Universidade Brasil
Campus de Fernandópolis

RAFAEL FONTANA BARUFI

EFEITO FUNGICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE EM PÓS-COLHEITA DE FRUTOS DE MAMÃO

Fungicidal effect of essential oils in controlling anthracnose in papaya fruit postharvest

Fernandópolis, SP
2016

Rafael Fontana Barufi

EFEITO FUNGICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE EM PÓS-COLHEITA DE FRUTOS DE MAMÃO

Orientador: Prof. Dr. Roberto Andreani Junior

Co-orientadora: Prof.(a) Dra. Dora Inés Kozusny-Andreani

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Brasil, como complementação dos créditos necessários para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Fernandópolis, SP

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Barufi, Rafael Fontana
B297e Efeito fungicida de óleos essenciais no controle da antracnose em pós-colheita de frutos de mamão / Rafael Fontana Barufi. – Fernandópolis, 2016.
50 f. : il. ; 29,5cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, da Universidade Brasil, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.
Orientador: Profº Drº Roberto Andreani Junior
Co-orientadora: Profª Drª Dora Inês Kozusny-Andreani

1. Plantas medicinais. 2. Colletotrichum gloesporioides. 3. Ação antifúngica. 4. Carica papaya. I.Título.

CDD 634.651

Termo de Autorização

Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respectivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses da CAPES

Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a Universidade Brasil a disponibilizar através do site http://www.universidadebrasil.edu.br, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site http://bancodeteses.capes.gov.br, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

Título do Trabalho: **"UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E VEGETAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE EM FRUTOS DO MAMOEIRO"**

Autor(es):

Discente: Rafael Fontana Barufi Assinatura: Rafael F. Barufi

Orientador: Roberto Andreani Junior Assinatura:

Data: 31/outubro/2016

UNIVERSIDADE BRASIL

TERMO DE APROVAÇÃO

RAFAEL FONTANA BARUFI

UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E VEGETAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE EM FRUTOS DO MAMOEIRO.

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:

Prof(a). Dr(a) Roberto Andreani Junior (Presidente)

Prof(a). Dr(a). Denise Regina da Costa Aguiar

Prof(a). Dr(a). Anísio Storti

São Paulo, 31de outubro de 2016.

Presidente da Banca Prof(a). Dr(a). Roberto Andreani Junior

Dedico este trabalho...

A Deus

A minha mãe, Eloni Aparecida Fontana, por estar sempre ao meu lado apoiando todas as minhas decisões, por me incentivar a estudar sempre, e nunca desanimar.

A minha avó, Herminia Fontes Fontana (*in memoriam*), por todo amor que ela me ofereceu enquanto estava viva.

Agradeço...

Ao meu querido orientador Prof. Dr. Roberto Andreani Junior e Co-orientadora Prof(a). Dra. Dora Inés Kozusny-Andreani, pela paciência dedicada à minha pessoa e ao meu trabalho.

À Técnica Glisely Andrea Bonfim Santos do Laboratório de Microbiologia, pela dedicação e ajuda.

EFEITO FUNGICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE EM PÓS-COLHEITA DE FRUTOS DE MAMÃO

RESUMO

O fungo *Colletotrichumgloesporioides* é responsável por doenças de pós-colheita. O uso excessivo de antifúngicos sintéticos para o controle deste fitopatógeno induziu ao surgimento de populações resistentes e diminuiu a variedade de fungicidas que poderiam ser utilizados. Em contrapartida, pesquisas apontam a possibilidade de utilização de plantas medicinais por apresentarem alto potencial de controle alternativo desse fungo. O presente trabalho objetivou avaliar o efeito *in vitro e in vivo* de óleos essências sobre o fungo *Colletotrichumgloesporioides*. Foram utilizados os óleos essenciais de artemísia, orégano, citronela, canela, menta, cravo-da-índia, eucalipto citriodora, melaleuca, alecrim, sálvia, cânfora e o óleo vegetal de copaíba, nas concentrações 0,39%, 0,78%, 1,56%, 3,12%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50% e 100%. Foi determinada a concentração inibitória mínima e a concentração fungicida mínima dos óleos sobre a linhagem padrão de *Colletotrichumgloesporioides*. Foram selecionados seis óleos essenciais para se testar a eficácia, e verificou-se que, para os óleos de orégano (99,9%), canela (95,9%), citronela (97,9) e menta (96,0%), foi necessário apenas 10 minutos para exterminar a carga microbiana. A pesquisa *in vivo* foi realizada em frutos de mamão (*Caricapapaya* L.) inoculados com o fungo, tratados por imersão e fumigação com o óleo essencial de orégano nas concentrações 0,0%, 0,78%, 1,56% e 3,12% e com o fungicida Frexus®CH a 25 ppm e 30ppm. Quanto a severidade o fungicida Frexus®CH por imersão a 30 ppm e por fumigação a 25 ppm tiveram bons resultados e o óleo essencial de orégano apresentou melhor resultado pelo processo de imersão na concentração de 0,78%. Na aparência, os frutos de mamão que obtiveram melhor resultado foram aqueles submetidos ao processo de fumigação na concentração de 0,78% e 1,56% com o óleo essencial de orégano, juntamente com aqueles imersos no produto comercial Frexus 30ppm e nos fumigados pelo produto Frexus a 30 ppm. Conclui-se que esses óleos essenciais em concentrações diferentes tiveram efeito antifúngico sobre a antracnose, mas tal efeito depende das concentrações de cada óleo empregadas.

Palavras-chave: Plantas medicinais. *Colletotrichumgloesporioides*. Açãoantifúngica. *Carica papaya.*

FUNGICIDAL EFFECT OF ESSENTIAL OILS IN CONTROLLING ANTHRACNOSE IN PAPAYA FRUIT POSTHARVEST

ABSTRACT

Colletotrichumgloesporioides is responsible for postharvest diseases.In contrast researches point to the possibility of use of medicinal plants for their high potential for alternative control of this fungus.The research was carried out on papaya fruits inoculated with fungus, treated by immersion and fuming with the essential oil of oregano at concentrations of 0.0%, 0.78%, 1.56% and 3.12% and with the fungicide Frexus® CH, 25 ppm and 30 ppm. Regarding the severity of the fungicide Frexus®CH by immersion at 30 ppm and by fumigation at 25 ppm had good results, the oregano essential oil presented better result by the immersion process at the concentration of 0.78%. In appearance, the papaya that obtained the best result was by the fumigation process at the concentration of 0.78% and 1.56% with the oregano essential oil, together with the Frexus immersion 30ppm and fumigation of Frexus at 30 ppm. This work aimed to evaluate the in vitro effect of essence oils on *Colletotrichumgloesporioides*. They were used essential oils of Artemisia, oregano, lemongrass, cinnamon, mint, clove, eucalyptus citriodora, melaleuca, rosemary, sage, camphor and vegetable oil of copaiba at concentrations0.39%, 0.78 %, 1.56%, 3.12%, 6.25%, 12.5%, 25%, 50% and 100%. They determined the minimum inhibitory concentration and minimum fungicidal concentration of oils about the standard strain *Colletotrichumgloesporioides*.Six essential oils were selected to test their efficacy, and it was found that oregano oil (99.9%), cinnamon (95.9%), citronella (97.9) and mint (96.0%) took only 10 minutes to kill the microbial load, while cloves (98.1%) took 20 minutes of exposure. For Artemisia (95.4%), microbial load was not observed in 30 minutes. It was possible to conclude that these essential oils in different concentrations had antifungal effect on anthracnose, but that effect depends on the employed concentration of each oil.

Key words: Medicinal plants. *Colletotrichumgloeosporioides*. *Caricapapaya*. Essentialoils

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Comportamento da contagem microbiana de acordo com as concentrações avaliadas dos óleos essenciais mais eficazes. 27
Figura 2 – Comportamento da contagem microbiana de acordo com as concentrações avaliadas dos óleos essenciais mais eficazes, excluindo a concentração inicial de 0,0%.....28
Figura 3 – Comportamento da contagem microbiana de acordo com as concentrações avaliadas dos óleos essenciais menos eficazes. 28
Figura 4 – Comportamento da contagem microbiana de acordo com as concentrações avaliadas dos óleos essenciais mais eficazes, excluindo as concentrações de 0,0% e 0,39%.....29
Figura 5 – Contagem microbiana dos óleos essenciais com efeito antimicrobiano intermediário (mais eficazes).....30
Figura 6 – Contagem microbiana dos óleos essenciais com efeito antimicrobiano intermediário (mais eficazes), excluindo a concentração de 0,0%. 30
Figura 7 – Contagem microbiana dos óleos essenciais com efeito antimicrobiano intermediário (menos eficazes). 31
Figura 8 – Contagem microbiana dos óleos essenciais com efeito antimicrobiano intermediário (menos eficazes), excluindo a concentração de 0,0%.....31
Figura 9 – Variação percentual da contagem microbiana dos óleos essenciais estudados. Pontos azuis referem-se à media e pontos vermelhos, à mediana.....33
Figura 10 – Variação percentual da contagem microbiana dos óleos essenciais estudados.....34
Figura 11 – Variação da contagem microbiana para os óleos essenciais mais eficazes. 35
Figura 12 – Variação da contagem microbiana para os óleos essenciais menos eficazes. 36
Figura 13 –Variação da contagem microbiana para os óleos essenciais de eficácia intermediária.....37
Figura 14 – Escala de notas da aparência dos frutos de Carica papaya da cultivar Sunrise solo inoculados com Colletotrichum gloeosporioides, tratados por imersão e por fumigação com óleo essencial de orégano nas concentrações 0%, 0,78%, 1,56% e 3,12%, e com o fungicida Frexus®CH, 25ppm e 30ppm.....38

Figura 15 – Escala de notas da severidade da antracnose em frutos de Carica papaya da cultivar Sunrise solo inoculados com Colletotrichum gloeosporioides, tratados por imersão e por fumigação com óleo essencial de orégano nas concentrações 0%, 0,78%, 1,56% e 3,12%, e com o fungicida Frexus®CH, 25ppm e 30ppm. 39
Figura 16 – Severidade da antracnose (nota 5) em fruto de Carica papaya da cultivar Sunrise solo inoculado com Colletotrichum gloeosporioides, testemunha sem tratamento. 40
Figura 17 – Severidade da antracnose em frutos de Carica papaya da cultivar Sunrise solo inoculados com Colletotrichum gloeosporioides, tratados por imersão com óleo essencial de orégano nas concentrações 0,78%, 1,56% e 3,12%.....40
Figura 18 – Severidade da antracnose em frutos de Carica papaya da cultivar Sunrise solo inoculados com Colletotrichum gloeosporioides, tratados por imersão e por fumigação com o fungicida Frexus®CH, 25ppm e 30ppm. 41
Figura 19 – Severidade da antracnose em frutos de Carica papaya da cultivar Sunrise solo inoculados com Colletotrichum gloeosporioides, tratados por fumigação com óleo essencial de orégano nas concentrações 1,56% e 3,12%.....41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Médias da contagem microbiana para cada uma das concentrações avaliadas 26
Tabela 2: Estatísticas descritivas da variação percentual (%) da contagem microbiana em relação aos extratos vegetais avaliados 32

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13
1.1 Objetivo geral 14
1.2 Objetivos específicos 14
2 REVISÃO DE LITERATURA 15
2.1 A antracnose (Colletotrichum gloesporioides) 15
2.2 A espécie *Carica papaya* L 16
2.3 Controle com óleos essenciais 18
3 MATERIAL E MÉTODOS 19
3.1 Linhagem e cultivo 19
3.2 Óleos essenciais e vegetais 19
3.3 Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica dos óleos 20
3.3.1 Análise dos dados 21
3.4 Avaliação *in vivo* da atividade antifúngica do óleo essencial de orégano 21
4 RESULTADOS 25
4.1 Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica dos óleos 25
4.2 Avaliação *in vivo* da atividade antifúngica do óleo essencial de orégano 37
5 DISCUSSÕES 42
6 CONCLUSÃO 45
REFERÊNCIAS 46

1 INTRODUÇÃO

As frutas frescas no Brasil, destinadas à exportação, correspondem apenas a 1% da produção nacional, enquanto 18% são pelo Mercosul e 63%, pela Europa. O mercado internacional, controlado por barreiras fitossanitárias, tem uma grande exigência para a importação, pois muitos produtos apresentam um baixo padrão de qualidade devido à grande quantidade de agrotóxicos e deficiências de tecnologias na pós-colheita (ALMEIDA, 2002).

A produção de frutas, atualmente, está baseada em três pontos fundamentais: produzir com qualidade, quantidade e preços competitivos. Os novos consumidores procuram, cada vez mais, produtos com pouco ou nenhum agrotóxico, o que torna o mercado altamente competitivo (ALVARENGA; SOUZA, 1997).

As grandes quantidades de agrotóxicos provocam o acúmulo de substâncias nocivas no solo e na água e levam ao surgimento de populações de fitopatógenos resistentes aos compostos químicos e à instabilidade do ambiente, ocasionada pela falta de seleção dos produtos utilizados (CAMPANHOLA; BETIOL, 2003).

As doenças pós-colheita são caracterizados por perdas decorrentes em sua maioria do fungo *Colletotrichumgloesporioides*, causando, em geral, sintomas semelhantes, como as podridões de frutos em pós-colheita. Muitas vezes, essas perdas são maiores que 50%, antes mesmo da chegada do alimento à mesa do consumidor (TAVARES, 2004).

A grande quantidade do fungo da antracnose é observada em locais de destino da comercialização de hortaliças e frutas. O controle químico, com frequência, é utilizado como medida eficiente e economicamente viável, porém, ocorre de forma exagerada e, por isso, oferece risco à saúde da população (KIMATI, 1995).

Vários fungos causadores de doenças em frutos já adquiriram resistência aos fungicidas, o que faz requerer a necessidade do desenvolvimento de pesquisas com técnicas alternativas para o controle de doenças pós-colheitas (ZAMBOLIM et al., 2002).

Como os defensivos químicos, pela presença de resíduos tóxicos, representam um sério risco à saúde pública e ao meio ambiente e, por isso, exigem que se espere um tempo para o consumo das frutas que sofreram a aplicação de

tais produtos (OLIVEIRA; SANTOS FILHO et al., 2000), há um aumento da utilização de outros produtos que atuam como fungicidas, sem serem de origem química, como é o caso dos óleos essenciais.

A aplicação de óleos essenciais, como a artemísia, cravo-da-ìndia, entre outras, vem sendo estudada, demonstrando que são uma alternativa eficiente e mais barata para as doenças causadas pelo fungo *Colletotrichumgloesporioides*na pós-colheita de frutos e vegetais (SIQUEIRA; MORAES; MARTINS, 2011).

1.1 Objetivo geral

Verificar o efeito antifúngico de diferentes óleos essenciais no controle do fungo da antracnose *Colletotrichumgloesporioides* em pós-colheita.

1.2 Objetivos específicos

-Avaliar *in vitro* as concentrações inibitórias mínimas (CIM) dos óleos;
-Avaliar *in vitro* a concentração fungicida mínima (CFM) dos óleos;
-Avaliar *in vivo* o crescimento fúngico em função do tempo através do teste de sobrevivência pelos métodos de fumigação e imersão.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A antracnose (*Colletotrichumgloesporioides*)

A antracnose é uma doença causada pelo fungo *Colletotrichumgloesporioides.* É a doença que mais incide sobre frutos maduros em regiões produtoras do mundo. Quando o fruto é atacado por esse fungo, torna-se inadequado para a comercialização e consumo. Ainda que não se manifestem sintomas na fruta na colheita, ela irá manifestar-se posteriormente, na fase de embalagem, transporte, amadurecimento e comercialização, causando grandes perdas (ALVARENGA; SOUZA, 1997).

O gênero *Colletotrichum* existe em várias espécies para determinar grupos de hospedeiros. A espécie *C. gloeosporioides* é encontrada no mamão, manga, abacate, mas também pode ser encontrada em hortaliças da família das solanáceas (KUROZAWA; PAVAN, 1997).

Esses parasitas de plantas ou saprófitas de matéria orgânica pertencem ao reino *Fungi* e à divisão *Eumycota*, com a seguinte classificação:

Espécie: *Glomerellacingulata*
Gênero: *Glomerella*
Família: *Gnomoniaceae*
Ordem: *Sphaeriales*
Classe: *Pyrenomycetes*
Subdivisão: *Ascomycotina*
Espécie: *Colletotrichumgloeosporioides*
Gênero: *Colletotrichum*
Família: *Melanconiaceae*
Ordem: *Melanconiales*
Classe: *Coleomycetes*
Subdivisão*: Deuteromycotina*

Em todos os fungos da subdivisão *Ascomycotina*, a reprodução ocorre por esporos endógenos, que têm origem no interior de cascas sendo formados por 12 esporos de ramificações de micélio no interior de corpos frutíferos, chamados de acérvulos. Os conídeos nos acérvulos envolvem-se em uma mucilagem formada de polissacarídeos e proteínas solúveis em água, protegendo-a da dessecação e

aumentando sua efetividade na germinação e penetração do tecido hospedeiro (PERFECT et al., 2000).

Cada micro-organismo possui sua técnica de avaliação e por esse motivo, não existe qualquer padronização quanto ao tempo de coleta, origem das espécies e cepas utilizadas. A maioria dessas avaliações é realizada pelo processo de microdiluição (OSTROSKY et al., 2008).

A taxonomia do *Colletotrichum* é caracterizada pelo tamanho e forma dos conídeos e o formato dos apressórios (SUTTON, 1992). Graças a essa diferenciação, existem três grupos de *Colletotrichum*, agregados à queda prematura dos frutos: o grupo KLA (*C. acutatum)*, com apressórios arredondados e conídeos de dimensões intermediárias; o grupo SGO (*C. acutatum*), com apressórios de formato clavado e conídeos de menores dimensões; e o grupo FGG (*C. Gloeosporoides*), com apressórios de formato predominante lobulado e conídeos de maiores dimensões (GOES; KIMATI, 1997).

Entretanto, esse critério morfológico pode não ser suficiente para caracterizá-lo, então, criam-se maneiras distintas de se identificar o *C.gloeosporioide*se o*C.acutatum*, através das diferenças de temperatura, em que o *C.gloeosporioides* isolado de plantas cítricas e mamão obteve 30ºC como temperatura ótima, enquanto o*C.acutatum* do morango e pêssego obteve um ótimo crescimento micelial em temperatura de 25ºC (SMITH; BLACK, 1990). Ainda no campo, esses fungos são capazes de infectar o mamão e permanecer sob estado de quiescência da cutícula, sem o aparecimento de sintomas, até que haja condições para o seu desenvolvimento (KUO, 1999).

2.2 A espécie *Caricapapaya* L.

O mamoeiro (*Caricapapaya*L.)é nativo da América tropical, sendo uma planta herbácea, que pertence à classe *Eudycotyledoneae*, ordem *Vidales*, família *Caricaceae*, com seis gêneros e 35 espécies, das quais 32 são dióicas, 2 trióicas e uma monóica (MARIN; GOMES, 1986).

O Brasil é o principal produtor de mamão. Juntamente com o México e a Malásia, encontram-se entre os principais exportadores, com ênfase na Europa. Entretanto, o mercado brasileiro consome quase 98% do volume produzido (TAVARES, 2004).

Por ser uma cultura que ocorre o ano todo, cuja renovação se faz em média um ano e meio após o plantio, é responsável por gerar emprego e renda, absorvendo muitos empregados na lavoura, o que caracteriza sua importância social e econômica(TESKE; TRENTINI, 1997).

No desenvolvimento dos frutos e após sua colheita, a resistência natural diminui e gera resultados que irão causar processos infecciosos e doenças. Nos frutos, as doenças pós-colheita causadas por fungos usualmente vêm de infecções quiescentes, provenientes do campo ou de infecções por ferimentos provocados pelo manuseio e colheita. Na planta, em períodos de suscetibilidade, ocorre um aumento da proteção de tecidos através de resistência induzida ou adquirida, cujos mecanismos de resistência são ativados (ALVAREZ; NISHIJIMA,1987).

Existem mecanismos diversos que são utilizados no tratamento da antracnose no mamão, que podem ser: meios bióticos (*Sacchamory, Bacilusthuringiensis, Lentinulaedodes*etc.*)* emeios abióticos (óleos essenciais, UV-A, irradiação gama, quitosana, ácidos acéticos e salicílicos etc.).

Indícios de que a cultura de mamão está sendo prejudicada é a podridão, causada pela antracnose (*Colletotrichum gloeosporióides)*. Visando a uma diminuição dessa podridão, é empregado um tratamento térmico, a 49ºC, por 20 minutos. É considerada a principal doença de frutas no Brasil (TAVARES, 2004).

Os sintomas nos frutos ocorrem graças à depressão circular de diâmetro variável e sobrevêm pela alta umidade, com uma massa alaranjada de esporos em seu centro. Em clima ameno a quente e épocas chuvosas, quando não há o controle correto, o prejuízo pode chegar a 100% (KUROZAWA; PAVAN, 1997).

Diante de infecção latente, os sintomas só aparecem após a colheita e o transporte dos frutos, podendo causar grandes danos aos consumidores e comerciantes.

O tempo de desenvolvimento do mamão é de cinco a seis meses, e fica a maior parte desse tempo suscetível à contaminação do fungo (DICKMAN; ALVAREZ, 2011).

A pulverização de fungicidas é feita de maneira efetiva, e são ministrados a partir de seis a oito meses após o plantio, com quatorze a trinta dias em épocas secas e intervalos de sete a quatorze dias em épocas chuvosas (ALVAREZ; NISHIJIMA, 1987).

2.3. Controle com óleos essenciais

As plantas medicinais que podem ter uma ou mais formas de potencial de controle alternativo para doenças em plantas cultivadas permitem a exploração de compostos secundários biológicos presentes no óleo essencial ou no extrato bruto (STANGARLIN et al, 2000).

Toda imunidade adquirida ou indução de proteção refere a ativação de mecanismos de defesa existentes nas plantas em resposta ao tratamento com agentes abióticos ou bióticos (MENEZES,2002).

Os vegetais necessitam de 14 compostos diferentes necessários para a sua preservação e sobrevivência, que podem agir como toxinas ou alimentos e são adquiridos no metabolismo vegetal, chamados de macromoléculas (glicídios, proteídeos e lipídeos), essenciais a todos os seres vivos(DICKMAN; ALVAREZ, 2011).

Há compostos orgânicos naturais de origem vegetal que têm funções diferentes, tais como: analgésica, anti-inflamatória, citotóxica, anticoncepcional, antimicrobiana, antiviral, fungicida, inseticida, tranquilizante, entre outras (PLETSCH, 2002). Teske e Trentini(1997) afirmam que a concentração de princípios ativos não é uniforme durante o ciclo de vida da planta, que pode variar de acordo com a colheita, preparação e o habitat. Os principais compostos encontrados nas plantações são: alcaloides, taninos, flavonoides, óleos essenciais, mucilagens, saponinas e ácidos orgânicos.

Extratos brutos e óleos essenciais, que são extraídos da natureza, têm indicado um ótimo meio de controle de fitopatógenos, na sua ação fungitóxica, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos(STANGARLIN et al., 2000).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Linhagem e cultivo

Foi utilizada a linhagem padrão de *Colletotrichumgloeosporioides (Glomerellacingulata)* (Stoneman, Spauld. e v. Schrenk, CCT 5177, adquirida na Fundação André Tosello, Campinas-SP). A linhagem foi cultivada por sete dias em meio ágar batata dextrose (BDA, Himedia®), em aerobiose, a 35º C.

Para o preparo do inóculo, a ser empregado para a determinação da concentração inibitória mínima, culturas de sete dias em meio ágar batata dextrose (BDA, Himedia®) foram transferidas para meio triptecaseinabroth (Oxoid®) e incubadas a 35ºC por sete dias, quando se procedeu á centrifugação (4,000 rpm) por cinco minutos. Em seguida, o sobrenadante foi desprezado e o material precipitado foiressuspendido em solução estéril de NaCl (0,5%) e, novamente, submetido à centrifugação. Esse procedimento foi repetido cinco vezes com a finalidade de retirar os componentes do meio de cultura.

3.2 Óleos essenciais e vegetais

Foram utilizados os óleos essenciais de artemísia (*Artemisiavulgaris)*, de orégano (*Origanumvulgare*L.), de citronela (*Cymbopogonwinterianus*Jowitt-Família Poaceae), de canela (*Cinnamomumzeylanicum*Breyn-Família Lauraceae), de menta (*Menthapiperita* L.-Família *Lamiaceae*), de cravo-da-índia (*Syzygiumaromaticum* L.) Merr. & L. M. Perry-Família *Myrtaceae*), de eucalipto citriodora (*Eucalyptuscitriodora*), de melaleuca (*Melaleucaalternifolia*Cheel - Família *Myrtaceae*), de alecrim (*Rosmarinusofficinalis*), de salvia (*Salviaofficinalis* – Família *Lamiaceae*) e de cânfora (*Cinnamomumcamphora* - Família *Lamiaceae*) e o óleo vegetal de copaíba (*Copaiferalangsdorfii*Desf.- Familia*Fabaceae* - Família *Lamiaceae*),adquiridos naFerquima Indústria Comércio Ltda.

Os óleos apresentavam registro no Chemical Abstract Service (CAS) sob os números: artemísia CAS 84775-45-1, orégano CAS 84012-24-8, citronela CAS 8000-29-1, canela CAS 84961-46-6, menta CAS 84082-70-2, cravo-da-india CAS 8015-97-2, eucalipto citriodora CAS 92502-70-0, melaleuca CAS 68647-73-4, alecrim CASn8008-45-5 e copaíba CAS8001-61-4.

As concentrações utilizadas variaram de 0,0% 0,39%, 0,78%, 1,56%, 3,12%, 6,25%, 12,50%, 25,00%, 50,00%, 100,00%, e o controlenegativo (OGBEBOR; ADEKUNLE; ENOBAKHARE, 2007). A atividade antifúngica foi avaliada pelo método de microdiluição em placa de 96 poços, seguindo os protocolos do ClinicalLaboratory Standard Institute (CLSI, 2008).

3.3 Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica dos óleos

A concentração inibitória mínima (CIM) dos óleos essenciais foi determinada seguindo os protocolos doCLSI (2008), utilizando-se o método de microdiluição em placas. Após incubação a 37ºC por cinco dias, a CIM foi avaliada, e a presença de células fúngicas viáveis nas concentrações não inibitórias foi determinada pela adição, em cada amostra, do corante 2,3,5 -Triphenyltetrazolium Chloride, no volume de 50 µL. Isto tornou possível distinguir as amostras vivas, coloridas de vermelho, daquelas mortas, que mantiveram a sua cor. A concentração inibitória mínima foi considerada como a menor concentração de óleo essencial capaz de inibir o desenvolvimento fúngico (TAVARES, 2004).

A concentração fungicida mínima (CFM) foi determinada após a obtenção dos resultados da concentração inibitória mínima. As placas de microdiluiçãoque continham poços com crescimentos visíveis ou não foram agitadas vigorosamente com o auxílio do micropipetador e, em seguida, 100µL da solução de cada poço foram transferidos para placas de Petri contendo meio ágar batata dextrose e incubados a 37ºC por sete dias, com avalição foi periódica. Designou-se como concentração fungicida mínima a concentração mínima em que não ocorreu crescimento fúngico (MENEZES,2002).

Uma vez determinada a concentração inibitória mínima e a concentração fungicida mínima, as mesmas foram utilizadas para avaliar o crescimento fúngico na presença dos óleos em função do tempo, determinando-se curva de sobrevivência de acordo com a metodologia descrita por Sforcin, Fernandes e Lopes (2000). Os ensaios foram desenvolvidos em triplicata.

Testes de contagem microbiana foram realizados seguindo percentuais de cada período avaliado. Toda a contagem teve como parâmetro a variação de 0 a 100 minutos com intervalos de 10 minutos, realizada através da avaliação da eficácia do antimicrobiano dos óleos essenciais.

Para a avaliação da eficácia do efeito antimicrobiano de cada um dos óleos essenciais, um estudo sobre a variação da carga microbiana foi realizado a fim de observar qual óleo essencial apresentou a maior variação negativa (queda) na contagem microbiana. Nesse contexto, a variação percentual da contagem microbiana consistiu da seguinte relação:

$$Contagem\ microbiana_{óleo\ essencial}(\%) = \frac{(Contagem_{0{,}39\%} - Contagem_{0{,}0\%})}{Contagem_{0{,}0\%}} \times 100$$

Essa relação foi empregada para todos os óleos essenciais avaliados e para todas as concentrações empregadas. De acordo com a expressão acima, variações negativas mostram diminuição na contagem microbiana e variações positivas mostram aumento da contagem microbiana à medida que a concentração do respectivo óleo essencial aumenta.

3.3.1 Análise dos dados

Os dados foram avaliados pela análise descritiva da contagem microbiana de acordo com as variadas concentrações dos diferentes óleos utilizados.

Foi realizada uma abordagem dos dados de contagem microbiana por meio de gráficos de linha a fim de observar a evolução da contagem microbiana com o aumento da concentração do óleo essencial.

Para a comparação da variação da contagem microbiana, foi empregado o Teste de Kruskal-Wallis e gráficos de linha para a visualização da evolução da variação da contagem microbiana em relação às concentrações de cada um dos óleos utilizados.

Todos os testes estatísticos foram aplicados com nível de significância de 5% ($P<0{,}05$), e o *software* utilizado foi Minitab 17 (Minitab Inc.).

3.4 Avaliação *in vivo* da atividade antifúngica do óleo essencial de orégano

Os critérios estabelecidos na escolha do óleo essencial para avaliação *in vivo* foram em função dos resultados obtidos no experimento *in vitro*: maior atividade antifúngica em concentrações baixas, levando em consideração que altas

concentrações podem interferir no sabor do fruto, assim como elevar o custo do tratamento pós-colheita. O óleo essencial de orégano foi escolhido, pois apresentou essas características.

Os frutos do mamão da cultivar Sunrise Solo foram obtidos diretamente do produtor, na fazenda Água Vermelha, situada na cidade de Santa Isabel – SP, onde são seguidas todas as práticas de manejo de acordo com o padrão comercial. Na colheita, os frutos foram selecionados de maneira uniforme quanto ao tamanho, a cor (50% cor amarela) e sem tratamento pós-colheita. Utilizaram-se caixas próprias para transporte e comercialização dos frutos.

Os frutos, inicialmente, foram submetidos à sanitização, pela lavagem com detergente neutro e hipoclorito de sódio (1,0%) por três minutos (DEMARTELAERE et al., 2015). Após cada tratamento, foram enxaguados com água deionizada estéril por quatro vezes com o objetivo de retirar prováveis resíduos dos produtos químicos utilizados. Em seguida, procedeu-se à secagem dos frutos utilizando papel toalha estéril; foram realizados cinco ferimentos com agulha, empregando-se uma agulha por fruto. A inoculação com *Colletotrichumgloeosporioides* foi realizada sobre os ferimentos pela deposição de 0,1mL de uma suspensão de $1,5x10^6$conidios mL^{-1}. Os frutos foram mantidos por doze horas em câmara úmida.

O tratamento dos frutos com o óleo de orégano nas concentrações 0,78%,1,56% e 3,12%, (diluídos em água destilada estéril + 1mL de *tween* 20) e o fungicida Frexus® CH (à base de oxicloreto de cálcio) na concentração de 25 e 30 ppm, foi realizado doze horas após inoculação. Como controle, empregaram-se frutos tratados com água deionizada estéril. Utilizaram-se os métodos de imersão e fumigação.

Para o tratamento por imersão, os frutos de cada tratamento foram submergidos por um minuto. Após secagem dos frutos em temperatura ambiente, foram mantidos por sete dias em sala de experimentação com temperatura constante de 26ºC, 80% a 85% de umidade relativa e fotoperíodo alternado de 12 horas de luz e 12 horas de escuro (NOZAKI; DETONI; DONADEL, 2013).

O tratamento por fumigação consistiu na utilização de sacos plásticos onde foram depositados os frutos e expostos ás diferentes concentrações de óleos e do fungicida. Os sacos foram fechados por um período de 12 horas, quando se retiraram os frutos que foram transferidos para a sala de experimentação onde permaneceram em bandejas por sete dias. Os frutos controle não foram expostos a

nenhum tratamento, no entanto permaneceram em sacos pelo mesmo período. Utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado com três frutos para cada tratamento.

Realizaram-se avaliações diárias quanto à incidência de *Colletotrichumgloeosporioides*por meio de observação visual das lesões.

A presença ou ausência de *C. gloeosporioides*nos frutos foi verificada pelo cultivo direto em meio BDA, utilizando-se a técnica do “swabtest”. Swabs estéreis umedecidos em solução de NaCl (0,5%) estéril foram passados em ziguezague na superfície dos frutos, sendo utilizados para inoculação de placas de Petri contendo meio BDA, incubadas a 35º C por sete dias, quando foi realizada a identificação pelas características macroscópica e microscópica da colônia utilizando-se o corante azul de algodão (WINN et al., 2008).

No sétimo dia, avaliou-se a aparência externa dos frutos, utilizando a escala de notas subjetivas proposta por Rocha, Machado e Rodrigues(2005) e adaptadas por Demartelaere et al. (2015). Atribuíram-se as seguintes notas: 1- Inaceitável, extremamente deteriorado, perda completa da turgidez e brilho, superfície murcha; 2- Ruim, severamente deteriorado, murcha acentuada, superfície murcha em quase 50% do fruto, sem brilho aparente e perda total do aroma, presença de manchas; 3- Regular, com deterioração média, pouco frescor, ligeira perda da turgidez, perda de brilho, aparência ligeiramente atrativa; 4- Bom, com leve deterioração, produto fresco, túrgido, superfície apresentando brilho pouco intenso e brilhante; e 5- Excelente, ausência de deterioração, produto fresco, túrgido, superfície lisa e brilhante, atrativo. Frutos com notas iguais ou inferiores a 3 foram considerados impróprios para consumo.

Avaliou-se, também, a severidade das lesões, utilizando-se a escala de notas descrita por Nery-Silva et al. (2001), sendo, 1- sem sintomas visíveis de podridão peduncular; 2- presença de pequenas pontuações (até 3 mm) aquosas superficiais na região do pedúnculo; 3- presença de lesões aquosas ou mumificadas, não coalescentes, mais acentuadas, abrangendo maior região em torno do pedúnculo; 4- presença de lesões, mais acentuadas, abrangendo maior região em torno do pedúnculo; e 5- Lesões aquosas ou mumificadas, não coalescentes, abrangendo maior região, descendo pela polpa do fruto, podendo chegar até a cavidade das sementes, podendo, o tecido dessa região, apresentar excessivo amaciamento.

Os resultados obtidos foram avaliados pela análise da variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Foi utilizado o programa SAS® 9.2.

4 RESULTADOS

4.1 Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica dos óleos

Em um primeiro momento, foi realizado um estudo com todos os óleos essenciais com o objetivo de avaliar a concentração mínima inibitória (CMI) e a concentração mínima fungicida (CMF) a fim de caracterizar o potencial de cada um dos óleos avaliados. A Tabela 1 mostra as médias das contagens microbianas para cada um dos óleos essenciais em cada uma das concentrações avaliadas no estudo.

Com os resultados da Tabela 1, foi possível determinar as concentrações fungicidas mínimas para cada um dos óleos essenciais estudados, destacando a forte eficácia dos óleos essenciais de orégano e canela e o fraco efeito antimicrobiano dos óleos essenciais de copaíba, cânfora e sálvia. Os demais óleos essenciais apresentaram efeito antimicrobiano intermediário.

Tabela 1: Médias da contagem microbiana para cada uma das concentrações avaliadas

Óleo essencial	0%	0,39%	0,78%	1,56%	3,12%	6,25%	12,5%	25%	50%	100%	CIM	CMF
Alecrim	$1,0.10^{6}$	$3,3.10^{4}$	$2,6.10^{3}$	$4,9.10^{3}$	$6,0.10^{1}$	$1,4.10^{2}$	$5,6.10^{1}$	0,6	0,0	0,0	50%	25%
Artemísia	$1,0.10^{6}$	$2,3.10^{4}$	$1,3.10^{3}$	$5,6.10^{2}$	$4,5.10^{2}$	$7,3.10^{1}$	1,0	0,0	0,0	0,0	25%	12,5%
Canela	$1,0.10^{6}$	$4,1.10^{4}$	$3,2.10^{3}$	$1,8.10^{3}$	$1,1.10^{1}$	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,25%	3,12%
Cânfora	$1,0.10^{6}$	$5,4.10^{5}$	$3,3.10^{4}$	$2,1.10^{4}$	$3,2.10^{2}$	$1,0.10^{2}$	$4,3.10^{2}$	$3,2.10^{1}$	1,0	0,0	100%	50%
Citronela	$1,0.10^{6}$	$1,5.10^{4}$	$2,6.10^{2}$	$3,6.10^{1}$	$1,0.10^{1}$	0,33	0,0	0,0	0,0	0,0	12,5%	6,25%
Copaíba	$1,0.10^{6}$	$3,6.10^{4}$	$3,6.10^{3}$	$1,1.10^{3}$	$1,0.10^{2}$	$5,5.10^{2}$	$1,2.10^{2}$	$5,0.10^{1}$	1,3	0,0	100%	100%
Cravo	$1,0.10^{6}$	$1,5.10^{4}$	$3,6.10^{2}$	$3,6.10^{2}$	$1,0.10^{2}$	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	12,5%	6,25%
Eucalipto	$1,0.10^{6}$	$1,2.10^{4}$	$1,3.10^{2}$	$4,2.10^{2}$	$1,0.10^{1}$	8,0	1,3	0,0	0,0	0,0	25%	12,5%
Melaleuca	$1,0.10^{6}$	$2,0.10^{5}$	$1,3.10^{3}$	$8,0.10^{2}$	$2,6.10^{1}$	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,5%	6,25%
Menta	$1,0.10^{6}$	$4,6.10^{4}$	$1,3.10^{3}$	$1,3.10^{2}$	$1,1.10^{2}$	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,5%	6,25%
Orégano	$1,0.10^{6}$	$3,0.10^{2}$	$1,0.10^{1}$	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,12%	1,56%
Sálvia	$1,0.10^{6}$	$8,6.10^{5}$	$3,0.10^{4}$	$1,2.10^{4}$	$1,4.10^{2}$	$1,0.10^{2}$	$1,4.10^{2}$	7,0	1,0	0,0	100%	50%

As Figuras 1 e 2 mostram o comportamento das contagens microbianas referentes a cada uma das concentrações utilizadas para os óleos essenciais mais efetivos (orégano e canela). É possível observar que a contagem microbiana com a utilização da concentração de 0,39% surtiu efeitos positivos antimicrobianos, mostrando a real eficácia dos óleos essenciais de orégano e canela. As Figuras 3 e 4 mostram o detalhe do comportamento da contagem microbiana para os óleos essenciais menos eficazes: sálvia, copaíba e cânfora. Desses três óleos essenciais, o óleo de copaíba mostrou-se mais eficaz em um primeiro momento, pois diminuiu consideravelmente a carga microbiana, no entanto a contagem de microrganismos se mostrou relativamente constante após a concentração de 0,78% (Figura 4).

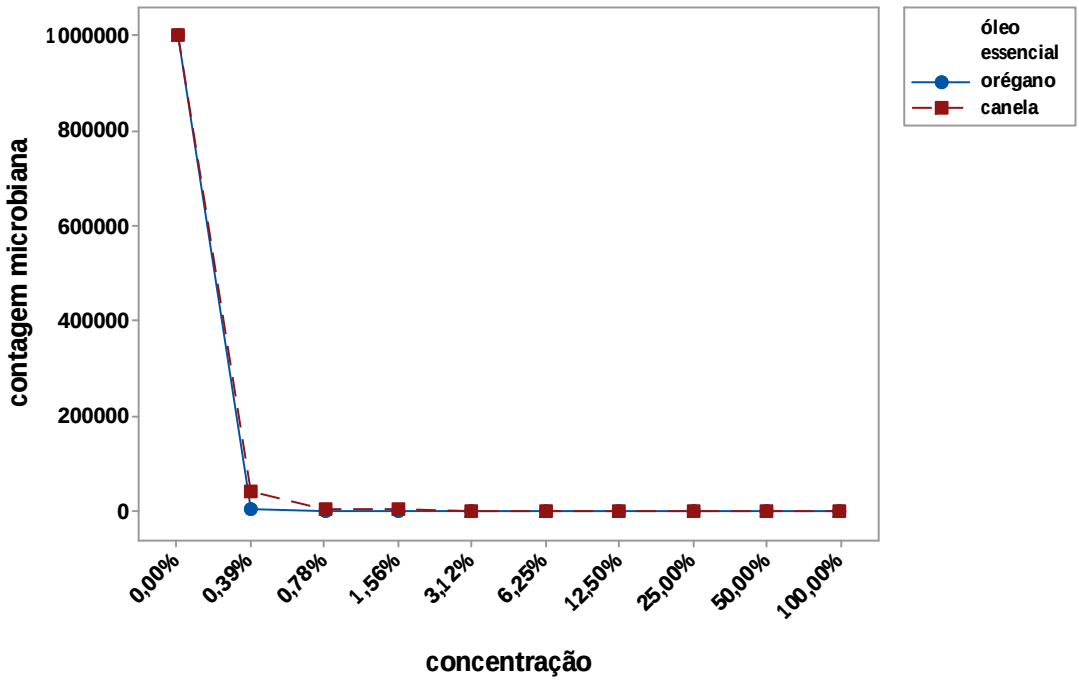

Figura 1– Comportamento da contagem microbiana de acordo com as concentrações avaliadas dos óleos essenciais mais eficazes.

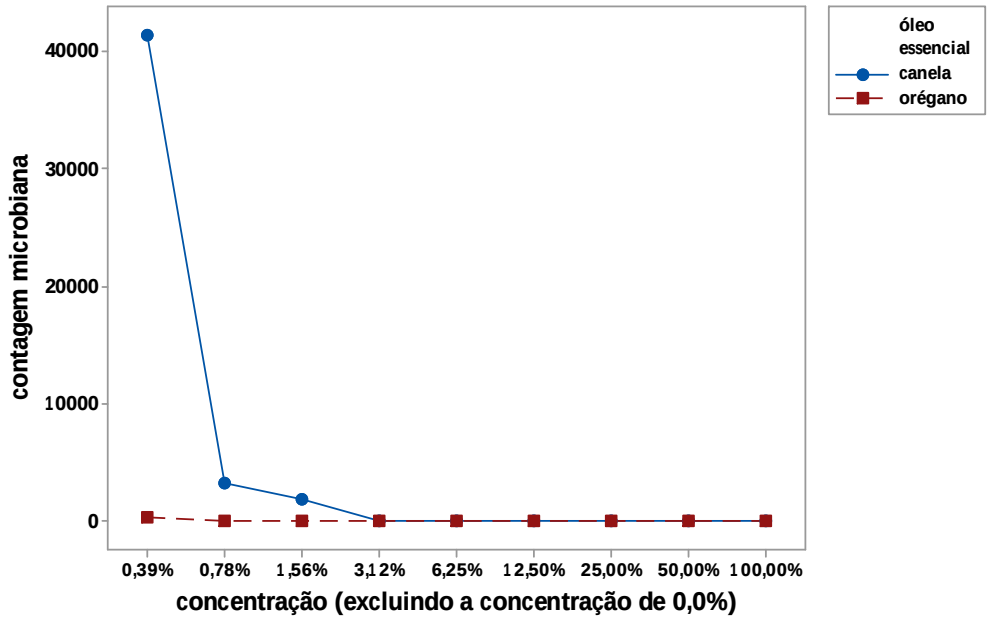

Figura 2 – Comportamento da contagem microbiana de acordo com as concentrações avaliadas dos óleos essenciais mais eficazes, excluindo a concentração inicial de 0,0%.

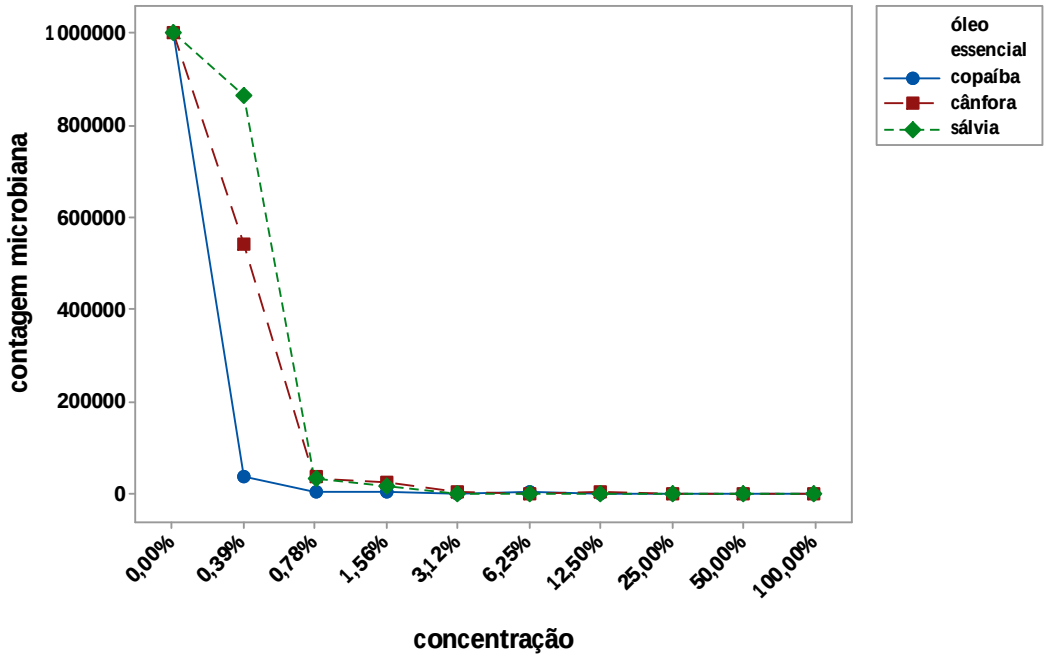

Figura 3 – Comportamento da contagem microbiana de acordo com as concentrações avaliadas dos *óleos essenciais menos eficazes.*

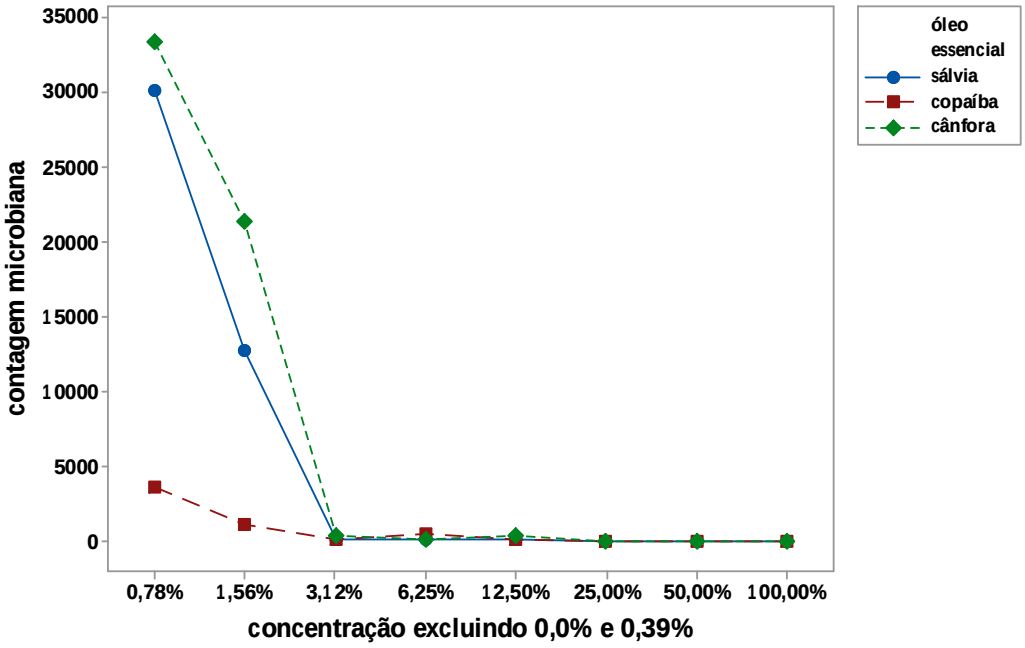

Figura 4 – Comportamento da contagem microbiana de acordo com as concentrações avaliadas dos óleos essenciais mais eficazes, excluindo as concentrações de 0,0% e 0,39%.

No que se refere aos óleos essenciais com efeito antimicrobiano intermediário, foi possível observar maior eficácia dos óleos de citronela, cravo, melaleuca e menta (Figuras 5 e 6) e menor eficácia dos óleos de eucalipto, artemísia e alecrim (Figura 7 e 8).

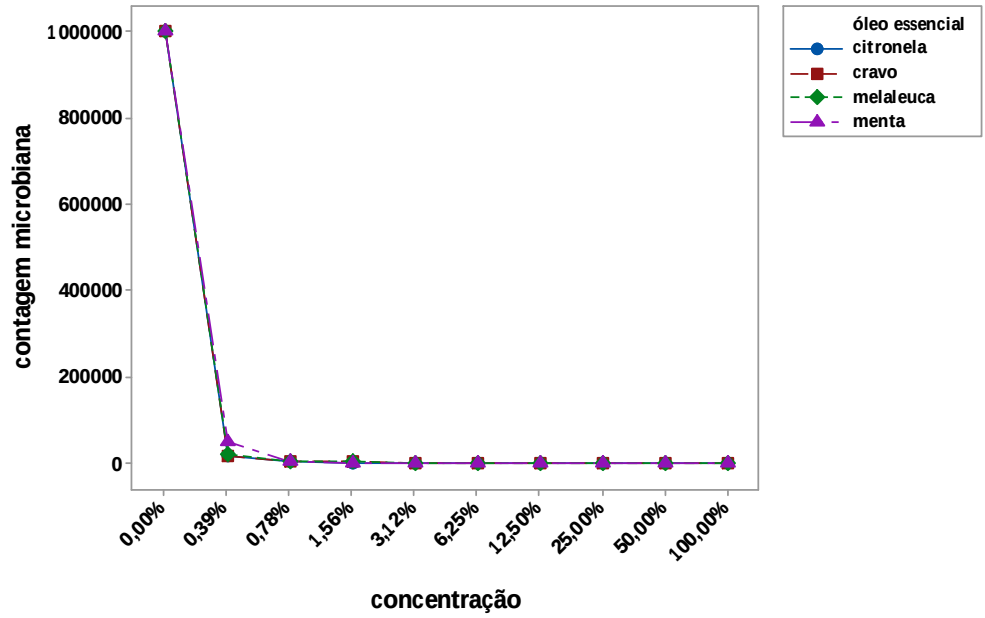

Figura 5 – Contagem microbiana dos óleos essenciais com efeito antimicrobiano intermediário (mais eficazes).

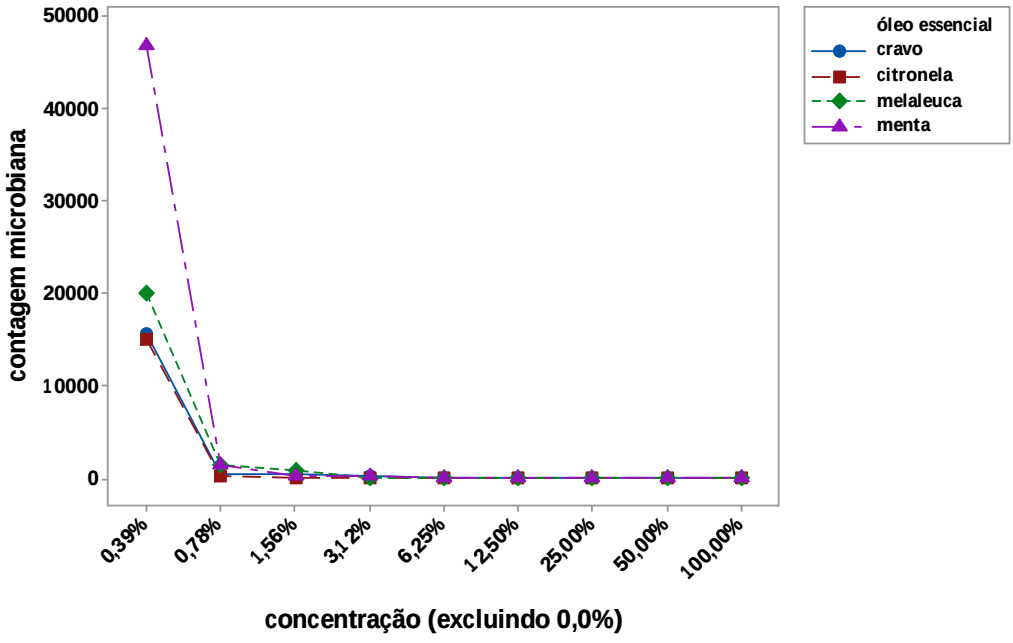

Figura 6 – Contagem microbiana dos óleos essenciais com efeito antimicrobiano intermediário (mais eficazes), excluindo a concentração de 0,0%.

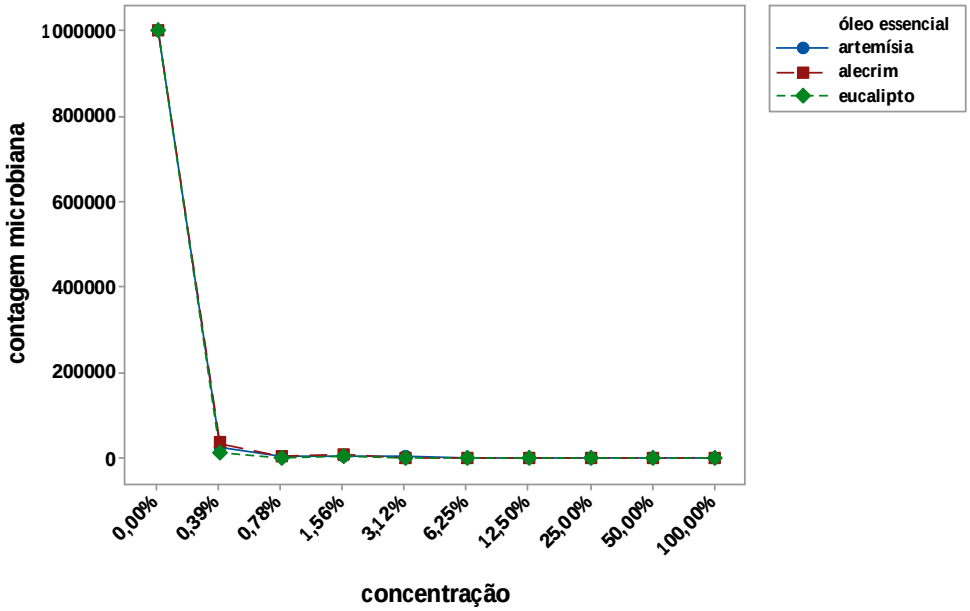

Figura 7 –Contagem microbiana dos óleos essenciais com efeito antimicrobiano intermediário (menos eficazes).

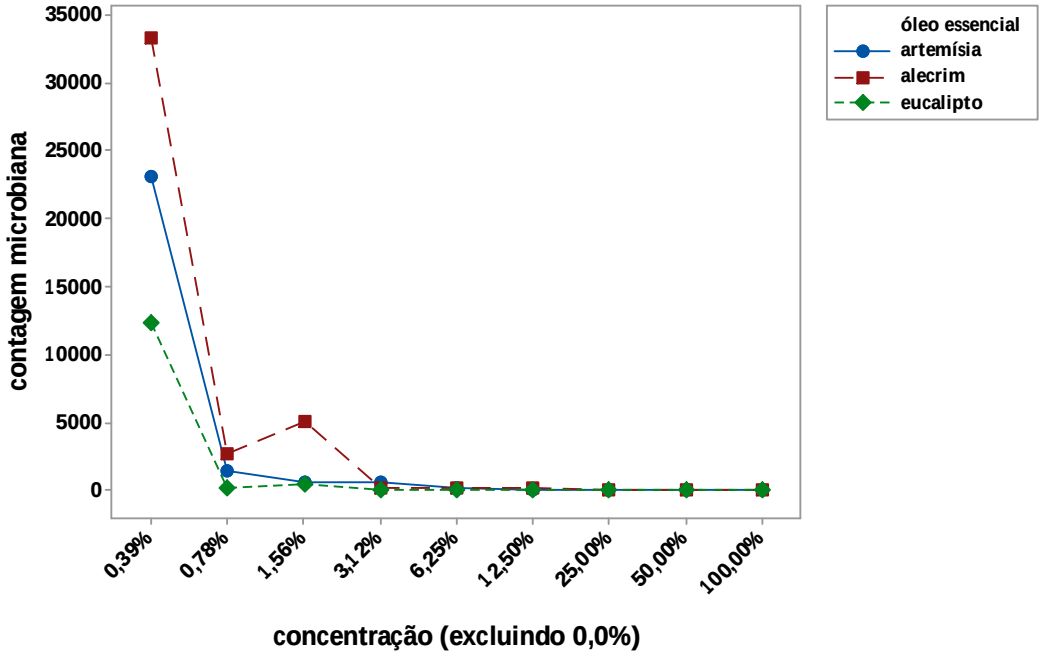

Figura 8 – Contagem microbiana dos óleos essenciais com efeito antimicrobiano intermediário (menos eficazes), excluindo a concentração de 0,0%.

A variação percentual da contagem microbiana foi determinada por meio de estatísticas descritivas (Tabela 2) a fim de observar quais óleos essenciais obtiveram maior eficácia na redução da contagem microbiana.

Tabela 2: Estatísticas descritivas da variação percentual (%) da contagem microbiana em relação aos extratos vegetais avaliados

Óleo essencial	n	Média±DP	Mediana (Md)[2]	Valor P[1]
Alecrim	23	-36,9±94,9	-95,0	
Artemísia	21	-77,8±30,3	-95,4	
Canela	15	-86,2±22,2	-95,9	
Cânfora	27	-33,5±133,1	-92,5	
Citronela	16	-89,7±14,8	-97,9	
Copaíba	27	-25,3±173,0	-90,0	**0,088**
Cravo	18	-77,0±37,9	-98,1	
Eucalipto	21	-35,0±129,8	-97,6	
Melaleuca	18	-86,2±25,7	-96,4	
Menta	18	-81,3±35,6	-96,0	
Orégano	11	-97,2±3,9	-99,9	
Sálvia	27	-56,6±49,3	-90,0	

[1] Valor P referente ao teste de Kruskal-Wallis a P<0,05.

Os resultados das médias das contagens microbianas diferiram significativamente dos resultados das medianas, sendo necessária a aplicação de um teste de comparação não paramétrico baseado na posição das medianas das variações da contagem microbiana. Nesse contexto, os resultados mostraram que não houve diferenças significativas nas variações percentuais da contagem microbiana (P=0,088), pois o valor P resultou superior ao nível de significância adotado para o teste estatístico (P>0,050).

A Figura 9 mostra o comportamento das variações percentuais da contagem microbiana de cada um dos óleos essenciais avaliados.

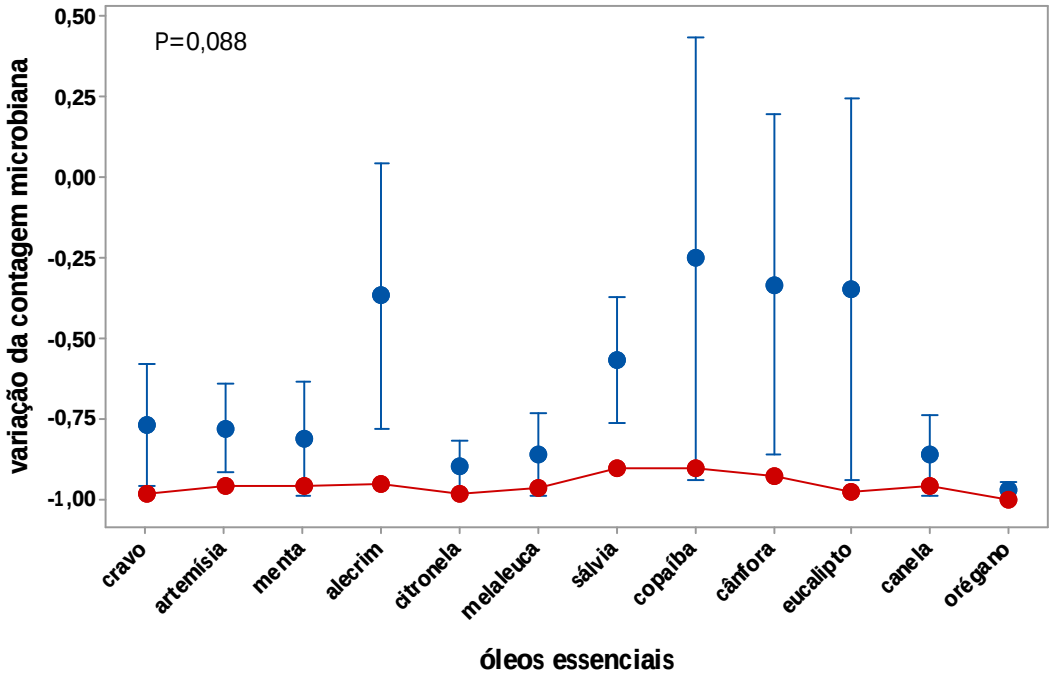

Figura 9 – Variação percentual da contagem microbiana dos óleos essenciais estudados. Pontos azuis referem-se à media e pontos vermelhos, à mediana.

É possível notar que os intervalos de confiança dos óleos de orégano, citronela, canela e melaleuca apresentaram pequena variação quando comparados aos intervalos de confiança da variação da contagem microbiana dos óleos de copaíba, cânfora, eucalipto e alecrim. Esse fato evidencia a necessidade da aplicação de um teste não paramétrico, o qual aborda a comparação entre as medianas das distribuições dos dados, já que essa estatística não é influenciada por valores discrepantes (*outliers*) que, por sua vez, influenciam, de forma significativa, a média da distribuição, impossibilitando a sua aplicação como estatística de teste. Nesse contexto, se um teste paramétrico, que utiliza a média como estatística de teste, fosse empregado, o resultado seria equivocado, pois a dispersão dos dados referentes a alguns óleos essenciais é significativa, influenciando a média da distribuição.

A Figura 10 mostra um apanhado geral das variações da concentração microbiana por óleo essencial avaliado.

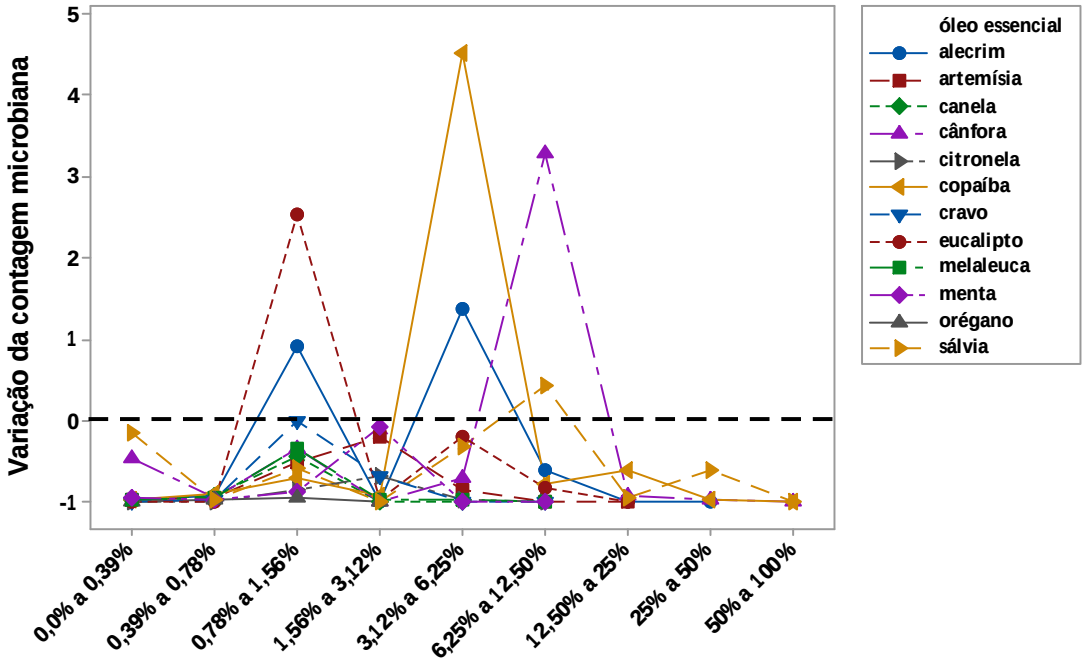

Figura 10– Variação percentual da contagem microbiana dos óleos essenciais estudados.

É possível observar, pelos resultados da Figura 10, que alguns óleos essenciais apresentaram variações positivas, ou seja, em determinadas concentrações ocorreu aumento da contagem microbiana, como é o caso dos óleos essenciais de alecrim e eucalipto (0,78% a 1,56%), alecrim e sálvia (3,12% a 6,25%), cânfora e sálvia (6,25% a 12,5%). A Figura 11 mostra os resultados da variação da contagem microbiana para os óleos essenciais mais eficazes e é possível observar que a variação em todos os casos foi negativa, sendo que a contagem microbiana tornou-se nula a 3,12% e 6,25% para os óleos de orégano e canela, respectivamente, evidenciando a real eficácia desses óleos.

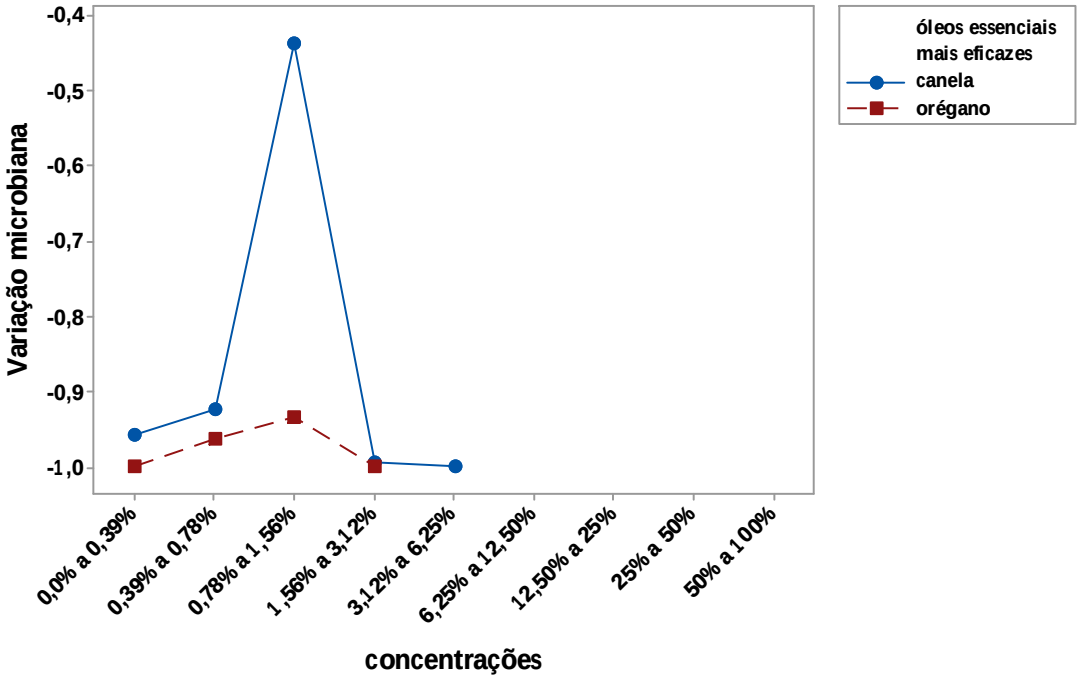

Figura 11 – Variação da contagem microbiana para os óleos essenciais mais eficazes.

Para os óleos essenciais menos eficazes, foi possível observar que, em algumas concentrações, a variação da contagem microbiana foi positiva, resultando no aumento da contagem microbiana, como no caso do óleo de copaíba na variação entre 3,12% a 6,25% e nos casos dos óleos de sálvia e cânfora na variação das concentrações de 6,25% a 12,5%. A Figura 12 mostra que, para esses óleos essenciais, a carga microbiana se tornou nula em altas concentrações, ou seja, acima de 25%, tendo os óleos essenciais de sálvia e cânfora atingido carga microbiana nula somente à concentração de 100%.

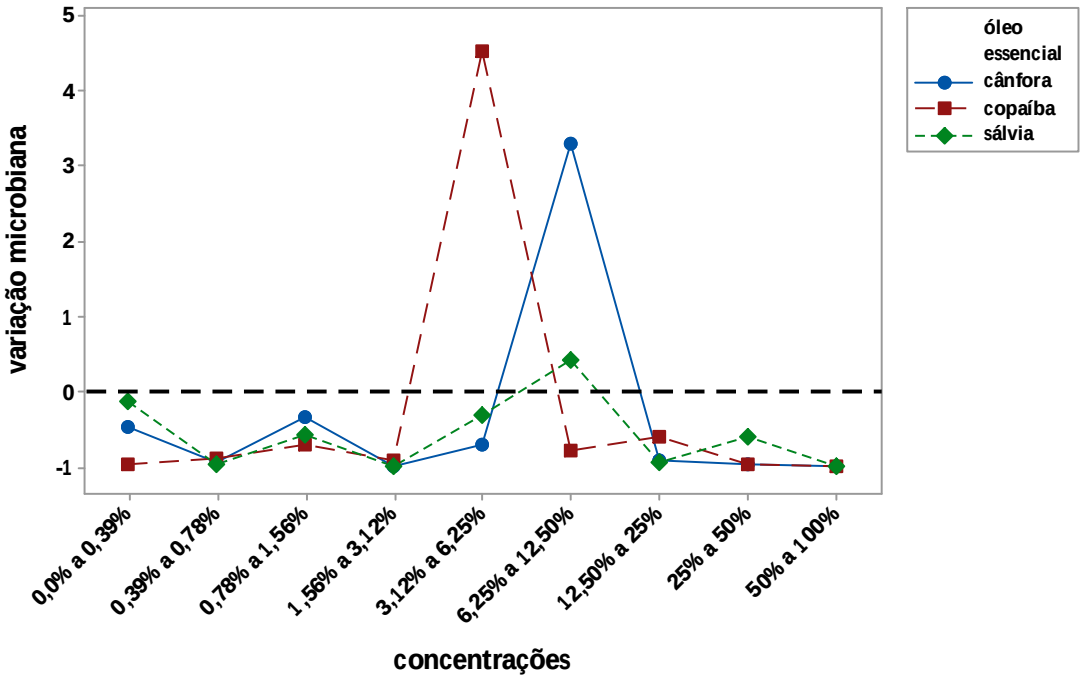

Figura 12 –Variação da contagem microbiana para os óleos essenciais menos eficazes.

Para os óleos essenciais de eficácia intermediária (Figura 13), destacam-se os óleos essenciais de eucalipto e alecrim que apresentaram variação positiva entre as concentrações de 0,78% a 1,56%, tendo o óleo de alecrim apresentado variação positiva para a variação de 3,12% a 6,25%. Esses resultados indicam a dificuldade de ação de esses óleos essenciais diminuírem a carga microbiana, sendo que a maioria deles atingiu concentração de microrganismo nula a 25% de óleo essencial. Contrariando esse último resultado, destaca-se o óleo de alecrim, que atingiu concentração nula de microrganismo somente à concentração de 50%.

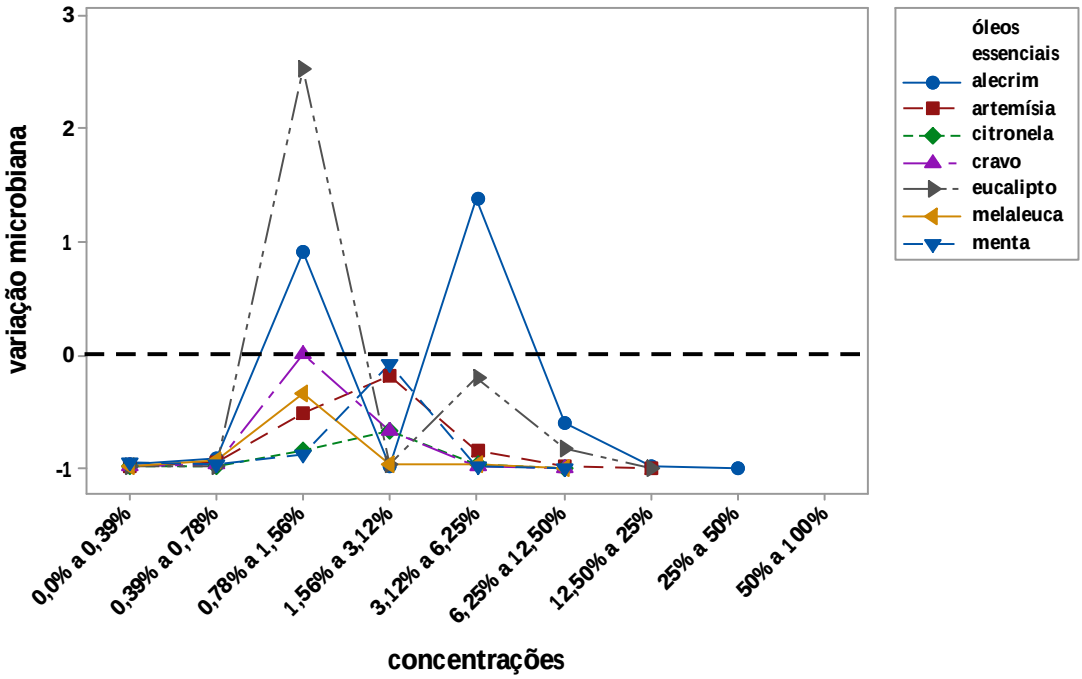

Figura 13 –Variação da contagem microbiana para os óleos essenciais de eficácia intermediária.

4.2Avaliação*in vivo* da atividade antifúngica do óleo essencial de orégano

Os frutos de mamão inoculados com *Colletotrichumgloeosporioides*e tratados por imersão e por fumigação com óleo essencial de orégano nas concentrações 0,0%, 0,78%, 1,56% e 3,12%, e com o fungicida Frexus®CH, 25ppm e 30ppm, apresentaram diferenças significativas ($p<0,05$) quanto à aparência quando foi utilizada a escala de notas de 1 a 5 (Figura 14). De acordo com a escala, os frutos classificados com notas iguais ou inferiores a 3 devem ser considerados impróprios para consumo (ROCHA; MACHADO;RODRIGUES, 2005). Portanto os frutos testemunha, fumigados com óleo essencial de orégano nas concentrações 1,56% e 3,12% e imersos e fumigados com 25ppm de Frexus® CH, estavam fora dos padrões de aparência recomendados para consumo. Os frutos tratados por imersão com 0,78% e 1,56%, assim como os imersos e fumigados com Frexus® CH 30ppm, foram classificados com nota 5, que determina a ausência de deterioração, enquanto os tratados com óleo de orégano por imersão (3,12%) e por fumigação (0,78%) apresentaram deterioração leve (nota 4).

A fumigação dos frutos com óleo de orégano promoveu deterioração na superfície que variou de leve a severa, evidenciando que essa metodologia não foi propícia para o tratamento de mamão (Figura 14).

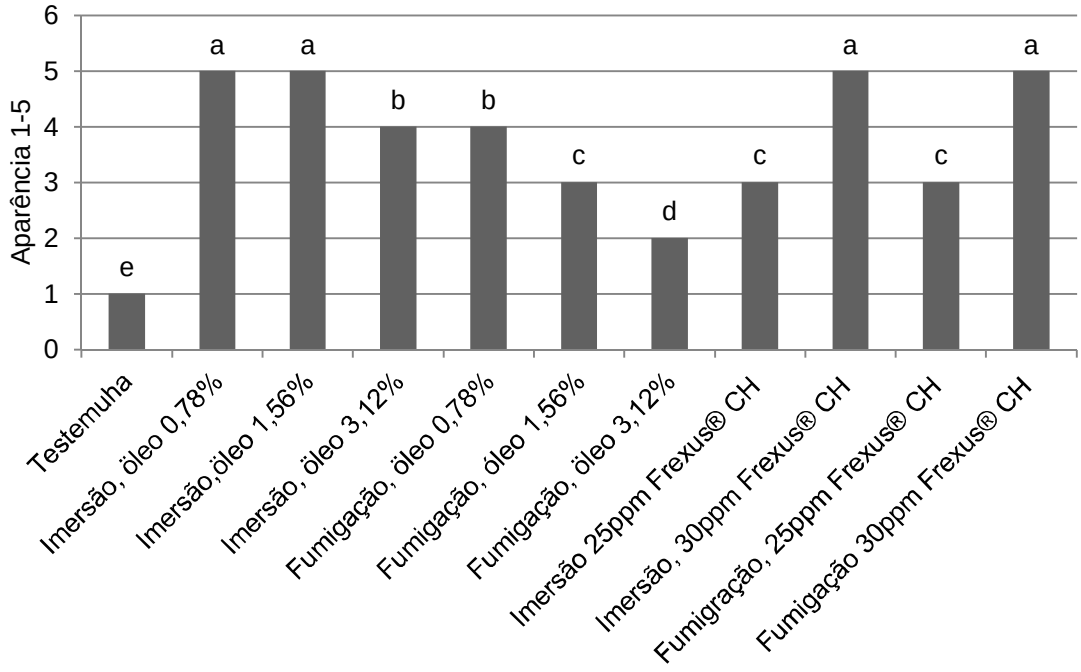

Figura 14 – Escala de notas da aparência dos frutos de*Caricapapaya*da cultivar Sunrise solo inoculados com *Colletotrichumgloeosporioides*, tratados por imersão e por fumigação com óleo essencial de orégano nas concentrações 0%, 0,78%, 1,56% e 3,12%, e com o fungicida Frexus®CH, 25ppm e 30ppm.

Na figura 15, estão apresentados os resultados da severidade da antracnose em frutos de mamão. Verificaram-se diferenças estatísticas significativas ($p<0,05$) entre os tratamentos, e a testemunha apresentou maior escala de nota (5), o que evidencia presença de lesões extensas (Figuras 15 e 16), enquanto os tratamentos por imersão com óleo de orégano nas diferentes concentrações e por imersão e fumigação com fungicida Frexus®CH 30ppm apresentaram as menores notas (Figuras 17 e 18).

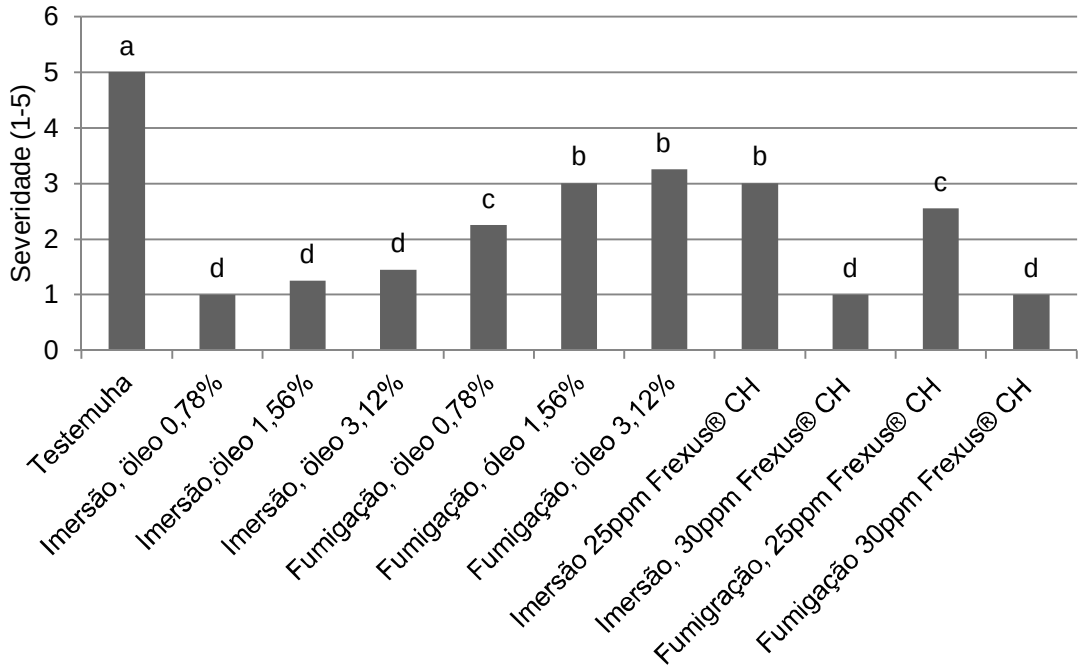

Figura 15 – Escala de notas da severidade da antracnose em frutos de *Caricapapaya*da cultivar Sunrise solo inoculados com *Colletotrichumgloeosporioides*, tratados por imersão e por fumigação com óleo essencial de orégano nas concentrações 0%, 0,78%, 1,56% e 3,12%, e com o fungicida Frexus®CH, 25ppm e 30ppm.

O método de fumigação com diferentes concentrações de óleo de orégano não foi eficaz no controle da antracnose nos frutos de mamão (Figuras 15 e 19). Resultados semelhantes foram obtidos quando os frutos foram tratados por imersão ou por fumigação com Frexus®CH, 25ppm (Figuras 15 e 18).

Os resultados obtidos evidenciam uma nova perspectiva no controle da antracnose em pós-colheita de frutos de mamão, quando o óleo de orégano é utilizado em tratamento por imersão.

Figura 16 –Severidade da antracnose (nota 5) em fruto de *Caricapapaya*da cultivar Sunrise solo inoculado com *Colletotrichumgloeosporioides*, testemunha sem tratamento.

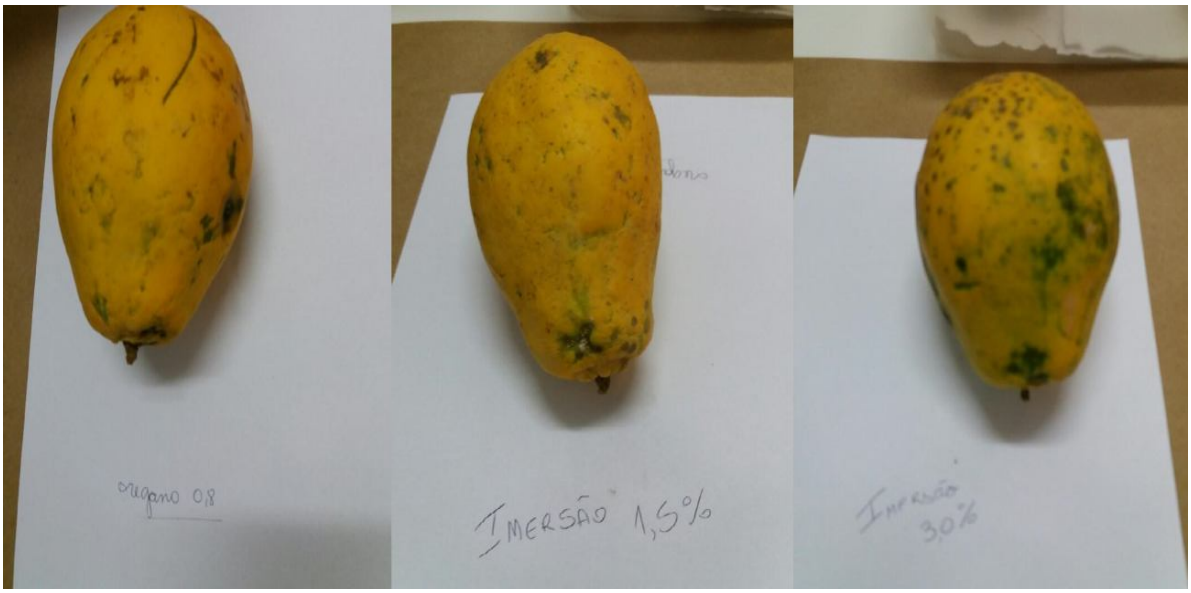

Figura 17 – Severidade da antracnose em frutos de *Caricapapaya*da cultivar Sunrise solo inoculados com *Colletotrichumgloeosporioides*, tratados por imersão com óleo essencial de orégano nas concentrações 0,78%, 1,56% e 3,12%.

Figura 18 – Severidade da antracnose em frutos de *Caricapapaya*da cultivar Sunrise solo inoculados com *Colletotrichumgloeosporioides*, tratados por imersão e por fumigação com o fungicida Frexus®CH, 25ppm e 30ppm.

Figura 19– Severidade da antracnose em frutos de *Caricapapaya*da cultivar Sunrise solo inoculados com *Colletotrichumgloeosporioides*, tratados por fumigação com óleo essencial de orégano nas concentrações 1,56% e 3,12%.

5 DISCUSSÕES

Foi observada maior eficácia entre os óleos estudados:*Cinnamomumcassia* (canela), 95,9%, e orégano (*Origanumvulgare*), 99,9%, conforme a figura 1. Esses óleos obtiveram uma maior redução da contagem microbiana. Costa et al. (2003), utilizando óleos essenciais de condimentos (orégano, alecrim, manjericão, menta e cebola), verificaram a inibição do crescimento de diversos fungos (*Colletotrichumgloesporioides,Aspergillusniger, A. flavus* e *A. ochraceus*), à medida que se aumentava a concentração desses óleos. Para orégano, canela, citronela e menta, foram necessários 10 minutos para eliminar a contagem microbiana, enquanto, para a artemísia, a contagem microbiana foi ausentada no tempo de 30 minutos. O cravo-da-índia demorou 20 minutos para que não houvesse mais microrganismo.

Óleos essências contêm concentrações de princípios ativos maiores em relação ao extrato, por isso, têm um efeito maior sobre os esporos e micélio do fungo. No entanto, o processo de infusão pode não ter sido eficiente na extração dos princípios ativos fungitóxicos das plantas, ocasionado uma perda de princípio (SILVA, 2006).

Ribeiro eBebendo (1999) avaliaram os extratos de mamona, alho e pimenta na esporulação e crescimento micelial do *C. gloesporioides*, e afirmam que esses extratos diminuíram a esporulação e o crescimento micelial do *C. gloesporioides.*

Chalfoun, Pereira e Pimenta (2004) avaliaram os óleos essências de alho, canela e tomilho no desenvolvimento micelial dos fungos *Rhizopus* sp., *Penicillium* spp., *Eurotiumrepens* e *Aspergillusniger* e, entre todos os óleos estudados, o que apresentou o melhor resultado da concentração mínima inibitória foi o orégano (*Origanumvulgare*) com 3,25%. Costa et al.(2003), usando o óleo essencial de *Origanumvulgare*com alta concentração de 4-terpineol e proporções equilibradas de timol e carvacrol, substâncias presentes no óleo, demostraram que a concentração mínima inibitória (CIM) foi de 2,72µg/mL^{-1}.

Neste trabalho, os óleos essências menos eficazes foram *Copaiferaofficinalis*(copaíba) com 90,0%, *Cinnamomumcanphora (*canfora) com 92,5%, e *Salviasclarea*(sálvia) com 90,0%, conforme demostrado na figura 3.

Santos, Nakamura e Dias. (2007) analisaram o óleo de copaíba, que apresentou uma ótima atividade microbiana, mas como antifúngico não foi detectado

nenhum resultado. Já Oliveira et al. (2006) demonstraram que podem ser utilizadasno controle da antracnose as espécies do genêro*Copaifera*. Solino et al. (2012) observaram que apenas 0,25 ml L^{-1} de óleo de copaíba apresentaram uma redução *in vivo* do fungo *Colletotrichum*no maracujá amarelo.

Em relação ao óleo essencial de sálvia, de acordo com Dalamare et al. (2007), não houve crescimento micelial do fungo *Colletotrichum* nas concentrações de 0,15 e 0,20%. DalPozzo et al. (2011) verificaram uma inibição do óleo essencial de sálvia em alguns isolados de *Staphylococcus* sp.

Os óleos essenciais de *Cinnamomumzeylanicum* (canela) e *Syzygiumaromaticum* (cravo-da-índia) apresentaram efeito antifúngico sobre o crescimento micelial de *C. musae*, agente etiológico da antracnose em banana (RANASINGHE; JAYAWARDENA; ABEYWICKRAMA, 2002).

Os óleos essências intermediários mais eficazes encontrados neste trabalho foram *Cymbopogonwinterianus (*Citronela), 97,9%, *Eugenia caryphollata (*cravo-da-índia), 98,1%, *Melaleucaalternifolia* (Melaleuca), 96,4% e *Menthapiperita (*menta), 96,0%.

O óleo essencial de citronela no presente estudo apresentou bom resultado inibindo o crescimento do micélio em uma concentração de 12,5%. Segundo Nascimento (2007), o óleo essencial de citronela tem como componente principal o citronelal (42,75%) e, em menor quantidade, o geraniol (36%). Esse óleo é utilizado na fabricação de cosméticos e perfumes e age como um excelente repelente de insetos. Possui atividade antisséptica, antifúngica e bactericida (MANN, 1995 apud OOTANI, 2010).

Oliveira et al. (2010), com a utilização dos óleos essenciais de alecrim, pimenta e cravo-da-índia, em quatro concentrações (0uL/L, 25uL/L, 50uL/L e 75uL/L) no controle de *Fusariumpallidoroseum* em melões, observaram inibição do crescimento do fungo a partir da concentração de 25uL/L.

De acordo com Vieira, Barbosa e Maltha (2004), das folhas de *Melaleucaalternifolia* são extraídos os óleos essenciais, sendo ricas em terpinen-4-ol. Têm propriedades antibacterianas e antifúngicas.

As concentrações dos óleos essências *Artemisiavulgaris (*artemísia),com 95,4%, *Rosmarinusofficinalis (*alecrim),com 95,0%, e *Eucalyptuscitriodora (*eucalipto citriodora),com 97,6%, foram os óleos intermediários menos eficazes contra o fungo neste trabalho.

O óleo essencial de eucalipto mostrou como resultado um não crescimento do fungo na concentração de 25%, já Aguiar et al. (2008), verificaram que os óleos essências de *Eucalyptuscitriodora*e *Cymbopogoncitratus,* na concentração de 100%, atuaram como fungicida sobre *C. gloesporioides*nas concentrações de 1000 µL/L a 1500 µL/L e de 61% na concentração de 1500 µL/L.

Ao avaliarem o efeito dos óleos essenciais de *Cymbopogoncitratus, Eucalyptuscitriodora, Menthapiperita, Artemisiavulgaris*no controle da antracnose,Carnelossi et al. (2009) tiveram como resultado 100% do crescimento micelial do fungo para todos os óleos testados, na quantidade de 50 µL. O óleo de *C. citratus*foi o mais eficiente, causando inibição de 100% a partir de 10 µL.

Felix et al. (2007) observaram que o óleo essencial de *Eucalyptuscitriodora,* contem compostos com ação antifúngica e inibe totalmente o crescimento micelial como a esporulação do patógeno nas concentrações testadas (1,25%, 2,5%, 3,75% e 5%).

O óleo essencial da *Menthapiperita* mostrou-se um ótimo fungicida contra os fungos *C. Musa, C. gloeosporioides* e *A. glaucus,* em um experimento realizado *in vitro* nas concentrações de 0,2%. No quinto dia de avaliação, só inibiu totalmente o crescimento micelial do *A. glaucus*(FREIRE; JHAM; DHINGRA,2002).

De um modo geral os frutos apresentaram valores diferenciados de severidade, os tratados com o fungicida Frexus e com o óleo essencial de orégano. O seu tratamento não impediu a incidência de antracnose nos frutos na pós-colheita, mas reduziu a severidade da doença como é evidenciado na figura 13 (aparência) e figura 14 (severidade). As concentrações do fungicida Frexus que atuaram de melhor forma quanto a severidade foram por imersão a 30 ppme por fumigação a 25 ppm.

Já o óleo essencial de orégano apresentou melhor resultado no quesito severidade pelo processo de imersão na concentração de 0,78%. Lima et al (2008), avaliando o efeito de produtos naturais no controle da pós-colheita do *Colletotrichum* no mamão, observou que o óleo de amêndoa de *C. acutatum*foi o melhor tratamento em relação a severidade e a área necrosada.

Quanto a aparência, o mamão que obteve melhor resultado foi pelo processo de fumigação na concentração de 0,78% e 1,56% com o óleo essencial de orégano, juntamente pela imersão de Frexus 30ppm e fumigação de Frexus a 30 ppm.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesta pesquisa levaram a concluir que:

- A utilização de óleos essenciais com ação antifúngica é uma opção viável e confiável.

- Identificou-se que o efeito antifúngico dos óleos essências sobre o fungo *Colletotrichumgloesporioides*depende da concentração e dos óleos essenciais utilizados.

- Os óleos essenciais que se apresentaram mais eficazes na diminuição da contagem microbiana sobre o *Colletotrichumgloesporioides* foram os óleos de orégano (99,9%), cravo-da-índia (98,1%) e canela (95,9%).

- Alguns óleos essenciais foram menos eficazes e apresentaram pouca ação antifúngica, sendo eles: copaíba (90,0%), cânfora (92,5%) e sálvia (90,0%).

-Os óleos de artemísia (95,4%), alecrim (95,0%), eucalipto (97,6%), citronela (97,9%), cravo-da-índia (98,1%), melaleuca (96,4%) e menta (96,0%) apresentaram ação antifúngica intermediária em relação aos outros óleos.

-O óleo de orégano nas concentrações de 0,76% 1,56% e 3,12% controlaram a antracnose em frutos de mamão tratados por imersão.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, L.G. de; PEREIRA, A.J.; VIVAS, M.; SILVEIRA, S.F. da; MORAIS, W.B.; JESUS JUNIOR, W.C. de; SILVA, D.G. da. Inibição *in vitro* do crescimento micelial de *Colletotrichumgloesporioides,* por óleo essencial de *Eucalyptuscitriodora*e *Cymbopogoncitratus.* In: XII ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIÊNTIFICA, 2008, São Jose dos Campos, SP. **Anais**... São Jose dos Campos, SP, 2008.v. 1, p. 201-203.

ALMEIDA, J.G.F. Barreira às exportações de frutas tropicais. **Fitopatologia Brasileira**, v.27 (supl.), p.7-10, 2002.

ALVARENGA, A.A.; SOUZA, C.R. Tratos culturais para pessegueiros/ameixeiras/ nectarinas. **InformeAgropecuário**, v.18, n.189, p. 5-51, 1997.

ALVAREZ, A.M.; NISHIJIMA, W.T. Postharvest diseases of papaya. **Plant Disease**, St. Paul, v. 71, n. 8, p. 681-686, 1987.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. **Métodos alternativos de controle fitossanitário.** Jaguariúna, Brasil: Embrapa Meio Ambiente, 2003. p. 279.

CARNELOSSI, P.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F; CRUZ, M.E.S.; ITAKO, A.T.; MESQUINI, R.M. Óleos essências no combate pós-colheita de *Colletotrichumgloesporioides*em mamão. **RevistaBrasileira de PlantasMedicinais.**Botucatu, v. 1, n.4, p.399-406, 2009.

CHALFOUN, S.M.;PEREIRA, M.C.; PIMENTA, C.J. Effect of powdered spice treatments growth, sporulation and production of aflatoxin by toxigenic fungi. **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, n.4, p.856-62, 2004.

CLSI - CLINICAL LABORATORY STANDARD INSTITUTE.**Document M38-A2**: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi.2nd ed. Wayne, Pa, USA: CLSI, 2008.

COSTA, R.V.; CASELA, C.R.; ZAMBOLIM, L.; FERREIRA, A. S. A Antracnose do Sorgo. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 28, p. 345-354, 2003.

DALAMARE, A. P. L.; TEMPRAM, A.M.P.; LIANE, A.; ALBUQUERQUE, L.T.; SERGIO, E. Antibacterialactivityoftheessentialoilsof*salviaofficinalis* l. and*salviatriloba*L. cultivated in South Brazil. **Foodchemistry**, v. 100, p. 603-608, 2007.

DAL POZZO, M.; VIEGAS, J.; SANTURIO, D.F.; ROSSATTO, L.; SOARES, I.H.; ALVES, S.H.; COSTA, M.M. Atividade antimicrobiana dos óleos essências de condimentos frente a *Sthaphylococcus spp*. Isolados de mastite caprina. **Ciência Rural**, v. 11, p. 54-56, 2011.

DEMARTELAERE, A.C.F; GUIMARÃES, G.H.C.; SILVA, J.A.; LUNA, R. G.; NASCIMENTO, C.L. Extratos vegetais no controle da antracnose e na conservação

da qualidade em frutos de mamoeiro. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais,** Campinas, v.17, n.4, supl. III, p.1041-1048, 2015.

DICKMAN, M.B.; ALVAREZ, A.M.**Food and agricultural commodities production:** Latent infection of papaya caused by *Colletotrichum*FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2011. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acesso em: 20 jan. 2016.

FELIX, K.C. S.; SILVA, J.C.; CARNAÚBA, J.P.; OLIVEIRA, A.; AMORIM, E.P.R. Atividade antifúngica de extratos vegetais e óleos essências sobre *Glomerellacingulata*em frutos de mamã. In: CONGRESSO BRASILEIRO DEFITOPATOLOGIA, Maringá, v. 15, p. 119, 2007.

FREIRE, M. M.; JHAM, G. N.; DHINGRA, O. D. Avaliação da atividade antifúngica e identificação dos compostos no óleo essencial de hortelã-pimenta (Menthapiperita L.), (a ser submetido para publicação no **JournalofAgriculturalFoodChemistry)**, p. 56, 2002.

GOES, A.; KIMATI, H. Caracterização morfológica de isolados de *Colletotrichumacutatum e Colletotrichumgloeosporioides* associados à queda prematura dos frutos cítricos. **SummaPhytopathologica,** Piracicaba, v. 23, n. 1, p. 4-10, 1997.

KIMATI, H. Controle químico. In: BERGAMIN FILHO, **Manual de fitopatologia**: princípios e conceitos.3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, 919p.

KUO,K.C.Germination and appressorium formation in *Colletotrichumgloeosporioides*. **Proceedings of the National Science Council**, Taipei, v.23, n.3, p.126-132, 1999.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A. Doenças das solanáceas. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de fitopatologia**: doenças das plantas cultivadas. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, p.665-675.

LIMA, C. A. de; JUNQUEIRA, N. T. V.; SOUZA, L. S. de; SILVA, D. G. P. da; JUNQUEIRA, K. P.; SANTOS, E. C. dos. Efeito de produtos naturais no controle de antracnose na mamão em pós-colheita. In: SIMPÓSIO NACIONAL CERRADO, 9.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL SAVANAS TROPICAIS, 2., 2008, Brasília. Anais...

MARIN, S. L. D.; GOMES J. A. Morfologia e biologia floral do mamoeiro. **Informe Agropecuário**, n. 134, p. 10-13, 1986.

MENEZES, M. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, n. 27 (supl.), p. S23-S24, 2002.

NASCIMENTO, P.F.C.; NASCIMENTO, A.C.; RODRIGUES, C.S.; ANTONIOLLI, A.R.; SANTOS, P.O.;BARBOSA JUNIOR, A.M.; TRINDADE, R.C. Atividade antimicrobiana dos óleos essências: uma abordagem multifatorial dos métodos: **Rev. bras.farmacogn**, João Pessoa, v. 17, n.1, p. 1-7, 2007.

NERY-SILVA, F.A.; MACHADO, J.C.; OLIVEIRA, L. C. RESENDE, M.L. Controle químico da podridão peduncular de mamão causada por *Colletotrichumgloeosporioides*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.25, n.3, p.519- 524, 2001.

NOZAKI,M.; DETONI, A.M.; DONADEL, F. Controle alternativo de in *Colletotrichumgloeosporioides*em frutos de goiaba com óleos essenciais. **Ensaios em Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 12, n. 2, p. 63-69, 2013.

OGBEBOR, N. O.; ADEKUNLE, A. T.; ENOBAKHARE, D. A. Inhibition of *Colletotrichumgloeosporioides* (Penz) Sacc. causal organism of rubber (*Heveabrasiliensis* Muell. Arg.) leaf spot using plant extracts. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 3, p. 213-218, 2007.

OLIVEIRA, A. A. R.; SANTOS FILHO, H. P. Doenças do mamoeiro. In: RITZINGER, C. H. S. P.; SOUZA, J. S. (Org). **Mamão**: fitossanidade. Brasília, DF:Embrapa Comunicação para transferência de Tecnologia, 2000. v. 11, p. 37-46.

OLIVEIRA, E.S.; LIMA, I.B.; PESSOA, M.N.G.; SANTOS, A.B. Efeito de óleos vegetais no controle em pós-colheita de *Fusariumpallidoroseum* em melão. **Tropical PlantPathology**, Lavras, v.35, p. 532, 2010.

OLIVEIRA, F.C.; LOBATO, A.K.S.; GUEDES, E.M.S. Avaliação do crescimento micelial de *Cylindrocladium sp*. submetido a meios de cultura preparado com extrato aquoso de *Icthyotherecunabi* Mart. In: III CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS, 15, Belém, 2006. Resumos. Belém: Embrapa, 2006, p. 158.

OOTANI, M. A. **Atividade inseticida, antifúngica e herbiotóxica dos óleos essências de *Eucalyptuscitriodora*e *Cymbopogonnardus.*** Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Tocantins. Gurupi: Unviversidade Federal do Tocantins, 2010. Disponível em: <www.uft.edu.br/.../doc/MARCIO%20AKIO%20OOTANI.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2016.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M.E.L.; KANEKO, T.M.; NISHIKAWA, S.O.; FREITAS, B.R.Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Rev. bras. farmacogn.**, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

PERFECT, S. E.; HUGHES, H. B.; O'CONELL, R. J.; GREEN, J. R. SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M. E. da S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta,** v.30, n.1/2, p.129-137, jun./dez. 2000.

PLETSCH, M. Compostos naturais biologicamente ativos. A aplicação da biotecnologia à produção de compostos naturais biologicamente ativos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, ano 1, n. 4. jan./fev.2002.

RANASINGHE, L.; JAYAWARDENA, B.; ABEYWICKRAMA, K. Fungicidalactivityofessentialoilsof*Cinnamomumzeylanicum* (L.) and*Syzygiumaromaticum* (L.) Merr et L.M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. **Letters in AppliedMicrobiology**, v. 35, n. 3, p. 208-211, 2002.

RIBEIRO, L.F.; BEDENDO, I.P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichumgloeosporioides*- agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agrícola**, v. 56, n.4, p.1267-71, 1999.

ROCHA, R.H.C.; MACHADO, J.C.;RODRIGUES, C.S. Qualidade pós-colheita do mamão formosa armazenado sob refrigeração. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.27, n.3, p.386-389, 2005.

SANTOS, A.O.; NAKAMURA, T.U.; DIAS, B.P. Antimicrobial activity of copaíba oils obtained from different species of *Copaifera* in Brazil. **Planta Medicinal.**v.45,p.68, 2007.

SFORCIN, J.M.; FERNANDES, J.R.A.; LOPES, C.A.M. Seasonal effect on Brazilian própolis antibacterial activity. **JournalofEthnopharmics**, v. 73, p. 243-249, 2000.

SILVA, F.; MACHADO, J. Controle químico da podridão peduncular de mamão causada por *Colletotrichumgloeosporioides*. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Lavras, v. 33, p.156, 2001.

SILVA, G. S. Substâncias naturais: uma alternativa para o controle de doenças. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, p. 9, 2006.

SIQUEIRA,C.L.S.; MORAES,T.C.; MARTINS, J.A.D. Controle da antracnose em mamão por extratos vegetais. **Ciências biológicas e da saúde**,v. 1, p.34, 2011.

SMITH, B.J.; BLACK, L.L. Morphological, cultural and pathogenic variation among *Colletotrichum* species isolates from strawberry. **PlantDisease**, St. Paul, v.74, n.1. p.69-76, 1990.

SOLINO, A.J. da S.; ARAÚJO NETO, S.E. de; SILVA, A.L.N.; RIBEIRO, A.A.S. Severidade da antracnose e qualidade dos frutos de maracujá-amarelo tratados com produtos naturais em pós-colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.34, p.57-66, 2012.

STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. da S.; NOZAKI, M. H. Plantas medicinais. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, ano 2, n. 11, nov./dez. 2000.

SUTTON, B.C. The Genus Glomerella and its anamorph *Colletotrichum*. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Org.)*Colletotrichum:* biology, pathology and control. Oxon: CAB International, 1992. p.1-26.

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

TESKE, M.; TRENTINI, A.M.M. **Herbarium Compêndio de Fitoterapia**. 3. ed., Curitiba, PR: Herbarium Laboratório Botânico, 1997. 56 p.

VIEIRA, T.R.; BARBOSA, L.C.A.; MALTHA, C.R.A.Constituintes químicos de *Melaleucaalternifolia* (Myrtaceae). **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 4, ago. 2004.

WINN, W.; ALLEN, S.; KONEMAN, E.W.; PROCOP, G.; SCHRECKENBERGER, P.; WOODS, G. **Koneman:Diagnóstico microbiológico, texto e atlas colorido**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.p.1760.

ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; VENTURA, J.A.; VALE, F.X.R. Controle de doenças pós-colheita de frutas tropicais. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Manejo integrado**: fruteiras tropicais – doenças e pragas. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002. p.443-511.