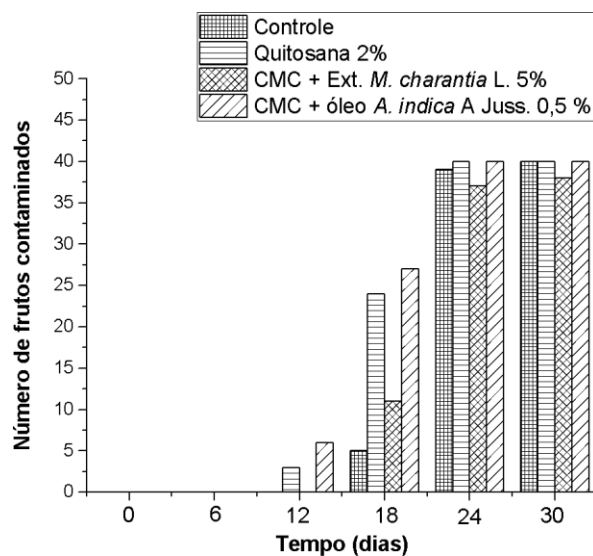


Figura 5: Número de frutos contaminados ao longo dos 30 dias de armazenamento a 12 °C e 90% UR, avaliados para os tratamentos de controle, tratamento de quitosana 2%, tratamento de CMC + Ext. *M. charantia* L. 5% e tratamento de CMC + óleo de *A. indica* A. Juss. 0,5%.

Ao determinar a área de crescimento fúngico ao longo dos dias de armazenamento (Tabela 1), percebemos que os tratamentos com quitosana 2% e CMC + óleo de *A. indica* A. Juss. 0,5% apresentaram as maiores áreas de crescimento fúngico no 30º dia de armazenamento. O tratamento de CMC + Ext. *M. charantia* L. 5% e o tratamento controle apresentaram as menores áreas de crescimento fúngico ao longo dos 30 dias de armazenamento.

Tabela 1: Área do crescimento micelial (%) de fungos em duas faces (exposta e não-exposta ao sol) dos mamões 'Aliança', armazenados por 30 dias a 12 °C e 90% UR, avaliados para o tratamento controle (T0), tratamento de quitosana 2% (T1), tratamento de CMC + Ext. *M. charantia* L. 5% (T2) e tratamento de CMC + óleo de *A. indica* A. Juss. 0,5% (T3). As barras estão indicadas com o erro padrão das medidas.

	0 dias	6 dias	12 dias	18 dias	24 dias	30 dias
T0 EXP	0 ± 0 Ab	0 ± 0 Ab	0 ± 0 Ab	0,02 ± 0,01 Bb	0,74 ± 0,09 Bb	10,5 ± 2,14 Aa
T0 NEXP	0 ± 0 Ab	0 ± 0 Ab	0 ± 0 Ab	0,03 ± 0,02 Bb	10,5 ± 2,14 Aa	11,6 ± 2,57 Aa
T1 EXP	0 ± 0 Ac	0 ± 0 Ac	0,07 ± 0,04 Ac	3,19 ± 1,05 Ab	9,05 ± 2,0 Aa	13,11 ± 2,53 Aa
T1 NEXP	0 ± 0 Ad	0 ± 0 Ad	0 ± 0 Ad	1,45 ± 0,39 Bc	8,92 ± 2,31 Ab	19,5 ± 3,93 Aa
T2 EXP	0 ± 0 Ac	0 ± 0 Ac	0 ± 0 Ac	0,28 ± 0,11 Bb	5,68 ± 1,04 Aa	12,3 ± 1,95 Aa
T2 NEXP	0 ± 0 Ac	0 ± 0 Ac	0 ± 0 Ac	0,23 ± 0,10 Bb	5,53 ± 1,19 Aa	11,9 ± 2,49 Aa
T3 EXP	0 ± 0 Ad	0 ± 0 Ad	0,23 ± 0,10 Ad	3,11 ± 0,58 Ac	7,46 ± 1,35 Ab	14,0 ± 2,23 Aa
T3 NEXP	0 ± 0 Ad	0 ± 0 Ad	0,05 ± 0,5 Ad	2,41 ± 0,69 Ac	8,53 ± 2,12 Ab	18,6 ± 3,10 Aa

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem entre si, já as médias seguidas por letras minúsculas iguais, na mesma linha, não diferem entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. As médias foram apresentadas com seus respectivos desvios padrões.

Fischer et al. (2012), ao estudarem o efeito da quitosana nas concentrações de 1 e 6 g/L⁻¹, viram que não foram eficazes na redução da incidência da antracnose em frutos de goiaba, causada pelo *C. gloeosporioides*.

Já em frutos de mamão, Domingues et al. (2024) observaram que o óleo essencial de capim-limão e o óleo essencial de hortelã-pimenta, ambos nas concentrações de 0,25 aplicados diretamente nos frutos, proporcionaram maiores lesões de antracnose do que o tratamento controle.

Para avaliar os fungos que cresceram durante o armazenamento dos mamões, realizou-se o ensaio de isolamento dos fungos obtidos de amostras dos contaminantes que cresceram em cada tratamento, procedendo-se à identificação das estruturas morfológicas das culturas isoladas (Figura 6), com observação em microscópio óptico com aumento de 100 x. Nos isolados dos fungos foi verificado que somente o tratamento controle apresentou conídios com morfologia e padrão semelhantes ao fungo *C. okinawense* (Andrade et al., 2007). Os outros tratamentos apresentaram estruturas com morfologia semelhante a leveduras (de Souza et al., 2021) e outros fungos, como o *Fusarium* (Araújo et al., 2021). Isso evidencia que os revestimentos foram eficientes para inibir o crescimento micelial do fungo *C. okinawense*, contudo, as bases poliméricas serviram como meio de cultura para o crescimento de outros fungos contaminantes dos frutos ou do ambiente de armazenamento, mas que não foram inibidos pelos agentes ativos presentes nos revestimentos.

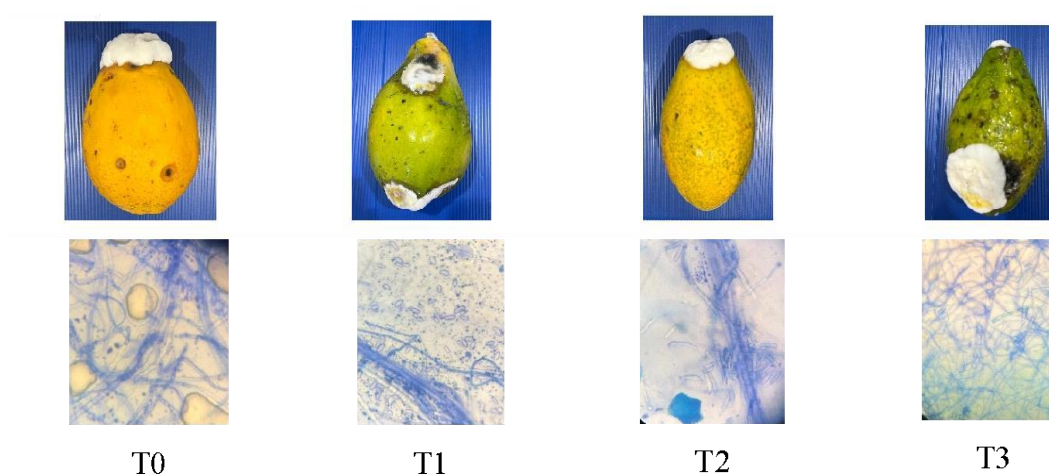


Figura 6: Imagens dos frutos contaminados com respectivas aparências das estruturas morfológicas dos fungos que cresceram nos mamões armazenados em câmara fria a 12 °C e 90 %UR, nos tratamentos de controle (T0); frutos revestidos com quitosana 2% (T1); frutos revestidos com CMC 1% + Ext. *M. charantia* L. 5% (T2); frutos revestidos com CMC 1% + Óleo de *A. indica* A. Juss. 0,5% (T3).

3.4. Análises físico-químicas

As análises físico-químicas (Tabela 2) são importantes para avaliar as mudanças químicas que acontecem nos mamões e que influenciam na qualidade ao longo do amadurecimento dos frutos.

O pH da polpa de mamão sem revestimento (tratamento controle) foi mais alto no início do armazenamento e reduziu até o 24^o dia, aumentando novamente aos três dias de estocagem. O mesmo comportamento foi observado para os frutos tratados com revestimento contendo extrato de *M. charantia* e óleo de *A. indica* A. Juss. (Tabela 2). No entanto, os frutos revestidos com quitosana não apresentaram variações significativas de pH ao longo de 30 dias de armazenamento, indicando alteração no padrão de metabolismo dos frutos. Segundo Pinto et al. (2006), a alteração da acidez é devido ao processo de respiração do mamão, em que alguns ácidos são utilizados no metabolismo do ciclo de Krebs. Segundo de Oliveira et al. (2016), em goiabas o valor de pH mais baixo foi observado em frutos sem revestimento, o que confirma que o amadurecimento foi mais rápido nas goiabas que não foram revestidas.

É notável que acontecem mudanças de pH durante armazenamento de alimentos, visto que, em processos de decomposição causado por hidrólise, oxidação ou fermentação, ocorrem mudanças na concentração de íons de hidrogênio no alimento (Souza et al., 2010). Segundo Pimentel et al. (2011), ocorrem síntese de ácidos orgânicos durante o amadurecimento dos frutos, provocando redução do pH. Por isso, nos frutos revestidos, o amadurecimento é retardado, tendendo o pH a se manter mais elevado do que o tratamento controle (Tabela 2).

Tabela 2: Análises físico-químicas da polpa dos mamões “Aliança” armazenadas a 12°C e 90% UR. Ensaios com os tratamentos de controle (T0); frutos revestidos com quitosana 2% (T1); frutos revestidos com CMC 1% + Ext. *M. charantia* L. 5% (T2); frutos revestidos com CMC 1% + Óleo de *A. indica* A. Juss. 0,5% (T3).

Tratamentos*		0 dias	12 dias	24 dias	30 dias
pH	T0	5,38 ± 0,09 Aa	5,09 ± 0,02 Cb	4,94 ± 0,005 Dc	5,0 ± 0,03 Bb
	T1	5,38 ± 0,09 Aa	5,30 ± 0,02 Aa	5,20 ± 0,008 Aa	5,29 ± 0,008 Aa
	T2	5,38 ± 0,09 Aa	5,21 ± 0,005 Ba	5,08 ± 0,005 Cb	5,32 ± 0,09 Aa
	T3	5,38 ± 0,09 Aa	5,13 ± 0,009 Cb	5,13 ± 0,008 Bb	5,21 ± 0,04 Aa
Acidez (% de ácido cítrico)	T0	0,06 ± 0,02 Aa	0,07 ± 0,005 Aa	0,07 ± 0,008 Aa	0,10 ± 0,02 Aa
	T1	0,06 ± 0,02 Aa	0,07 ± 0,005 Aa	0,09 ± 0,01 Aa	0,07 ± 0,01 Aa
	T2	0,06 ± 0,02 Aa	0,07 ± 0,005 Aa	0,08 ± 0,01 Aa	0,08 ± 0,01 Aa
	T3	0,06 ± 0,02 Aa	0,07 ± 0,005 Aa	0,09 ± 0,02 Aa	0,07 ± 0,005 Aa
Sólidos solúveis (°Brix)	T0	11,4 ± 1,08 Aa	12,9 ± 0,09 Aa	11,2 ± 0,08 Ba	10,9 ± 0,17 Aa
	T1	11,4 ± 1,08 Aa	10,9 ± 0,01 Ca	10,8 ± 0,25 Ba	11,3 ± 0,08 Aa
	T2	11,4 ± 1,08 Aa	10,6 ± 0,04 Ca	11,8 ± 0,15 Aa	10,6 ± 0,16 Aa
	T3	11,4 ± 1,08 Aa	12,3 ± 0,01 Ba	11,7 ± 0,09 Aa	11,3 ± 0,26 Aa
Ácido ascórbico (mg 100 g ⁻¹)	T0	72,4 ± 4,15 Ac	103 ± 3,79 Aa	81,1 ± 2,99 Ac	90,5 ± 4,01 Ab
	T1	72,4 ± 4,15 Aa	76,3 ± 2,24 Ba	71,0 ± 0,46 Ba	58,4 ± 3,87 Cb
	T2	72,4 ± 4,15 Ab	73,2 ± 3,36 Bb	66,3 ± 0,48 Bb	81,9 ± 2,55 Aa
	T3	72,4 ± 4,15 Aa	69,5 ± 0,64 Ba	65,7 ± 2,46 Ba	73,9 ± 2,64 Ba
Açúcares redutores (%)	T0	10,4 ± 0,45 Aa	11,0 ± 0,31 Aa	10,4 ± 0,61 Aa	9,87 ± 0,64 Aa
	T1	10,4 ± 0,45 Aa	9,79 ± 0,60 Ba	9,84 ± 0,31 Aa	10,7 ± 0,28 Aa
	T2	10,4 ± 0,45 Aa	9,93 ± 0,20 ABa	10,5 ± 0,77 Aa	9,84 ± 0,41 Aa
	T3	10,4 ± 0,45 Ab	11,3 ± 0,29 Aa	10,9 ± 0,97 Ab	10,5 ± 0,46 Ab
Açúcares solúveis totais (%)	T0	11,1 ± 0,44 Ab	11,8 ± 0,41 Aa	10,9 ± 0,07 Cc	10,7 ± 0,48 Bc
	T1	11,1 ± 0,44 Aa	10,7 ± 0,36 Ba	10,5 ± 0,22 Da	11,1 ± 0,15 Aa
	T2	11,1 ± 0,44 Ab	10,6 ± 0,29 Cb	11,3 ± 0,45 Ba	10,4 ± 0,22 Ab
	T3	11,1 ± 0,44 Ab	11,8 ± 0,13 Aa	11,4 ± 0,71 Aa	11,1 ± 0,32 Ab

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem entre si, já as médias seguidas por letras minúsculas iguais, na mesma linha, não diferem entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. As médias estão apresentadas com seus respectivos desvios padrões.

A acidez é um componente de sabor dos frutos, ela mede a porcentagem do conteúdo de ácido orgânico na amostra. Nota-se, na Tabela 2, que ao longo do tempo de armazenamento não houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre os valores de acidez de todos os tratamentos, que são muitos baixos para o mamão cv Aliança. Esse resultado é semelhante ao que foi encontrado por Souza et al. (2009), que identificaram que o mamão é um fruto que apresenta baixos teores de acidez, em torno de 0,10%. Segundo Pinto et al. (2006), o mamão Golden apresenta um aumento de acidez durante o processo de amadurecimento, devido ao mecanismo de hidrólise de parede celular, mas, ao final do amadurecimento ocorre o consumo parcial desses ácidos orgânicos, levando à redução de acidez.

O padrão de acidez do mamão cv Aliança avaliado neste trabalho tem magnitudes similares àqueles observados por Santana et al. (2004) na avaliação de diferentes genótipos de mamão, cujos conteúdos de acidez variaram de 0,04% até 0,16% em diferentes safras de produção.

Os conteúdos de sólidos solúveis indicam os sólidos dissolvidos em água dentro das células do tecido do mamão, tais como açúcares, ácidos, sais, aminoácidos etc. Ele é um importante indicador da qualidade do fruto (Chitarra e Chitarra, 2005). Na avaliação de diferentes genótipos de mamão, Santana et al., (2004) verificaram que o conteúdo de sólidos solúveis totais varia de 9 °Brix até 14 °Brix, sofrendo efeito da variedade e da safra de produção.

Nota-se, na Tabela 2, que o conteúdo de sólidos solúveis totais não sofre alteração significativa ao longo de 30 dias de armazenamento do mamão cv. Aliança. O mesmo comportamento foi verificado por Pinto et al (2006), durante o armazenamento refrigerado de mamões Golden, ocorrendo apenas um pequeno incremento após 32 dias de armazenamento. Resultados semelhantes foram encontrados por de Oliveira et al. (2016), que ao armazenar goiabas ‘Pedro Sato’ por 25 dias com refrigeração, observaram que os teores de sólidos solúveis se mantiveram inalterados ao longo do armazenamento.

No presente trabalho, verificaram-se pequenas diferenças de conteúdo de sólidos solúveis entre os tratamentos de controle e com os revestimentos, aos 12 dias e 24 dias de armazenamento, que podem ser atribuídas às pequenas mudanças no processo de síntese de açúcares durante o amadurecimento dos frutos com diferentes tipos de revestimentos.

A vitamina C é um composto antioxidante presente no mamão e que tem apelo atrativo aos consumidores. Neste trabalho, observou-se que o conteúdo de ácido ascórbico nos mamões do tratamento controle teve um aumento de 42% entre o início e o 12º dia de armazenamento, sofrendo uma redução de conteúdo durante a estocagem, mas ainda assim mantendo valores 25% mais altos do que aqueles obtidos no início do armazenamento (Tabela 2). De acordo com Bron e Jacomino (2006), o mamão cv Golden apresenta 20-30% de aumento de conteúdo de ácido ascórbico durante o amadurecimento, alcançando 1 g/kg, sendo que os compostos de manose e galactose proveniente de hidrólise de parede celular são os substratos usados na síntese de ácido ascórbico. Segundo Martins e Resende (2013), o conteúdo de ácido ascórbico passa de 73,9 mg/100g para 104,3 mg/100g durante 30 dias de estocagem do mamão Golden em câmara fria a 13°C.

Os tratamentos com quitosana 2%, CMC 1% + Ext. *M. charantia* L. 5% e com óleo de *A. indica* A. Juss. 0,5% mantiveram os valores de vitamina C constantes até o tempo de 24 dias (Tabela 2). Isto mostra que os revestimentos minimizaram o processo de síntese inicial de ácido ascórbico nos mamões, visto que os conteúdos ficaram menores do que no tratamento de controle. Segundo Martins e Resende (2013), a modificação da atmosfera de armazenamento atrasa a síntese de ácido ascórbico nos mamões devido à redução do metabolismo dos frutos.

No tempo de 30 dias observou-se perda de vitamina C para o tratamento de quitosana 2%, mas, nos frutos tratados com revestimento de Ext. *M. charantia* L. e óleo de *A. indica* A. Juss. ocorreu aumento do conteúdo de vitamina C (Tabela 2). Esses resultados mostram que o revestimento de quitosana provocou um processo de oxidação de ácido ascórbico nos mamões ao final de 30 dias de armazenamento. De acordo com Martins e Resende (2013), os mamões sofrem uma queda acentuada do conteúdo de ácido ascórbico devido ao processo de senescência dos frutos.

Nunes et al. (2017) verificaram que os teores de vitamina C em mamão formosa revestidos com fécula de mandioca tiveram um aumento gradual à medida que se aumentava a concentração da fécula de mandioca.

O conteúdo de açúcares é um dos principais fatores responsáveis pela avaliação de qualidade dos mamões (Chitarra e Chitarra, 2005). Nota-se, na Tabela 2. que os valores de conteúdo de açúcares solúveis totais apresentam magnitudes

muito próximas aos valores de sólidos solúveis totais (°Brix), indicando que existe uma correlação muito forte entre esses parâmetros de qualidade dos frutos. Além disso, o conteúdo de açúcares redutores é responsável por quase a totalidade do conteúdo de açúcares totais, indicando que existe apenas uma pequena proporção do conteúdo de açúcares não redutores. No estudo com mamão cv Solo, Soler et al. (1985) obtiveram um conteúdo de sólidos solúveis totais de 12 °Brix, com 10,75% de açúcares redutores e 11,79 % de açúcares solúveis totais.

Os frutos do tratamento controle apresentaram um pequeno incremento inicial de açúcares solúveis totais, aos 12 dias e, posteriormente, uma pequena redução após 24 dias de armazenamento. Porém, o conteúdo de açúcares redutores não foi alterado durante o armazenamento, indicando que ocorreu um processo de síntese inicial e uma hidrólise parcial dos açúcares não redutores durante o armazenamento dos frutos (Tabela 2).

No caso dos tratamentos com os revestimentos ativos, verifica-se na Tabela 2 que os frutos tratados com quitosana não apresentaram variação significativa dos conteúdos de açúcares solúveis totais e redutores durante todo o período de armazenamento, indicando que ocorreu uma alteração no metabolismo dos frutos, quando comparado com o tratamento de controle. Ao contrário, os frutos que foram revestidos com CMC contendo óleo de *A. indica* A. Juss. apresentaram incremento inicial tanto de açúcares solúveis totais como de açúcares redutores, indicando que ocorreu um atraso no processo de síntese e metabolismo dos açúcares durante o armazenamento.

4. Conclusão

Os mamões revestidos com CMC contendo óleo de *A. indica* A. Juss. apresentaram maior perda de massa ao final de 30 dias de armazenamento em câmara fria a 12 °C e 90% UR, em comparação com os mamões revestidos com quitosana, com CMC contendo Ext. *M. charantia* L. e tratamento controle, os quais não apresentaram diferença entre si.

Os frutos que foram revestidos com quitosana e CMC contendo óleo de *A. indica* A. Juss. tiveram crescimento de fungos mais cedo, aos 12 dias, ao passo

que frutos do tratamento controle iniciaram o crescimento aos 18 dias, indicando que os revestimentos serviram como meio de cultura para o crescimento dos fungos.

O crescimento de fungos foi generalizado a partir de 24 dias de armazenamento, contudo nos isolados obtidos das colônias não foram identificadas estruturas morfológicas típicas de *C. okinawense*, com exceção do controle, indicando que todos os revestimentos foram efetivos para inibir o crescimento deste fungo.

Na análise das características físico-químicas dos frutos verificou-se que os revestimentos retardaram o processo de amadurecimento, minimizando as alterações de cor da casca, acidez de polpa, conteúdos de açúcares e ácido ascórbico, contudo, o revestimento de quitosana provocou uma perda significativa de ácido ascórbico ao final de 30 dias de armazenamento refrigerado.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro e as bolsas de pesquisa concedidas pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ (Brasil), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES (Brasil) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPQ (Brasil),

Referências

Almeida, R. F., & Martins, J. C. C. (2022). Pontos de perdas de produção do Mamão Papaya (*Carica papaya* L.) na cadeia de pós-colheita na região de Linhares, Espírito Santo. *Revista De Extensão E Estudos Rurais*, 11(1).

Alves, A. S. S., Costa, A. M. T., da Silva, A. V., da Silva Simões, C. V., Souza, I. A., Costa, R. M. C. E., & Stamford, T. C. M. (2022). Revestimentos comestíveis à base de polissacarídeos em frutas: uma revisão narrativa. *Avanços em ciência e tecnologia de alimentos-volume 6*, 6, 388-402.

Amariz, A., de Lima, M. A. C., da Trindade, D. C. G., Ribeiro, T. P., & Costa, A. C. S. (2008). Recobrimento de mangas Tommy atkins com suspensões à base de dextrina, carboximetilcelulose e amido de milho. In: Congresso brasileiro de fruticultura, 20.; annual meeting of the interamerican society for tropical horticulture, 54., 2008, Vitória. Frutas para todos: estratégias, tecnologias e visão sustentável: anais. Vitória: INCAPER: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2008.

Andrade, E. M., Uesugi, C. H., Ueno, B., & Ferreira, M. A. (2007). Caracterização morfofocultural e molecular de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* patogênicos ao mamoeiro. Fitopatologia Brasileira, 32, 21-31.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists (1997) Official Methods of the Analysis. 16 ed ed., Washington, DC, USA.

Araújo, R. I., Freire, C., Cruz, S., Peters, L. P., & Ferreira, J. (2021). Identificação de isolados de *fusarium* encontrados em grãos de milho durante o armazenamento em silos no estado do acre. Enciclopédia Biosfera, 18(38).

Azevedo, V. V. C., Chaves, S. A., Bezerra, D. C., Fook, M. V. L., Costa, A. C. F. M. (2007). Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. Revista Eletrônica de Materiais e Processos, 2(3), 27-34.

Bautista-Banños, S.; Hernandez-Lauzardo, A. N.; Velazquez-Del Valle, M. G.; Hernández-Lopez, M.; Barka, E. A.; Bosquez-Molina, E.; Wilson, C. L. (2006) Chitosan as a potencial natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. Crop Protection, Gueldford, v.25, n. 2. p.108-118, 2006.

Borges, K. C. D. F., Santana, D. G. D., Lopes, S. W., & Pereira, V. J. (2016). Coloração do Fruto e Substrato na Emergência e no Crescimento de Plantas de *Eugenia calycina* Cambess. Floresta e Ambiente, 23(4), 544-554.

Bron, UI e Jacomino, AP (2006). Amadurecimento e qualidade do mamão'Golden'colhido em diferentes estádios de maturação. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, 18, 389-396.

Camili, EC; Benato, EA; Pascholati, SF; Cia P. (2007). Avaliação da quitosana na proteção pós-colheita de uvas 'Italia' contra *Botrytis cinerea* Summa Phytopathologica 33: 215-221.

Carnelossi, P. R., Schwan-Estrada, K. R. F., Cruz, M. E. S., Itako, A. T., & Mesquini, R. M. (2009). Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, 11, 399-406.

Carvalho, A. V.; Lima, L. C. O. (2008). Modificação de componentes da parede celular e enzimas de kiwis minimamente processados submetidos ao tratamento com ácido ascórbico, cítrico e CaCl₂. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v.22, n.3, p. 386-390, 2008.

Chitarra, M. I. F.; Chitarra, A. B. (2005). Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2. ed. Lavras: UFLA. 785 p.

da Silva, B. F., Paixão, T. S., Gatti, M. A. N., de Queiroz-Fernandes, G. M., Marcelino, M. C. L., & Neves, F. T. A. (2019). Evaluation of the antifungal activity of ethanolic extracts of the bitter melon (*Momordica charantia* L.) against different species of *Candida*.

de Almeida, T. F., Curado, A. C. D. S. F., & de Mello, F. A. T. (2021). Extratos vegetais no tratamento de pós-colheita da antracnose em frutos de mamão. In *Manejo de pragas e doenças: a busca por formas sustentáveis de controle* (Vol. 1, pp. 33-43). Editora Científica Digital.

de Oliveira Fonseca, M. J., Soares, A. G., Barboza, H. T. G., Carvalho, M. A. G., & Júnior, A. C. V. N. (2016). Uso de revestimento comestível para extensão da vida útil da goiaba 'Pedro Sato'. Revista Engenharia na Agricultura-REVENG, 24(2), 101-110.

de Souza, N. M., do Nascimento Serpa, M., da Silva, M. C. O., & da Silva, R. O. (2021). Aspectos morfológicos de leveduras isoladas de frutas e flores. Brazilian Journal of Development, 7(4), 40309-40319.

Demartelaere, A. C. F., Guimarães, G. H. C., Silva, J. A., Luna, R. G., & Nascimento, L. C. (2015). Extratos vegetais no controle da antracnose e na conservação da

qualidade em frutos de mamoeiro. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 17(4 suppl 3), 1041-1048.

Domingues, R. D. Q., de Aquino, A. A., & Rocha, V. C. F. (2024). Utilização de óleos essenciais na inibição dos agentes causadores da doença da antracnose na pós-colheita de mamão-papaia. *Trilhas-Revista de Extensão do IF Baiano*, 4(1).

Domingues, R. D. Q., de Aquino, A. A., & Rocha, V. C. F. (2024). Utilização de óleos essenciais na inibição dos agentes causadores da doença da antracnose na pós-colheita de mamão-papaia. *Trilhas-Revista de Extensão do IF Baiano*, 4(1).

Ferreira, R.M.A.; Aroucha, E.M.M.; Souza, P.A.; Queiroz, R.F.; Filho, F.S.T.P. (2009). Ponto de colheita da acerola visando à produção industrial de polpa. *Revista Verde, Mossoró*, v.4, n.2, p.13-16, 2009.

Fischer, I.H.; Silva, B.L. Da; Soares, A.R.; Arruda, M.C. De; Parisi, M.C.M.; Amorim, L. (2012). Efeito de fungicidas e produtos alternativos no controle da antracnose e da pinta preta da goiaba. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 33, supl. 1, p. 2753-2766, 2012.

Forato, L. A., de Britto, D., de Rizzo, J. S., Gastaldi, T. A., & Assis, O. B. (2015). Effect of cashew gum-carboxymethylcellulose edible coatings in extending the shelf-life of fresh and cut guavas. *Food Packaging and Shelf Life*, 5, 68-74.

Gomes, I. R., Samarão, S. S., Taveira, G. B., Rodrigues, P. S., & de Resende, E. D. (2024). Inhibitory effect of coatings with different polymeric bases on germination and *in vitro* growth of anthracnose fungus. *Food Science and Technology*, 44.

Granja, R. D. C. B., de Almeida Neves, F. P., Feitoza, G. S., de Seixas, J. R. P. C., & da Silva Siqueira, L. C. (2021). Avaliação do efeito do revestimento à base de quitosana na conservação pós-colheita do Umbu. *Brazilian Journal of Development*, 7(10), 95693-95706.

Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4. Ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, (2008). E-book. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf>. Acesso em: 10 out. 2024.

Jeffries, P.; Dodd, J.C.; Jeger, M.J.; Plumbley, R. A. (1990) The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruit plants. *Plant Pathol.* 39, 343-366.

Kean, T., & Thanou, M. (2010). Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. *Advanced drug delivery reviews*, 62 (1) ,3-11.

Liberato, J. R.; Tatagiba, J. S. (2001). Avaliação de fungicidas *in vitro* e em pós-colheita para o controle da antracnose e da podridão peduncular em frutos de mamão. *Summa Phytopathologica* 26:409-414.

Martins, D. R., & de Resende, E. D. (2013). Quality of Golden papaya stored under controlled atmosphere conditions. *Food science and technology international*, 19(5), 473-481.

Mossini S.A.G; Kemmelmeier, C. (2005). A árvore Nim (*Azadirachta indica* A. Juss): Múltiplos Usos. *Acta Farm. Bonaerense* v,24. p. 139-48, 2005. Disponível em: http://www.preservamundi.com.br/artigos/neem_multiplos.pdf.

Nunes, A. C. D., Neto, A. F., Nascimento, I. K., de Oliveira, F. J., & Mesquita, R. V. C. (2017). Armazenamento de mamão 'formosa' revestido à base de fécula de mandioca. *Revista de Ciências Agrárias*, 40(1), 254-263.

Pimentel, J. D. R.; Souza, D. S.; Oliveira, T. V.; Oliveira, M. C.; Bastos, V. S.; Castro, A. A. (2011). Estudo da conservação de mamão Havaí utilizando películas comestíveis a diferentes temperaturas. *Scientia Plena*, v. 7, n. 10, p. 1-6, 2011.

Pinheiro, R.V.R.; Marteleto, L.O.; Souza, A.C.G. de; Casali, W.D.; Condé, A.R. (1984). Produtividade e qualidade dos frutos de dez variedades de goiaba, em Visconde do Rio Branco, Minas Gerais, visando ao consumo ao natural e à industrialização. *Revista Ceres*, Viçosa, v.31, p.360-387, 1984.

Sanches, A. G., da Silva, M. B., Moreira, E. G. S., & Cordeiro, C. A. M. (2018). Preservação da qualidade pós-colheita da carambola com solução filmogênica de quitosana. In *Colloquium Agrariae*. ISSN: 1809-8215 (Vol. 14, No. 2, pp. 122-132).

Sanches, J.; Cia, P.; Valentini, S. R. T.; Benato, E.; Chagas, E. A.; Pio, R. (2011). Atmosfera modificada e refrigeração para conservação pós-colheita da nêspera 'Fukuhara'. *Bragantia*, Campinas, v. 70, n. 2, p. 455-459, 2011.

- Santana, L. R., Matsuura, F. C., & Cardoso, R. L. (2004). Genótipos melhorados de mamão (*Carica papaya* L.): avaliação sensorial e físico-química dos frutos. *Food Science and Technology*, 24, 217-222.
- Santos, C. A. A.; Castro, J. V. de; Picoli, A. A.; Rolim, G. S. (2008). Uso de quitosana e embalagem plástica na conservação pós-colheita de pêssegos 'Douradão'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v.30, n.1, p. 88-93, 2008.
- Serafini, S., Soares, J. G., Picoli, F., Dinon, A. Z., da Silva Robazza, W., & Paulino, A. T. (2021). Aspectos e peculiaridades da produção comercial de mamão (*Carica papaya* Linnaeus) no Brasil: estratégias para o futuro da cultura. *Research, Society and Development*, 10(12), e544101220551-e544101220551.
- Silva, R. A., de Almeida Pereira, R. E., & Nakano, M. A. S. (2011). Inibição do crescimento micelial e germinação de *Colletotrichum gloeosporioides* na seringueira pelo óleo de neem (*Azadirachta indica*). *Nucleus*, 8(1), 1-10.
- Soler, M. P., De Martin, Z. J., Fernandes, M. H. C., Mori, E. E. M., & Ferreira, V. L. P. (1985). Influência dos processos de descascamento na qualidade do purê de mamão da variedade Solo. *Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 22(1), 107-123.
- Souza, M. L. D., Morgado, C. M. A., Marques, K. M., Mattiuz, C. F. M., & Mattiuz, B. H. (2011). Pós-colheita de mangas' Tommy Atkins' recobertas com quitosana. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33, 337-343.
- Souza, M. P.; Cerqueira, M. A.; Souza, B. W. S.; Teixeira, J. A.; Porto, A. L. F.; Vicente, A. A.; Carneiro-Da-Cunha, M. G. (2010). Polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. tree gum (Policaju) as a coating for tomy Atkins mangoes. *Chemical Papers*, 64, 475-481, 2010.
- Souza, T. V., Coelho, E. F., da Silva Paz, V. P., & da Silva Ledo, C. A. (2009). Avaliação física e química de frutos de mamoeiro 'Tainung n 1', fertirrigado com diferentes combinações de fontes nitrogenadas. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 4(2), 179-184.

Vieira, W. A. D. S., Veloso, J. S., Silva, A., Nunes, A. D. S., Doyle, V. P., Castlebury, L. A., & Câmara, M. P. S. (2022). Elucidating the *Colletotrichum* spp. diversity responsible for papaya anthracnose in Brazil. *Fungal biology*, 126(10), 623-630.

Zhu, X; Wang, Q; Cao, J; Jiang, W. (2008). Efeitos do revestimento de quitosana na qualidade pós-colheita de frutas de manga (*Mangifera indica* L. cv. Tainong). *Journal of Food Processing and Preservation* 3.

4. CONCLUSÕES

O mamão muito consumido mundialmente e que apresenta grande importância econômica, mas é um fruto que sofre incidência de fungos ainda em campo, e que inviabilizam a comercialização e o consumo de grande parte da produção de mamão.

Estudar mecanismos e tecnologias de baixo custo e que não provoquem danos ao meio ambiente é muito importante para o avanço das pesquisas para o controle de fungos no mamão.

Com este trabalho foi possível observar que o revestimento ativo é uma tecnologia sustentável e importante para ser utilizada no fruto de mamão, podendo ser incorporada aos produtos naturais que possuem ação antifúngica para controlar a antracnose. As bases poliméricas utilizadas neste trabalho: carboximetilcelulose, quitosana e amido formam revestimentos que aderem bem ao fruto e que retardam a sua maturação, agindo como meio de cultura para o crescimento de micro-organismos.

Os produtos naturais incorporados ao revestimento de carboximetilcelulose a 1% utilizados neste trabalho - extrato de *M. charantia* L., extrato de *A. indica* A. Juss. e óleo de *A. indica* A. Juss - foram eficientes para retardar o aparecimento de *C. okinawense* durante o armazenamento dos mamões. É importante que trabalhos futuros investiguem a ação de outros produtos naturais, que não foram abordados neste trabalho, bem como diferentes formas de aplicação no mamão, para entender mecanismos de inibição dos fungos e aumentar o seu tempo de armazenamento sem a presença de fungos e outros micro-organismos contaminantes, visto que, além de *C. okinaense*, outros fungos e contaminantes podem infectar o fruto durante seu armazenamento, inviabilizando sua comercialização.

Portanto, para minimizar as perdas pós-colheitas do mamão, não basta controlar apenas o fungo *C. okinawense*, ou os principais fungos causadores da antracnose, mas sim todos os contaminantes que podem estar presentes no mamão, vindos do campo. Por isso, é necessário isolar e identificar os micro-

organismos que crescem no fruto, a fim de conhecer suas características e entender como controlá-los.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams, D. (2004). Fungal cell wall chitinases and glucanases. *Microbiology, Reading*, v. 150, n. 7.

Alcazar-Fuoli, L.; Mellado, e.; Garcia-Effron, G.; Lopez, J. F.; Grimalt, J. O. (2008) Cuenca-Estrella, J. M.; Rodriguez-Tudela, J. L. Ergosterol biosynthesis pathway in *Aspergillus fumigatus*. *Steroids*, v. 73, n. 3, p.

Alishah, A., Mirvaghefi, A., Tehrani, M. R., Farahmand, H., Shojaosadati, S. A., Dorkoosh, F. A., Elsabee, Maher Z. (2011) Enhancement and Characterization of Chitosan Extraction from the Wastes of Shrimp Packaging Plants. *Journal of Polymers and the Environment*, 19(3), 776-783.

Alves, H. T., São José, A. R., dos Anjos, D. N., Bomfim, M. P., de Novais, Q. S., & de Jesus Nolasco, D. S. (2020) Controle alternativo da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) em frutos de mamão 'Sunrise solo'. *Brazilian Journal of Development*, 6(5), 30331-30346.

Andrade, E. M., Uesugi, C. H., Ueno, B., & Ferreira, M. A. (2007) Caracterização morfocultural e molecular de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* patogênicos ao mamoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 32(1), 21-31.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists (1997) Official Methods of the Analysis. 16 ed ed., Washington, DC, USA

AOAC - Association of Official Analytical Chemists (2000) Official Methods of Analysis. 17th ed., The Association of Official Analytical Chemists, Gasthersburg, MD, USA.

AOCS, A. O. (2009). Oficial and tentative methods of the American Oil Chemists' Society: including additions and revisions. Champaing: AOCS.

Assis, O. B. G., Britto, D. (2014) Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. *Brazilian Journal of Food Technology*. Campinas, 17(2), 87-97.

ASTM. (2016). Standard test method for water vapor transmission of materials (E96M-16). Em A. International, Annual Book of ASTM Standards. West Conshohocken: PA.

Azevedo, V. V. C., Chaves, S. A., Bezerra, D. C., Fook, M. V. L., Costa, A. C. F. M. (2007). Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. Revista Eletrônica de Materiais e Processos, 2(3), 27-34.

Badillo, V. M. (1993). Caricaceae: segundo esquema. Revista de la Facultad de Agronomía. Alcance-Universidad Central de Venezuela (Venezuela) no. 43 111 p.

Barbosa, LCA, Filomeno, CA, & Teixeira, RR (2016). Variabilidade química e atividades biológicas de Eucalyptus spp. óleos essenciais. Moléculas, 21 (12), 1671.

Barros, N. A; Assis, A. R; Mendes, M. F. Extração do óleo de manjerição usando fluido supercrítico: análise experimental e matemática. (2014) Ciência Rural, Santa Maria, v.44, n.8, 1499-1505.

Barros, W. K. F. C., de Castro Carvalho, F. L., Júnior, L. B. B., de Sousa, R. R., Veras, F. H. C., Sousa, P. H. D. S., & Lobo, R. F. D. S. (2019). Utilização de revestimentos alternativos na conservação pós-colheita de mamão 'sunrise solo'. agri-environmental sciences, 5.

Bautista-Baños, S.; Hernández-López, M.; Bosquez-Molina, E.; WILSON, C. L. (2003) Effects of chitosan and plant extracts on growth of Colletotrichum gloeosporioides, anthracnose levels and quality of papaya fruit, Crop Protection, México, v. 22 p. 1087-1092.

Beatriz, A.; Araújo, Y.J.K.; Lima, D.P. (2011) Glicerol: um breve histórico e aplicação em sínteses estereosseletivas. Química Nova, v.34, 306-319.

Benabdesslem, Y.; Hachem, K.; Mébarki, M. (2020) Composição química do óleo essencial das folhas de Eucalyptus globulus Labill. crescendo no sudoeste da Argélia. J. Essent. Plantas de Oleodutos, 23, 1154-1160.

Bergold, A. M., & Georgiadis, S. (2004). Novidades em fármacos antifúngicos: uma revisão. Visão acadêmica, 5(2).

Bermúdez-Oria, Alejandra, et al. (2017) Physical and functional properties of pectin-fish gelatin films containing the olive phenols hydroxytyrosol and 3, 4-dihydroxyphenylglycol. *Carbohydrate polymers*, v. 178, p. 368-377.

Bittencourt, A. M. et al. O cultivo do nim indiano (*Azadirachta indica* A. JUSS.): uma visão econômica. *Floresta*, v. 39, n. 3, 11 set. 2009.

Boukhatem, M.N.; Amina, F.M.; Kameli, A.; Saidi, F.; Walid, K.; Mohamed, S.B. (2014) Avaliação da qualidade do óleo essencial de origem *Eucalyptus globulus* Labill de Blida (Argélia). *Int. Lett. Química Física Astron.*

Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, v. 94, p. 223-253, 2004.

Campana-Filho, S. P.; de Britto, D.; Curti, E.; Abreu, F. R.; Cardoso, M. B.; Battisti, M. V.; Priscilla Sim, P. C.; Goy, R. C.; Signini, R.; Lavall, R. L. (2007) Extração, estruturas e propriedades de α – e β -quitina. *Quimica Nova*, v. 30, p. 644-650.

Carvalho, S. A., Neto, A. F., de Sousa Costa, M., de Souza Costa, J. D., Pereira Filho, A., & Aragão, C. A. (2022). Efeitos da aplicação de revestimentos biodegradáveis na conservação pós-colheita de tomate. *Research, Society and Development*, 11(9), e59011931677-e59011931677.

Carvalho, A. S. E. S., Santos, A. H., Assis, E. O., Freitas, G. S., Lima, L. A., & Plácido, G. R. (2022). Effect of carboxymethyl cellulose coating on the conservation of mango under controlled temperature.

Carvalho, C.; Kist, B. B.; Santos, C. E., Treichel, M.; Filter, C. F. (2017) Anuário brasileiro da fruticultura 2017. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz. 88 p.

Carvalho, Manuel Ferreira. (2020) Novos materiais para embalagem: películas biodegradáveis e com atividade antioxidante. Tese de Doutorado. ISA.

Casemiro, J. C. L., Bacchi, L. M. A., Reis, H. F. D., & Gavassoni, W. L. (2019). Quitosana associada com extratos vegetais no controle pós-colheita de antracnose em mamão ‘formosa’. *Summa Phytopathologica*, 45, 64-69.

Castellan, G. Fundamentos de Físico-Química, 1º edição. Rio de Janeiro: LTC S. A., 1996, p.462-463.

Celoto, M. I. B. (2005). Atividade antifúngica de extratos de Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) sobre *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) Arx.

Celoto, M. I. B., Papa, M. D. F. S., do Sacramento, L. V. S., & Celoto, F. J. (2008). Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 30(1), 1-5.

Chang YP, Abd Karim A, Seow C.C. (2006) Interactive plasticizing-antiplasticizing effects of water and glycerol on the tensile properties of tapioca starch films. *FoodHydrocolloids*. 20: 1-8.

Chaudhary, M.M., Patel, D.S., Chaudhary, D.H. e Dighule, S.B. (2020). Isolamento e caracterização de fungos associados à deterioração dos frutos do mamão. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9 (4), 3434-3437.

Chitarra, M. I. F.; Chitarra, A. B. (2005) Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2. ed. Lavras: UFLA. 785 p.

Choudhury, D. et al. (2018) Role of botanical plant extracts to control plant pathogens-A review. *Indian Journal of Agricultural Research*, v. 52, n. 4, p. 341-346.

COMEXSTAT. Disponível em: <http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral>. Acesso em: 15 de dezembro de 2024.

Cong, F.; Zhang, Y.; Dong, W. (2007) Use of superface coating with natamycin to improve the storability of Hami melon at ambient temperature. *Postharvest Biologic Technology*, Shanghai, v. 46, p. 71-75.

Costa, A.; Martins, D. dos S. (2015) A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção.

Costa, H.; Ventura, J. A.; Tatagiba, J. S. (2022) Severidade da antracnose e podridão peduncular do mamão no estado do Espírito Santo. *Fitopatologia Brasileira*, v.27 (supl.).

Cotrut, R.; Butcaru, A.; Mihai, C.; Stanica, F. (2017) Carica papaya L. cultivated in greenhouse conditions. *Journal of Horticulture, Forestry, and Biotechnology*, v.3, p.130-136.

da Silva, B.D., Bernardes, P.C., Pinheiro, P.F., Fantuzzi, E., & Roberto, C.D. (2021). Composição química, fontes de extração e mecanismos de ação dos óleos essenciais: Conservante natural e limitações de uso em produtos cárneos. *Meat Science*, 108463.

da Silva, J. L. M., Caetano, G. M., Garcia, G. A., & Gonçalves, T. B. (2021). Atividade antifúngica do alho (*allium sativum*) sobre *candida albicans*. *Revista Brasileira Multidisciplinar*, 24(1), 112-126.

Dantas, Jorge Luiz Loyola; Lima, Juliana Firmino de. (2001) Seleção e recomendação de variedades de mamoeiro: avaliação de linhagens e híbridos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 23, p. 617-621.

de Melo, T. A., & de Souza Serra, I. M. R. (2021). Efeito do extrato hidroalcoólico e do óleo de nim (*Azadirachta indica*) sobre o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* e na resistência induzida de quiabeiros à fusariose. *Research, Society and Development*, 10(2), e7110212357-e7110212357.

de Oliveira, K. Á. R., Berger, L.R.R., de Araújo, S.A., Câmara, M.P.S., & de Souza, E.L. (2017). Misturas sinérgicas de quitosana e óleo essencial de *Mentha piperita* L. para inibir espécies de *Colletotrichum* e o desenvolvimento de antracnose na cultivar de manga Tommy Atkins. *Food microbiology*, 66, 96-103.

de Oliveira, M.S., da Costa, W.A., Bezerra, F.W.F., Araújo, ME, Ferreira, GC, & de Carvalho Junior, RN (2018). Perfil fitoquímico e atividades biológicas de *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae): Uma revisão. *Jornal Africano de Biotecnologia*, 17 (27), 829-846.

do Nascimento, T. H. D., da Silva, A. A. R., Bertão, A. M. S., & Maiola, M. R. A. (2019). Avaliação da atividade antimicrobiana de *Momordica charantia* L, contra *Staphylococcus aureus*. *Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa*, 34(67), 31-42.

Dong H. Q, Cheng L. Y, Tan J. H, Zheng K. W; Jiang Y. M. (2004) Effects of chitosan coating on quality and shelf life of peeled litchi fruit. *J, Food Engineering*, v. 64, p. 355-358.

Dotto, Joachim M.; ABIHUDI, Siri A. (2021) Valor nutracêutico da *Carica papaya*: Uma revisão. *Scientific African*, p. e00933.

Duong, D. H., Ngo, X. Q., Do, D. G., Le, T. A. H., Nguyen, V. T., & Nic, S. (2015). Effective control of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) cake to plant parasitic nematodes and fungi in black pepper diseases *in vitro*. *Journal of Vietnamese Environment*, 6(3), 233-238.

Eyiz, V., Tontul, İ., & Türker, S. (2020). Edible coating of cereal bars using different biopolymers: effect on physical and chemical properties during storage. *Gıda*, 45(5), 1019-1029.

Elsabee, M.Z., Abdou, E.S. (2012) Chitosan based edible films and coatings: a review. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, v. 33, n.4, p. 1819-1841.

FAOSTAT (2024). Produção de mamão no Brasil. Disponível em: <https://www.fao.org/statistics/en>. Acesso em: 10 de jan de 2025.

Ferreira, A. H. (2006). Efeito da adição de surfactantes e do ajuste de pH sobre filmes a base de gelatina, triacetina, ácidos graxos e cera de carnaúba e de cana-de-açúcar. Campinas: Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

Fiore, Alberto et al. (2021) Active packaging based on PLA and chitosan-caseinate enriched rosemary essential oil coating for fresh minced chicken breast application. *Food Packaging and Shelf Life*, v. 29, p. 100708.

Fratini, F.; Casella, S.; Leonardi, M.; Pisseri, F.; Ebani, VV; Pistelli, L.; Pistelli, L. (2014) Atividade antibacteriana de OEs, suas misturas e misturas de seus principais constituintes contra algumas cepas que suportam a mastite do gado. *Fitoterapia*, 96, 1-7.

Freires I. A.; Murata R.M.; Furletti V.F., Sartoratto A., Alencar S.M.; Figueira G.M., et al. (2014) *Coriandrum sativum* L. (Coriander) Essential Oil: Antifung Activity and Mode of Action on *Candida* spp., And Molecular Targets Affected in Human Whole-Genome Expression. *PLoS ONE* 9.

Fuciños C., et al. (2012) Use of Poly(N-isopropylacrylamide) Nanohydrogels for the Controlled Release of Pimaricin in Active Packaging. *Journal of Food Science*, v. 77, p. 21-28.

Gaudin S., Lourdin D., Forssell P., Colonna P. (2000) Antiplasticisation and oxygen permeability of starch-sorbitol films. *Carbohydrate Polymers*. 43: 33-37.

Gelinski, J. M. L. N. et al. (2007) Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) e de seu composto ativo nerolidol em combinação ao EDTA ou lisozima. *Evidência Ciência e Biotecnologia*, v. 7, n. 2, p. 131-144.

Ghnaya, A.B.; Hanana, M.; Amri, I.; Balti, H.; (2013) Gargouri, S.; Jamoussi, B.; Hamrouni, L. Chemical composition of *Eucalyptus erythrocorys* EOs and evaluation of their herbicidal and antifungal activities. *J. Pest Sci.* 86, 571-577.

Gomes, I. R. Aplicação de cloreto de cálcio e revestimento ativo de amido de mandioca com extrato de *Momordica charantia* L. para controle de fungos durante armazenamento de mamão. [Dissertação de mestrado]. Campos dos Goytacazes: Programa de Produção Vegetal. Universidade Estadual Norte do Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes.

Gomes, S., Azevedo-Nogueira, F., & Martins-Lopes, P. (2021). Editorial Comments to the Special Issue: “Colletotrichum spp. on Fruit Crops—State of the Art, Perspectives and Drawbacks”. *Pathogens*, 10(4), 478.

Gonçalves, C. X. (2013) Alterações moleculares, físico-químicas e fisiológicas em melões e tomates: relações com etileno e citocininas. Orientador: Cesar Valmor Rombaldi. 131f.: il. – Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas. Centro de Desenvolvimento Tecnológico. Pelotas.

Gontard N., Guilbert S., Cuq J.L. (1993) Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. *Journal of Food Science*. 58: 206-211.

Gonzalez-Aguilar, G.; Valenzuela-Soto, E.; Lizardi-Mendoza, Goycoolea, F.; Martpinez-Téllez, M.; Villegas-Ochoa, M.; Monroygarcía, I.; Ayala-Zavala, J. F. (2009) Effect of chitosan coating in preventing deterioration and preserving the quality of fresh-cut papaya ‘Maradol’. *Journal of Food Science Agriculture, Sonora*, v. 89, p. 15-23.

Grande-Tovar, C.D., Chaves-Lopez, C., Serio, A., Rossi, C., & Paparella, A. (2018). Revestimentos de quitosana enriquecidos com óleos essenciais: Efeitos sobre fungos envolvidos na decomposição de frutas e mecanismos de ação. *Trends in Food Science & Technology*, 78, 61-71.

Guarniz, W.A.S., Canuto, K.M., Ribeiro, P.R.V., Dodou, H.V.; Magalhães, K.N.; Sá, K.; Bandeira, M.A.M. (2019). Momordica Charantia L. Variedade do Nordeste do Brasil: Análise da Atividade Antimicrobiana e Componentes Fitoquímicos. *Pharmacognosy Journal*, 11 (6).

Guerra, I.C.D.; Oliveira, P.D.L.; Pontes, A.L.S.; Lúcio, A.S.S.C.; Tavares, J.F.; Barbosa-Filho, J.M.; Madruga, M.S.; Souza, E. L. (2015) Coatings comprising chitosan and Mentha piperita L. or Mentha x villosa Huds essential oils to prevent common postharvest mold infections and maintain the quality of cherry tomato fruit. *International Journal of Food Microbiology*, v. 214, p. 168-178.

Gupta, A.; Sharma, S.; Naik, S.N. (2011) Valor biopesticida de OEs selecionados contra fungos patogênicos, cupins e nematóides. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 65, 703-707.

Hafsa, J., ali Smach, M., Khedher, M. R. B., Charfeddine, B., Limem, K., Majdoub, H., & Rouatbi, S. (2016). Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan films containing *Eucalyptus globulus* essential oil. *LWT-Food Science and Technology*, 68, 356-364.

Harkat-Madouri, L.; Asma, B.; Madani, K.; Said, ZB-OS; Rigou, P.; Grenier, D.; Allalou, H.; Remini, H.; Adjaoud, A.; Boulekbache-Makhlouf, L. (2015) Composição química, atividades antibacterianas e antioxidantes do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* da Argélia. *Ind. Crops Prod.* 78, 148-153.

Henrique C. M; Cereda M.P. Utilização de biofilmes na conservação póscolheita de morango (*Fragaria Ananassa Duch*) cv IAC Campinas. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 1999. 19: 231-233.

Hernandez-Muñoz, P.; Almenar, E.; Ocio, M.J., Gavara, R. (2006) Effect of calcium dips and chitosan coatings on postharvest life of strawberries (*Fragaria x ananassa*). *Postharvest Biology and Technology*, v. 39, p. 247-253.

Ishnava, K.B.; Chauhan, J.B.; Barad, M.B. (2013) Avaliação anticariogênica e fitoquímica de *Eucalyptus globulus* Labill. *Saudi J. Biol. Sci.* 20 69-74.

Jamal, C. M. et al. (2008) O uso de extratos vegetais no controle alternativo da podridão pós-colheita da banana. In: Simpósio nacional do cerrado, IX, 2008, Parla Mundi. Anais. Brasília, DF: EMBRAPA Cerrados.

Janjarasskul T.; Krochta M.J. (2010) Edible packaging materials. *Annu Rev Food Sci Technol*.V. 1p. 415-448.

Jeffries, P.; Dodd, J.C.; Jeger, M.J.; Plumbley, R. A. (1990) The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruit plants. *Plant Pathol.* 39, 343-366.

Jinga, C.; Zhaob, J.; Hanb, X.; Huang, R.; Caic, D.; Zhanga, C. (2018) Essential oil of *Syringa oblata* Lindl. as a potential biocontrol agent against tobacco brown spot caused by *Alternaria alternata*. *Crop Protection*, v. 104, p. 41-46.

Joshi, R. (2018). A Review on *Colletotrichum* spp. Virulence mechanism against host plant defensive factors. *J. Med. Plants Stud*, 6, 64-67.

Junior, E. B., Monarim, M. M. S., Camargo, M., Mahl, C. E. A., Simões, M. R., Silva, C. F. (2010). Efeito de diferentes biopolímeros no revestimento de mamão (*Carica papaya* L) minimamente processado. *Revista Varia Scientia Agrárias*, 1(1), 131-142.

Kaistner, U.; Hoffmann, H.; Donges, R.; Hilbig, J.; Structure and solution properties of sodium carboxymethyl cellulose, *Colloids Surfaces A: Physicochem*, v. 123-124, p. 307-328, 1996.

Katiyar, R., Khare, E., & Kaistha, S. D. (2023). Concentration Dependent Effect of *Azadirachta indica* (Neem) Seed Oil and Neem Bark extract on Planktonic and Established Biofilm Growth of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Pure & Applied Microbiology*, 17(3).

Kaori Fukuda, E.; Dalberto Vasconcelos, A. F.; Cândido Matias, A.; de Melo Barbosa, A.; Huibert Dekker, R. F.; Corradi da Silva, M. L. (2009). Polissacarídeos de parede celular fúngica: purificação e caracterização *Semina: Ciências Agrárias*, vol. 30, núm. 1.

Kar de Oliveira, L.R. Ramos Berger, S.A. de Araújo, M.P. Saraiva Câmara, E.L. de Souza. (2017) Misturas sinérgicas de quitosana e óleo essencial de *Mentha piperita* L. para inibir espécies de *Colletotrichum* e o desenvolvimento de antracnose na cultivar de manga Tommy Atkins. *Food Microbiology*, 66 pp. 96 – 103

Kumar, A., Singh, S., Kumari, P., & Rasane, P. (2021). Eucalipto: composição fitoquímica, métodos de extração e aplicações alimentícias e medicinais. *Avanços na Medicina Tradicional*, 1-12.

Liu, J.; Tian, S.; Meng, X.; Xu, Y. (2007) Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, v. 44, p. 300-306, 2007.

Luna, D.; Bustamante, L. M.; González, G.; Domínguez, S. J.; Bautistabaños, S.; Shirai, K.; Bosquez, M. E. (2001) Treatments on the quality of papaya fruit during

storage. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ENGINEERING FOOD, 8., Proceedings... Lancaster: PA. p. 1042-1046.

Macedo, I.T.F.; Bevilaqua, C.M.L.; Oliveira, L.M.B.; Camurça-Vasconcelos, A.L.F.; Vieira, L.S.; Oliveira, F.R.; Queiroz-Júnior, E.M.; Portela, B.G.; Barros, R.S.; Chagas, A.C.S. (2009) Atividade ovicida e larvica *in vitro* de OEs de *Eucalyptus globulus* sobre *Haemonchus contortus*. Rev. Brás. Parasitol. Veterinario. 18, 62-66

Maciel, M.V.; Morais, S.M.; Bevilaqua, C.M.L.; Silva, R.A.; Barros, R.S.; Sousa, R.N.; Souza, L.C.; Brito, E.S.; Souza-Neto, M.A. (2010) Composição química de *Eucalyptus* spp. OEs e seus efeitos inseticidas em *Lutzomyia longipalpis*. Veterinario. Parasitol. 167, 1-7.

Mali S., Sakanaka L.S., Yamashita F, Grossmann M.V.E. (2005) Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. Carbohydrate Polymers. 60: 283-289.

Marin, S. L. D., Arantes, S. D., & LEDO, C. D. S. (2018). Melhoramento genético de mamão (*Carica papaya* L.) no Brasil, no México e nas Ilhas Canárias, Espanha.

Martínez-Camacho, A.P., Cortez-Rocha, M.O., Ezquerro-Brauer, J.M., Graciano-Verdugo, A.Z., Rodriguez-Félix, F., Castillo-Ortega, M.M., Plascencia-Jatomea, M.J.C.P. (2010) Filmes compostos de quitosana: Propriedades térmicas, estruturais, mecânicas e antifúngicas. Polímeros de carboidratos, 82 (2), 305-315.

Melgão, C., Ricardo-Rodrigues, S., Félix, M. D. R., Nabais, J., & Agulheiro-Santos, A. C. (2018). Estudo do efeito *in vitro* dos revestimentos edíveis de quitosano com óleos essenciais no controle de fungos.

Mello, A. P. O. A.; Zacharias, M. B. (2019) Efeito de extrato vegetal no crescimento de *Colletotrichum acutatum* do morangueiro. Revista Ciência, Tecnologia & Ambiente, v. 9, n. 1.

Meng, X.; Yang, L.; Kennedy, J. F.; Tian, S. (2010) Effects of chitosan and oligochitosan on growth of two fungal pathogens and physiological properties in pear fruit. *Carbohydrate Polymers*, v. 81, p. 70-75.

Miya, M. D., & Shamsi, S. (2017). *In Vitro* Evaluation of Selected Plant extracts and Chemicals against Pathogenic Fungi isolated from Momordica Charantia L. *Journal of Bangladesh Academy of Sciences*, 41(1), 11-16.

Mieres-Castro, D., Ahmar, S., Shabbir, R., & Mora-Poblete, F. (2021). Atividades antivirais dos óleos essenciais de eucalipto: sua eficácia como alvos terapêuticos contra vírus humanos. *Farmacêutica*, 14 (12), 1210.

Mohammadi, A., Hashemi, M., & Hosseini, S.M. (2015). Nanoencapsulação da preparação e caracterização do óleo essencial de Zataria multiflora com atividade antifúngica aprimorada para o controle de Botrytis cinerea, o agente causal da doença do mofo cinzento. *Ciência alimentar inovadora e tecnologias emergentes*, 28, 73-80.

Molina-Chaves, Anthony; Gómez-Alpízar, Luis; Umaña-Rojas, Gerardina. (2017) Identificación de especies del género Colletotrichum asociadas a la antracnosis en papaya (Carica papaya L.) En Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, v. 41, n. 1, p. 69-80.

Molon, Rosemeri. (2013) Qualidade e composição físico-química de frutas de morangueiro. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Moraga, J., Gomes, W., Pinedo, C., Cantoral, J. M., Hanson, J. R., Carbú, M., ... & Collado, I. G. (2019). The current status on secondary metabolites produced by plant pathogenic Colletotrichum species. *Phytochemistry Reviews*, 18(1), 215-239.

Morgan, E. D. Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry, Modern Trends in Agrochemistr*, v. 17, n. 12, p. 4096-4105, 15 jun. 2009.

Mulyaningsih, S.; Sporer, F.; Reichling, J.; Wink, M. (2011) Atividade antibacteriana de OEs de eucalipto e de componentes selecionados contra patógenos bacterianos multirresistentes. *Pharm. Biol.* 49, 893-899.

Nafiu, A.B., Alli-Oluwafuyi, A.M., Haleemat, A., Olalekan, I.S., & Rahman, M.T. (2019). Mamão (Carica papaya L., Pawpaw). Em suplementos nutricionais não-vitamínicos e não-minerais (pp. 335-359).

Nunes, A.C.D., Neto, A.F., Nascimento, I.K.S., Oliveira, F. J. V., & Mesquita, R.V.C. (2017) Armazenamento de mamão 'formosa' revestido à base de fécula de mandioca. *Revista de Ciências Agrárias*, 40, 254-263.

Oliveira, JD, Silva, PPMD, Parisi, MCM, Baggio, JS, Gloria, EM, & Spoto, MHF (2024). Efeito de revestimentos comestíveis à base de carboximetilcelulose incorporando óleo essencial sobre atributos de *Botrytis cinerea* e morango. *Scientia Horticulturae*, 330, 113024.

Oliveira, D.A.B. (2015). Uso do neem e seus componentes moleculares no controle do mosquito *Aedes aegypti*. *Revista Científica do ITPAC*, 8(2), 1-5.

Oliveira Filho, Josemar Gonçalves et al. (2021) The potential of anthocyanins in smart, active, and bioactive eco-friendly polymer-based films: a review. *Food Research International*, v. 142, p. 110202.

Oliveira, E. B. L; Araújo Neto, S. E.; Galvão, R. O; Souza, M. L. (2015) Revestimentos alternativos na conservação pós-colheita de mamão. *Enciclopédia Biosfera*, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.11 n. 22; p. 2523- 2530.

Oliveira, J. G., Silva, G. M. C., Oliveira, M. G., Silva, W. B., Souza, A. F., Silva, L. R. A., ... & Morales, L. M. M. (2018) Metabolismo respiratório no mamão e sua influência na qualidade e conservação pós-colheita do fruto.

Oliveira, L. M., Alves, R. M., Sarantópoulos, C. G., Padula, M., Garcia, E. E., & Colto, L. (1996). Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis (Vol. 1). Campinas: ITAL/CETEA.

Park, Y.K., Kim, M.H., Park, S.C., Cheong, H.S., Jang, M.K., Nah, J.W., & Hahm, K.S. (2008). Investigação da atividade antifúngica e mecanismo de ação da LMWS-quitosana. *Journal of microbiology and biotechnology*, 18 (10), 1729-1734.

Petkoska, Anka Trajkovska et al. (2021) Edible packaging: sustainable solutions and novel trends in food packaging. *Food Research International*, v. 140, p. 109981.

Phatik, T.; Das, J.; Boruah, P. (2014) Antifungal activity of polygonum hydropiper and solanum melongena against plant pathogenic fungi. Plant Archives, v. 14, n. 1, p. 15-17.

Pinto, A. M. B. (2012) Desenvolvimento de filmes e revestimentos biodegradáveis à base de amido e goma de cajueiro.

Porter, W. L; Conca, K. R.; Lachica, V.; Mayer, J. M.; Pariser, R. (2000) Chitin and chitosan as Novel Protective Food Ingredients In: U.S Army Natick Center, Marine Polymer Technologies, Danvers: MA.

Prill, M. A. S.; Neves, L.C.; Tosin, J. M.; Chagas, E. A. (2012) Atmosfera Modificada E Controle De Etileno Para Bananas 'Prata-Anã' Cultivadas Na Amazônia Setentrional Brasileira. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, v. 34, n. 4

Prusky, D., Alkan, N., Mengiste, T., & Fluhr, R. (2013). Escolha de estilo de vida quiescente e necrotrófico durante o desenvolvimento de doença pós-colheita. Annual Review of Phytopathology, 51, 155-176.

Rabea, E. I.; Badawy, M. E. T.; Stevens, C. V.; Smagghe, G.; Steurbaut, W. (2003) Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action. Biomacromolecules, v. 4, p. 1457-1465.

Rangaraj, V. et al. (2021) Natural antioxidants-based edible active food packaging: an overview of current advancements. Food Bioscience, v. 43, p. 101251.

Ríos, J. L. & Recio, M. C. (2005) Medicinal plants and antimicrobial activity. Journal of Ethnopharmacology, 80-84.

Rocha, A. B. da. (2019) Prospecção fitoquímica e efeito de extratos da folha da algarobeira (Prosopis juliflora (Sw)) no controle do Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Penz & Sacc do cajueiro (Anacardium occidentale L.). Trabalho de Conclusão de Curso. Brasil.

Rodríguez, M.; Osés, J.; Ziani, K.; & Maté, J. I. (2006) Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films. Food Research International, v. 39, n. 8, p. 840-846.

Rosseto, M., Rigueto, C. V. T., Dettmer, A., Loss, R. A., Pizzutti, I. R., & Dos Santos, N. S. P. (2021) Adição de compostos bioativos em embalagens alimentícias ativas e inteligentes: tendências, avanços e desafios.

Salgado, P. R.; Ortiz, C. M.; Musso, Y. S.; Di Giorgio, L.; Mauri, A. N. (2015) Edible films and coatings containing bioactives. *Current Opinion in Food Science*, v. 5, p. 86-92.

Sanches, A. G., Silva, M. B. da, Moreira, E. G. S., & Cordeiro, C. A. M. (2018). Preservação da qualidade pós-colheita da carambola com solução filmogênica de quitosana. *Colloquium Agrariae*. ISSN: 1809-8215, 14(2), 122-132.

Santos, V. S., Santos, V. S. D., Fernandes, R. D. S., Ferreira Júnior, C. R., Aouada, F. A., Américo-Pinheiro, J. H., & Moura, M. R. D. (2021). Avaliação e caracterização de biofilme comestível de carboximetilcelulose contendo nanopartículas de quitosana e Cúrcuma longa. *Matéria (Rio de Janeiro)*, 26, e12926.

Santos, A. S., Alves, S. D. M., Figueiredo, F. J. C., & Da Rocha Neto, O. G. (2004). Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório. Embrapa Amazônia Oriental-Comunicado Técnico (INFOTECA-E).

Santos, B., Reis, R. C., Almeida, J. M., Batista, D., & Sasaki, F. F. C. (2018). Efeito do óleo essencial de cravo-da-índia e do revestimento à base de fécula de mandioca no controle da antracnose e nas características físico-químicas do mamão. In Embrapa Mandioca e Fruticultura-Resumo em anais de congresso (ALICE). In: Jornada científica EMBRAPA mandioca e fruticultura, 12.

Santos, D. Y. A. C. (2015) Botânica aplicada: metabólitos secundários na interação planta-ambiente Universidade de São Paulo, São Paulo.

Saxena, A., Sharma, L., & Maity, T. (2020). Enrichment of edible coatings and films with plant extracts or essential oils for the preservation of fruits and vegetables. In *Biopolymerbased formulations* (pp. 859-880). Elsevier.

Serrano, L. A. L.; Cattaneo, L. F. (2010) O cultivo do mamoeiro no Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v.32, n.3.

Seydim, Atif Can; Sarikus-Tutal, Gulsen; Sogut, Ece. (2020) Effect of whey protein edible films containing plant essential oils on microbial inactivation of sliced Kasar cheese. *Food Packaging and Shelf Life*, v. 26, p. 100567.

Shala, A.Y., & Gururani, M.A. (2021). Propriedades fitoquímicas e diversos papéis benéficos do *Eucalyptus globulus* Labill.: Uma revisão. *Horticulturae*, 7 (11), 450.

Shao, X.; Cao, B.; Xu, F.; Xie, S.; Yu, D.; Wang, H. (2015) Effect of postharvest application of chitosan combined with clove oil against citrus green mold. *Postharvest Biology and Technology*, v. 99, p. 37-43.

Sharma, Shubham et al. (2021) Essential oils as additives in active food packaging. *Food Chemistry*, v. 343, p. 128403.

Shimazu A.A., Mali S., Grossmann M.V.E. (2007) Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. *Semana: Ciências Agrárias*. 28: 79.

Silva Junior, I.F., Raimondi, M., Zacchino, S., Cechinel Filho, V., Noldin, VF, Rao, VS, ... & Martins, D.T. (2010). Avaliação da atividade antifúngica e modo de ação de *Lafoensia pacari* A. St.-Hil., *Lythraceae*, extratos da casca do caule, frações e ácido elágico. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20, 422-428.

Silva, P. A; Silva, J. P. C.; Coelho, P. O.; Silva, J. M.; Assunção, E. L. S. (2015) Avaliação da qualidade de mamões (*Carica papaya* L.). *Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações*, v. 13, n. 2, p. 465 -474.

Silva, H. S., dos Santos, K. S., & Ferreira, E. I. (2006). Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. *Química Nova*, 29, 776-785.

Silva, L. R. A.; Silva, G. M. C.; Silva, W. B.; Cláudio, L. M. D. S.; de Oliveira, J. G. (2015) Atividade respiratória em mitocôndrias isoladas da polpa do mamão 'UENF/Caliman01' e 'Tainung 01' na conservação do fruto em pós-colheita. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.37, p.296-307.

Silva, O. F.; Soares, A.G. (2001) Recomendações para prevenção de perdas pós-colheita do mamão. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos. 20 p.

Silva, V. W., Bifani, M., Sobral, P. J., & Guillén, M. C. (2013). Structural properties of films and rheology of film-forming solutions based on chitosan and chitosan-starch blend enriched with murta leaf extract. *Food Hydrocolloids*, 31, 458-466.

Silveira, J. C., Busato, N., Costa, A., & Junior, E. C. (2012). Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. *Enciclopédia Biosfera*, 8(15).

Souza, A. F. (2013). Uso de revestimentos de quitosana visando a estender o tempo de prateleira de mamões das variedades golden e UENF/CALIMAN 01. Tese de Doutorado.

Souza, N. A. B. de et al. (2010) Possíveis mecanismos de atividade antifúngica de óleos essenciais contra fungos patogênicos.

Swain S.N., Biswal S.M., Nanda P.K., Nayak P.L. (2004) Biodegradable soy-based plastics: opportunities and challenges. *Journal of Polymers and the Environment*. 12: 35-42.

Talhinhas, P.; Mota-Capitão, C.; Martins, S.; Ramos, A.P.; Neves-Martins, J.; Guerra-Guimarães, L.; Várzea, V.; Silva, M.C.; Sreenivasaprasad, S.; Oliveira, H. (2011) Epidemiologia, histopatologia e etiologia da antracnose da azeitona causada por *Colletotrichum acutatum* e *C. gloeosporioides* em Portugal. *Plant Pathol.* 60, 483-495

Tardieu, D.; Bailly, J. D.; Benard, G.; Guerre, R. (2007) Comparison of two extraction methods for ergosterol determination in vegetal feeds. *Revue de Medecine Veterinaire*, v. 158, n. 8-9, p. 442-446.

Tavares, L. R.; de Almeida, P. P.; Gomes, M. F. (2018) Avaliação físico-química e microbiológica de goiaba (*Psidium guajava*) revestida com cobertura comestível à base de O-carboximetilquitosana e óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*). *Multi-Science Journal* (ISSN 2359-6902), v. 1, n. 13, p. 20-26.

Thode Filho, S., Jorge, E. N. D. L. F., da Fonseca Nicomedes, K., Sampaio, F. P., Ongaratto, R. S., & de Souza Júnior, F. G. (2021). Adição de biopreservadores na síntese de biofilme de amido de mandioca para conservação de banana 'prata'. *Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente*, 2(8), 40-50.

- Tyagi, A.K.; Malik, A. (2011) Antimicrobial potential and chemical composition of *Eucalyptus globulus* oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms. *Food Chem.* 126, 228-235.
- Varona, R.; Perez. P.; Duran, A. (1993) Effect os populacandim B on B-glucan synthesis in *Schizosaccharomyces pombe*. *FEMS Microbiology Letters*, v.20, p.143-247.
- Vianna, T. C. et al. (2021) Essential oils as additives in active starch-based food packaging films: a review. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 182, p. 1803-1819.
- Vieira, W. A. D. S., Veloso, J. S., Silva, A., Nunes, A. D. S., Doyle, V. P., Castlebury, L. A., & Câmara, M. P. S. (2022). Elucidating the *Colletotrichum* spp. diversity responsible for papaya anthracnose in Brazil. *Fungal biology*, 126(10), 623-630.
- Vieira, L. E. B. (2019). Estudos farmacobotânico, fitoquímico e prospecção da atividade antifúngica de extratos de *Momordica charantia* L. e *Luffa cylindrica* L. M. Roem. frente isolados clínicos de *Candida* spp (Master's thesis. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco.
- Vieira, M. L. G.; Dotto, G. L.; Pinto, L. A. (2009) Uso de quitosana com diferentes massas moleculares como filmes microbiológicos no recobrimento de mamões-papaia. In: Congresso brasileiro de engenharia química em iniciação científica, 8, Uberlândia, Resumos... Uberlândia: M.
- Vilela, G.R.; Almeida, G.S.; D'Arce, M.A.B.R.; Moraes, M.H.D.; Brito, J.O.; Silva, M.F.G.F.; Silva, S.C.; Piedade, S.M.S.; Calori-Domingues, M.A.; Gloria, E.M. (2009) Atividade do óleo essencial e seu composto majoritário, 1,8-cineol, de *Eucalyptus globulus* Labill., contra os fungos de armazenamento *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* Speare. *J. Prod. Armazenado.* 45, 108-111
- Vizzoto, M.; Krolow, A. C.; Weber, G. E. B. (2010) Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. Documento: Embrapa Clima Temperado, Pelotas, n.316, p.7-15.

Vratnica, B.D.; Đakov, T.; Šukovic, D.; Damjanović, J. (2011) Efeito antimicrobiano do óleo essencial isolado de *Eucalyptus globulus* Labill. de Montenegro. *Czech J. Food Sci.* 29, 277-284.

Wadekar, A.B., Nimbawar, M.G., Panchale, W.A., Gudalwar, B.R., Manwar, J.V. e Bakal, R.L. (2021). Aspectos morfológicos, fitoquímicos e farmacológicos de *Carica papaya*, uma revisão. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 14 (3), 234-248.

Yan, J.K., Wu, L. X., Qiao, Z. R., Cai, W. D. e Ma, H. (2019). Efeito de diferentes métodos de secagem na qualidade do produto e polissacarídeos bioativos de fatias de cabaço amargo (*Momordica charantia* L.). *Food chemistry*, 271, 588-596.

Yuan, G., Chen, X., & Li, D. (2016). Filmes e revestimentos de quitosana contendo óleos essenciais: A atividade antioxidante e antimicrobiana e aplicação em sistemas alimentares. *Food Research International*, 89, 117-128.

Yusoff, Z. M.; Nordin, M. N. N.; Rahiman, M. H. F.; Adnan, R.; Taib, M. N. (2011) Characterization of Down-Flowing Steam Distillation System using Step Test Analysis. *IEEE CSGRC*, 197-201.

Zakaria, Latiffah. (2021). "Diversity of *Colletotrichum* Species Associated with Anthracnose Disease in Tropical Fruit Crops - A Review" *Agriculture* 11, no. 4: 297.

Zucchini, N. M.; Miranda, M.; Bresolin, J. D.; Mitsuyuki, M. C.; Ferreira, M. D. (2017) Avaliação do potencial de coberturas nanoestruturadas de cera de carnaúba na conservação pós-colheita de mamão. In: *Anais da 9ª jornada científica - EMBRAPA Cão Carlos. Embrapa Pecuária Sudeste e Embrapa Instrumentação - São Carlos, SP.*