



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE  
PERNAMBUCO**

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM FITOPATOLOGIA**

**Dissertação de Mestrado**

**Aplicação combinada de quitosana e óleo essencial de  
*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf para controle de  
podridão da cratera em frutos de melão**

**Samara Alves Macedo**

Recife – PE

2019

**SAMARA ALVES MACEDO**

**APLICAÇÃO COMBINADA DE QUITOSANA E ÓLEO ESSENCIAL DE  
*Cymbogon citratus* (D.C.) Stapf PARA CONTROLE DE PODRIDÃO DA CRATERA  
EM FRUTOS DE MELÃO**

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

**COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:**

Prof. Dr. Marcos Paz Saraiva Câmara (UFRPE) – Orientador

Prof. Dr. Evandro Leite de Souza (UFPB) – Co-orientador

**RECIFE - PE  
SETEMBRO - 2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

- M141a Macedo, Samara Alves.  
Aplicação combinada de quitosana e óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (D.C.)  
Stapf para controle de podridão da cratera em frutos de melão / Samara Alves Macedo  
. – Recife, 2019.  
59f. : il.
- Orientador(a): Marcos Paz Saraiva Câmara.  
Coorientador(a): Evandro Leite de Souza.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de  
Pós-Graduação em Fitopatologia, Recife, BR-PE, 2019.  
Inclui referências.
1. Antimicrobiano 2. Controle alternativo 3. Pós-colheita I. Câmara, Marcos Paz Saraiva,  
orient. II. Souza, Evandro Leite de, coorient. III. Título

CDD 632

**APLICAÇÃO COMBINADA DE QUITOSANA E ÓLEO ESSENCIAL DE  
*Cymbogon citratus* (D.C.) Stapf PARA CONTROLE DE PODRIDÃO DA CRATERA  
EM FRUTOS DE MELÃO**

**SAMARA ALVES MACEDO**

Dissertação foi defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 02/09/2019

**ORIENTADOR:**

---

Prof. Dr. Marcos Paz Saraiva Câmara (UFRPE)

**EXAMINADORES:**

---

Prof. Dr. André Angelo Medeiros Gomes (UFRPE)



---

Profa. Dra. Waleria Guerreiro Lima (UNIFG)

**RECIFE - PE  
SETEMBRO – 2019**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, por todo amor, misericórdia e bênçãos que tem me dado ao longo da minha vida.

As minhas irmãs, Sandra, Fabiana e Nair, por terem se sacrificado para que eu alcançasse esse projeto, por sempre estarem me apoiando e por toda compreensão e amor incondicional. Sem o apoio de vocês eu nunca conseguiria ter chegado até aqui.

À Universidade Federal de Rural de Pernambuco, pela oportunidade de realização deste curso. Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo.

Ao programa de Pós-Graduação em Fitopatologia e a todos os funcionários e professores, por toda ajuda, trabalho e formação científica e profissional.

Ao professor Marcos Paz Saraiva Câmara, pela orientação e oportunidade de aprendizado ao longo desses dois anos de convivência.

Ao professor Evandro Leite de Sousa, pela coorientação e oportunidade de aprendizado ao longo do ano de convivência.

Aos professores, André Angelo Medeiros Gomes e Waleria Guerreiro Lima por se disponibilizarem a ajudar e participar desta banca.

A todos meus amigos Denise, Aline, Grazi, Júnior, Giovanna, Selma e Angelica pela ajuda e amizade durante esses dois anos, sem ajuda de vocês eu não teria chegado até aqui.

A todos que de alguma maneira contribuíram para este trabalho e para minha formação pessoal e profissional, e que foram omitidos, o meu muito obrigado.

## SUMÁRIO

CAPÍTULO I .....	8
INTRODUÇÃO GERAL .....	9
1. Cultivo do melão.....	9
1.1 Importância econômica do melão .....	11
2. Podridão de cratera em melão.....	11
3. Revestimento comestíveis em frutas.....	13
3.1 Quitosana .....	14
3.2 Óleo essencial capim limão ( <i>Cymbopogon citratus</i> ) .....	16
3.3. Revestimento de quitosana incorporados a óleos essenciais.....	17
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	19
CAPÍTULO II .....	25
Resumo .....	27
Abstract .....	28
Introdução .....	29
Material e métodos .....	31
Resultados .....	37
Discussão .....	45
Referências .....	49
CAPÍTULO III .....	57
CONCLUSÕES GERAIS .....	58

## RESUMO GERAL

O fruto do meloeiro (*Cucumis melo* L.) é apreciado no mundo todo, os melões cultivados pertencem a dois grupos botânicos *Cucumis melo* var. *inodorus* e *Cucumis melo* var. *cantaloupensis*. A cultura do meloeiro é acometida por várias doenças pós-colheita que são responsáveis por grandes perdas. Dentre essas doenças, destaca-se a podridão-de-cratera, causada pelo fungo *Paramyrothecium roridum*. Diante da demanda por produtos mais saudáveis, o uso de filmes e revestimentos comestíveis à base de óleos essenciais e quitosana surge como uma opção de controle dessas doenças. Este estudo buscou avaliar o efeito antifúngico do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* em combinação com quitosana no controle de podridão da cratera em frutos de melão. Avaliações do efeito *in vitro* e *in vivo* do óleo essencial *C. citratus* em combinação com quitosana sobre o fungo *P. roridum* foram realizadas. Todas as concentrações de quitosana apresentaram inibição de crescimento micelial maiores que 50% para todos os isolados de *P. roridum*, com exceção da 2,5 mg/mL, que inibiu 78% apenas do isolado 4728 e para os demais inibiu entre 40,07 e 46,48%. A concentração de 0,6 µL/mL do óleo essencial de *C. citratus* apresentou 100% de inibição do crescimento micelial frente a todos os isolados estudados. Todas as concentrações de combinações testadas apresentaram efeito aditivo contra os isolados de *P. roridum*. A combinação aditiva de 5mg/mL quitosana + 0,3µL/mL de óleo essencial de *C. citratus* foi a que apresentou maior redução no tamanho da lesão de podridão de cratera nos frutos de melão revestidos para todos os isolados testados. A aplicação de revestimentos formulados a partir de combinações de quitosana e óleo essencial de *C. citratus* caracteriza-se como uma possível estratégia para inibir o desenvolvimento da podridão de cratera causada por *P. roridum* em frutos de melão.

**Palavras-chave: Antimicrobiano; Controle alternativo; Pós-colheita.**

## GENERAL ABSTRACT

The fruit of melon (*Cucumis melo* L.) is appreciated worldwide, the cultivated melons belong to two botanical groups *Cucumis melo* var. *inodorus* and *Cucumis melo* var. *cantaloupenis*. Melon crop is affected by several postharvest diseases that are responsible for large losses. Among these diseases, crater rot, caused by the fungus *Paramyothecium roridum*, stands out. Given the demand for healthier products, the use of edible films and coatings based on essential oils and chitosan emerges as an option to control these diseases. This study aimed to evaluate the antifungal effect of *Cymbopogon citratus* essential oil in combination with chitosan in the control of crater rot in melon fruits. In vitro and in vivo evaluations of *C. citratus* essential oil in combination with chitosan on *P. roridum* were carried out. All concentrations of chitosan showed inhibition of mycelial growth greater than 50% for all *P. roridum* isolates, except 2.5 mg / mL, which inhibited 78% of isolate 4728 alone and for the others inhibited between 40.07. and 46.48%. The concentration of 0.6 µL / mL of *C. citratus* essential oil showed 100% inhibition of mecelial growth compared to all isolates studied. All concentrations of combinations tested showed additive effect against *P. roridum* isolates. The additive combination of 5mg / mL chitosan + 0.3µL / mL of *C. citratus* essential oil showed the greatest reduction in crater rot lesion size in the coated melon fruits for all isolates tested. The application of coatings formulated from chitosan and *C. citratus* essential oil combinations is a possible strategy to inhibit the development of crater rot caused by *P. roridum* in melon fruits.

**Keywords:** Alternate control; Antimicrobial; Post-harvest.



## **CAPÍTULO I**

### **Introdução Geral**

## **Aplicação combinada de quitosana e óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf no controle de podridão da cratera em frutos de melão**

### **INTRODUÇÃO GERAL**

#### **1. Cultivo do melão**

O fruto do meloeiro (*Cucumis melo* L.) é apreciado no mundo todo e, embora a planta seja botanicamente uma hortaliça, da família Cucurbitaceae, é comercializada como fruto. É cultivado em várias regiões do mundo devido à sua adaptabilidade a diversos tipos de clima e solo, além de sua elevada expressão econômica (CELIN et al., 2014).

Pertence ao gênero *Cucumis*, família Cucurbitaceae, subfamília Cucurbitoideae e espécie *Cucumis melo* L. É uma espécie cujo centro de diversidade genética não foi claramente estabelecido, tendo como teoria sua origem na África até o oeste da Ásia tropical (ROBINSON; DECKER-WALTERS, 1997).

A planta é uma dicotiledônea perene, sendo explorada como planta anual. O sistema radicular é superficial e praticamente sem raízes adventícias, tendo baixa capacidade de regeneração quando danificado. O caule é herbáceo, de crescimento rasteiro ou prostrado, provido de nós com gemas. A partir dessas gemas, desenvolvem-se gavinha, folha e novo caule ou ramificação. As folhas são de tamanho variável, alternadas, simples, ásperas, providas de pelos, limbo orbicular, reniforme, pentalobadas, com as margens denteadas (KIRKBRIDE, 1993; MCCREIGHT et al., 1993).

As flores são amarelas e constituídas por cinco pétalas. O meloeiro possui flores imperfeitas (apenas um órgão sexual em uma flor) e perfeitas ou hermafroditas (órgãos masculino e feminino na mesma flor) em pontos diferentes da planta. O fruto é uma baga carnuda de forma variada no tamanho, aspecto, forma, cores, sabor, textura e composição bioquímica (MCCREIGHT et al., 1993).

O clima exerce influência significativa na produção e qualidade do melão. A temperatura é limitante da germinação à colheita, além de afetar a conservação pós-colheita do fruto, apresentando faixas ótimas nos diferentes estádios de desenvolvimento, sendo a faixa entre 25 °C e 35 °C ótima para melhor crescimento e produção durante todo ciclo da cultura. Em baixas temperaturas (15 °C a 20 °C), a ramificação do meloeiro é prejudicada, resultando em plantas pouco desenvolvidas (OHARA et al., 2000; SILVA et al., 2003).

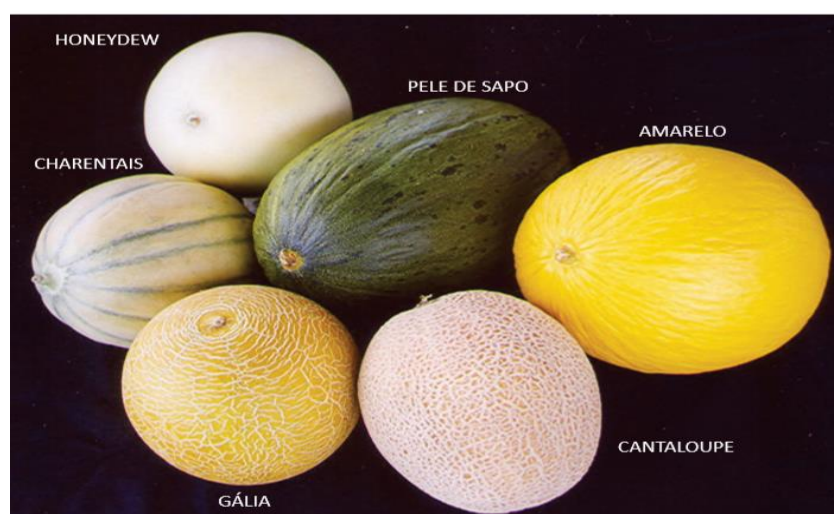
É uma cultura muito exigente em luminosidade durante todo o seu ciclo, variando entre 2.000 a 3.000 horas/ano. Em relação à umidade relativa do ar, o meloeiro é pouco exigente, portanto, regiões com elevados índices pluviométricos dificultam o seu cultivo. A

umidade ótima situa-se na faixa de 65% a 75%, durante a fase de crescimento vegetativo (SILVA; COSTA; CARRIJO, 2002).

Em termos nutricionais, o melão é fonte de fibras, betacaroteno (Provitamina A), vitaminas C e do complexo B, apresentando propriedades estimulantes, alcalinizantes, mineralizantes, oxidantes, diuréticas e laxativas (GOMES, 2007; CHITARRA; CHITARRA, 2006; FERGANY et al., 2010).

Os melões cultivados pertencem a dois grupos botânicos de acordo com a classificação de Robinson e Decker-Walters (1997), são eles: *Cucumis melo* var. *inodorus* (inodoros e não climatéricos) e *Cucumis melo* var. *cantaloupensis* (aromáticos e climatéricos).

Os frutos do grupo *C. melo* var. *inodorus* apresentam casca lisa ou levemente enrugada, coloração amarela, branca ou verde-escura. A casca dessa variedade possui razoável resistência à compressão e perda de água por ser espessa, conferindo longa vida útil pós-colheita. A polpa apresenta elevado teor de açúcares, pode ter coloração variando entre branca e verde-clara. O peso médio dos frutos varia de 1 kg a 2 kg. Destacam-se nesse grupo os melões amarelos, Pele-de-sapo e Orange Flesh. O grupo *C. melo* var. *cantaloupensis* apresenta frutos aromáticos, mais doces que os inodoros, porém de baixa conservação pós-colheita; possuem grande diversidade de coloração da polpa. Apresentam frutos esféricos, ligeiramente achatados, com polpa espessa. O peso médio dos frutos varia de 1 kg a 1,5 kg, destacando os tipos: Cantaloupes, Gália e Charentais (BRASIL, 2003; MENEZES et al., 2000; FONTES; PUIATTI, 2005; COSTA et al., 2000; HORTIFRUTI BRASIL, 2006; COSTA; PINTO, 1977). Na Figura 1, é possível observar alguns exemplos dessas variedades.



**Figura 1.** Os tipos de melões mais comercializados no Brasil: *inodorus* (Amarelo, Pele de Sapo e Honeydew) e *cantaloupensis*

(Cantaloupe, Gália e Charentais) (FIGUEREDO; GONDIM; ARAGÃO, 2017).

### **1.1 Importância econômica do melão**

Anualmente, a produção mundial de frutas é maior que 800 milhões de toneladas. No ranking dos principais países produtores, o Brasil ocupa a terceira posição, atrás apenas da China e da Índia. (TREICHEL et al., 2016).

Dentre as frutas produzidas no Brasil, encontra-se o melão. A introdução no país se deu através de imigrantes europeus, tendo se desenvolvido inicialmente no Rio Grande do Sul, e Sudeste (MOREIRA et al., 2009).

Atualmente, a produção de melão ocorre em todas as regiões brasileiras, concentrando-se no Nordeste a maior produção. Em 2017, a região foi responsável por 98,8% de toda a produção do país. O Estado do Rio Grande do Norte foi o maior produtor, com uma produção de 624.306 toneladas, seguido do Ceará, com 104.982 toneladas, em terceiro e quarto lugar ficaram os estados da Bahia e Pernambuco, respectivamente (IBGE, 2019).

Os fatores que favorecem essa alta produção na região Nordeste são temperaturas elevadas e altos níveis de insolação, favorecendo assim, o desenvolvimento de frutos de ótima qualidade.

Na região Nordeste, é produzido principalmente o melão tipo Amarelo, mais conhecido no mercado mundial como melão espanhol, destacando-se pela resistência ao transporte e maior conservação pós-colheita (SOUZA; MENEZES; ALVES, 1994; MENEZES et al., 2000).

## **2. Podridão da cratera em melão**

Embora com toda a importância dessa cultura, diversos problemas de natureza técnica preocupam os produtores e demais pessoas envolvidas no processo de produção e comercialização do melão. Dentre eles, as doenças pós-colheita têm sido responsáveis por grandes perdas. Dentre as doenças que afetam o fruto de meloeiro, destaca-se a podridão-de-cratera, causada pelo fungo por *Paramyrothecium roridum* (Tode) L. Lombard & Crous (Basionym *Myrothecium roridum*). Essa doença foi detectada pela primeira vez no Brasil em 1991, no Estado do Rio Grande do Norte e desde então vem ocorrendo com frequência nos plantios da região (SILVA et al., 1996).

Lombard et al. (2016), com base na inferência filogenética firmada por observações morfológicas, identificaram vários gêneros e espécies fúngicas novas, as quais eram

previamente tratados como sendo membros dos gêneros *Myrothecium* e *Stachybotrys*. Nesse estudo, algumas espécies foram reclassificadas como *Myrothecium roridum*, passando a ser denominada *Paramyrothecium roridum* (Tode) L. Lombard & Crous (Basionym *Myrothecium roridum*).

O fungo *P. roridum* é amplamente distribuído em regiões tropicais e temperadas do mundo, tendo sido relatado pela primeira vez no Texas, EUA, em 1961, onde ocasionou sérios danos em variedades do tipo Cantaloupe (MCLEAN; SLEETH, 1961). No Brasil, foi detectado pela primeira vez em Mossoró - RN (SILVA et al., 1996).

*Paramyrothecium roridum* é um Tuberculáriaceo (Hypocreales), caracterizado por produzir micélio branco de aspecto cotonoso e esporodóquios verdes quando jovens e pretos quando maduros, distribuídos em anéis concêntricos na superfície da colônia. Os esporodóquios medem de 60 a 750 $\mu$  de diâmetro. Conidióforos são ramificados, com 2 a 5 fiáldes finas hialinas ou escuras medindo de 11 – 16 $\mu$  de comprimento por 1,5 – 2,0 $\mu$  de largura. Os conídios são, geralmente, cilíndricos ou ligeiramente elipsóides a ovóides, com extremidades arredondadas, ou raramente com uma das extremidades truncadas, trigutulados, inicialmente hialinos, tornando-se verde quando maduros. Esse fungo é um habitante natural do solo, com ampla gama de hospedeiros e grande distribuição geográfica, podendo sobreviver como saprófita no solo por longos períodos e em restos culturais (DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 1980; FITTON; HOLLIDAY, 1998; REGO; CARRIJO, 2000; VIANA, et al, 2001).

O processo de patogênese exercido por *P. roridum* é baseado num arsenal de enzimas e toxinas com habilidade para decompor amido e celulose. A elevada atividade celulolítica é consequência da produção de várias substâncias tóxicas, tais como tricotecenos e roridina A, B, C, D e E. Durante a infecção, ocorre formação de numerosos esporos que germinam e originam hifas que produzem enzimas e 19 metabólicos altamente tóxicos, facilitando a penetração e colonização do tecido. Além disso, *P. roridum* é um forte produtor de substâncias que induzem a síntese de etileno no hospedeiro (DOMSCH; GAMS; ANDERSON, 1980).

Em meloeiro, *P. roridum* pode ocasionar sintomas em plântulas, folhas e frutos. Em plântulas, os sintomas vão desde a necrose do colo até o estrangulamento na base do caule, próximo ao solo, seguido de tombamento. Quando as lesões no colo surgem na presença de alta umidade, ocorre a morte rápida da planta (BRUTON, 1996). Nas folhas, ocasiona a doença conhecida como mancha-de-mirotécio onde se observam manchas circulares e

irregulares de 2 a 15 mm de diâmetro, com coloração marrom no centro, anéis concêntricos e margens cinza (CHITARRA; MEYER, 2004).

*Paramyothecium roridum* afeta, principalmente, os frutos de melão, causando rachaduras superficiais a profundas, geralmente em forma de cratera, medindo 2 a 50 mm de diâmetro, produzindo frutificações verde-oliva e exsudatos escuros (Figura 2). Todavia, existem fortes evidências que essa espécie fúngica não tem capacidade de penetrar diretamente os tecidos do melão, sendo necessária a presença de injúrias no fruto para iniciar o processo de infecção (BRUTON, 1996; SENHOR, 2006).



**Figura 2.** Crescimento de *P. roridum* cultivado em meio de cultura BDA (A); Sintomas de podridão de cratera em frutos de meloeiro do tipo amarelo (B). (Fonte: Autor)

### 3. Revestimento comestíveis em frutas

Filmes e revestimentos comestíveis são definidos como camadas finas de materiais comestíveis aplicados em produtos alimentícios, que exercem um importante papel na sua conservação, distribuição e comercialização devido às suas propriedades funcionais (FALGUERA et al., 2011). Os filmes comestíveis geralmente são preparados separadamente e depois, aplicados na superfície dos alimentos, enquanto os revestimentos são formados diretamente nas superfícies (CORDEIRO DE AZEREDO, 2012).

O revestimento comestível proporciona uma aparência brilhante às frutas e hortaliças, permitem uma maior flexibilidade de manuseio e comercialização, agindo como uma barreira semipermeável, estendendo a vida de prateleira e diminuindo a migração de umidade e soluto, troca de gases, taxas de respiração, bem como reduzir distúrbios fisiológicos nos frutos (HAN; GENNADIOS, 2005; ASSIS et al., 2008; FONSECA; RODRIGUES, 2009; SANCHEZ GONZÁLES et al., 2011). Uma das características diferenciais dos recobrimentos comestíveis é a de serem utilizadas como veículos para incorporação de substâncias com propriedades antimicrobianas (MORADI et al., 2012).

Os revestimentos ou filmes comestíveis não devem interferir na aparência natural do fruto, devem apresentar boa aderência a fim de evitar que sejam facilmente removidos no manuseio, serem biodegradáveis e não devem causar alterações no gosto e odor original (ASSIS et al., 2009).

A demanda por produtos com menos resíduos de agrotóxicos vem sendo bastante discutido, resultando na presença de segmentos de mercado que visam a aquisição de produtos diferenciados (MORANDI; BETTIOL, 2008). Nesse contexto, resultados promissores foram verificados por meio de derivados de vegetais, extratos ou óleos essenciais e revestimentos a base de polímeros biodegradáveis com capacidade de controlar vários tipos de fungos fitopatogênicos (BASTOS; ALBUQUERQUE 2004; MÉDICE et al., 2007; LIMA et al., 2008; CARNELOSSI et al., 2009, ABDOLAHI et al., 2010; KNAAK; FIUZA 2010; MOZÓN-ORTEGA et al., 2018).

Filmes e revestimentos à base de amido, celulose, gomas, proteínas, lipídios e quitosana têm sido recomendados, por serem materiais biodegradáveis e comestíveis. Atualmente, muitas substâncias ativas diferentes, tais como antimicrobianos, antioxidantes, bioativos nutracêuticos, são combinados com materiais formadores de filmes, a fim de obter sistema de liberação controlada (GRANDE-TOVAR et al., 2018).

### **3.1 Quitosana**

A quitosana é um polímero natural de cadeia linear derivado da quitina. A cadeia polimérica da quitosana é constituída por unidades monoméricas 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose e N-acetil-2-desoxi-D-glicopiranosose ligadas por ligações do tipo  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) (PILLAI et al., 2009; WANG, JUNHUA et al., 2016).

A quitosana é formada por cadeias poliméricas que estão fortemente agrupadas devido às interações de hidrogênio que ocorrem ao longo da cadeia polissacarídica. Esta característica do polímero contribui para sua cristalinidade e solubilidade (CHIVANGKUL et al., 2014). A quitosana é insolúvel em água, no entanto, ela pode ser dissolvida em ácidos orgânicos diluídos como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiônico, ácido cítrico e ácido succínico (YING et al., 2011). A solubilização deste polímero em meio ácido ocorre porque os grupos amino são protonados formando um polieletrólito catiônico, com isto aumentam as repulsões entre as cadeias poliméricas, favorecendo este processo (DAMIAN et al., 2005; RINAUDO, 2006).

Este composto possui características biológicas relevantes como biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa toxicidade, atividade microbial, biodegradabilidade enzimática (PENICHE et al., 2008; SINGH; MISHRA, 2013). Em função destas propriedades, a quitosana e seus derivativos têm sido empregados em diversas áreas, como por exemplo, nas áreas biomédica (KUMAR GIRI et al., 2012) e farmacêutica (LARANJEIRA; FÁVERE; 2009; ANIRUDHAN et al., 2016). A quitosana também tem sido aplicada em outros campos como agricultura e indústria de alimentos (PENICHE et al., 2008; YOGESHKUMAR et al., 2013).

O mecanismo de ação da quitosana contra fungos envolve a interação do biopolissacarídeo com a parede celular do microrganismo interferindo diretamente em seu crescimento. Além disso, estudos relatam que oligômeros de quitosana se difundem dentro das hifas fúngicas interferindo na atividade das enzimas responsáveis pelo seu crescimento (GOY et al., 2009). A atividade antifúngica da quitosana é bem documentada na literatura sendo o modelo mais aceito o relacionado à natureza policatiónica que estabelece interação com sítios aniônicos presentes nas paredes celulares dos microrganismos (MENDES et al., 2016).

Os revestimentos à base de quitosana podem ser produzidos com ingredientes adequados para fornecer a proteção de barreira desejada, servindo também como um veículo para a incorporação de aditivos específicos, como antioxidantes e antimicrobianos, que podem melhorar sua funcionalidade (ROMANAZZI et al., 2015).

Estudos vêm demonstrando a eficácia da aplicação da quitosana como filme comestível no aumento da vida pós-colheita de frutas e hortaliças. Esses filmes semipermeáveis com ação antifúngica e bactericida na indústria de alimentos, demonstram ser uma técnica eficaz na preservação destes produtos, mantendo a aparência, frescor, firmeza e o brilho, e aumentando seu valor comercial (NO et al., 2002; VILLADIEGO et al., 2005; CAMILI, 2007). A eficácia da quitosana na inibição de fungos patogênicos em frutas pode também estar relacionada à sua propriedade de induzir o aumento da produção de compostos relacionados à defesa do fruto, como as enzimas polifenol oxidase e peroxidase e compostos fenólicos (PASTOR et al., 2011). Além disso, a estrutura de microporos de revestimentos a base de quitosana pode funcionar como uma barreira diminuindo a taxa de respiração dos frutos, e, conseqüentemente, controlar o processo de senescência (GRANDE-TOVAR et al., 2018).

Camili et al. (2007) avaliaram a ação antifúngica de coberturas de quitosana em frutos de uva “Itália”, sendo verificado que as coberturas de quitosana (1,5 e 2%) suprimiram o crescimento micelial e retardaram a germinação do fungo causador de mofo cinzento, *Botrytis*



*cinerea*, considerado o agente de maior incidência na deterioração desta fruta durante transporte e armazenamento.

### **3.2 Óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus*)**

*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf pertence à família *Poaceae*, originário da Índia. Com condições climáticas semelhantes à sua origem, essa espécie dispersou-se e aclimatou-se por todo o território brasileiro. É conhecido por diversos nomes populares, dentre os mais comuns estão: capim cidró, capim-limão, capim-cidreira, capim cidrão, chá-de-estrada, erva-cidreira e citronela-de-java. É uma erva com caule rizomatoso muito ramificado, escuro, curto, semi-subterrâneo e palhoso, medindo de 0,60 a 3 m de altura. As raízes são fibrosas, escuras e numerosas. As folhas são moles, estreitas e longas (0,50 a 1,0 m), aromáticas, com margens ásperas e cortantes (CASTRO; RAMOS, 2003; GOMES; NEGRELLE, 2003).

*Cymbopogon citratus* tem sua produção mais destacada nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, em especial no Estado do Paraná. O chá preparado a partir das suas folhas é muito utilizado na medicina popular como antiespasmódico, analgésico, anti-inflamatório, ansiolítico, hipnótico, anticonvulsivante, antipirético, diurético e sedativo. O óleo essencial obtido a partir de folhas frescas desta planta é amplamente utilizado pelas indústrias de perfumes, cosméticos e na medicina tradicional para diversas finalidades (SONKER et al., 2014; SANTIN et al., 2009; GBENOU et al., 2013; BLANCO et al., 2009).

Os óleos essenciais são compostos voláteis, naturais, caracterizados por um odor forte e formados por plantas aromáticas como metabólitos secundários, em resposta a estressores, com isso, as condições de crescimento podem afetar a produtividade e o teor do óleo essencial (CALO et al., 2015). Essa mistura de compostos voláteis exerce ações biológicas diferentes em humanos, animais e outras plantas, desempenhando atividades antibacteriana, antiviral, antifúngica e inseticida (BOUKHATEM et al., 2014; CARMO et al., 2013).

Seus constituintes variam desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas e até compostos com enxofre. Na mistura, tais compostos apresentam-se em diferentes concentrações, sendo elas majoritárias ou minoritárias (SIMÕES et al., 2004).

O mecanismo da atividade antifúngica dos óleos essenciais não está bem explicado, embora se saiba que a estrutura e os grupos funcionais dos diferentes compostos desempenham um papel importante na determinação de sua atividade antimicrobiana

(HOLLEY; PATEL, 2005). O modo de ação dos óleos essenciais depende da estrutura química dos seus componentes e de sua capacidade de atravessar a parede celular e penetrar entre as cadeias de ácidos graxos da bicamada lipídica, tornando a membrana celular mais permeável, resultando em morte celular ou inibição da esporulação e germinação dos fungos (SERIO et al., 2010; CHAVES-LÓPEZ et al., 2012; NAZZARO et al., 2017).

Os efeitos antifúngicos propostos para óleos essenciais implicam em uma série de reações, onde a integridade da parede celular e do sistema endomembranar, incluindo a membrana plasmática, mitocôndrias e peroxissomas, está envolvida. Além disso, os óleos essenciais podem causar vazamento do citoplasma, lise e morte celular (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2010a, 2010b; SOUZA et al., 2010). Tem sido relatado que os óleos essenciais afetam negativamente o metabolismo energético nas células fúngicas por meio da inibição de diferentes enzimas, como ATPases, malato desidrogenase e succinato desidrogenase (HU et al., 2017).

O óleo essencial de *C. citratus* é rico em citral, uma mistura isomérica de geranial e neral. Encontram-se também vários aldeídos, como citronelal, isovaleraldeído e decilaldeído; cetonas; álcoois, como geraniol, nerol, metil heptenol, farnesol e terpenos, como depenteno e mirceno. Entre os constituintes fixos da parte aérea, foram encontrados flavonóides, substâncias alcalóidicas, uma saponina esterólica,  $\beta$ -sitosterol, hexacosanol e triacontanol, triterpenóides, cimbopogonol e cimbopogona (SILVA JÚNIOR, 1997). O citral tem efeito antiespasmódico, atividade antibacteriana e antifúngica e analgésica. Essas propriedades terapêuticas foram atribuídas à presença do mirceno, um dos constituintes majoritários do óleo essencial da planta (TESKE et al., 1997; SILVA JÚNIOR, 1997).

### **3. 3 Revestimento de quitosana incorporados a óleos essenciais**

Com a finalidade de diminuir ou evitar o uso de fungicidas sintéticos para prolonguem a vida útil dos frutos, muitos pesquisadores sugerem a combinação de duas ou mais abordagens alternativas (ROMANAZZI et al., 2016).

O uso de óleos essenciais emulsionados incorporados em filmes biodegradáveis ou revestimentos comestíveis contribuem para o fortalecimento da atividade antimicrobiana, reduzindo o desenvolvimento de fungos fitopatogênicos na superfície dos frutos. Revestimentos comestíveis de quitosana enriquecidos com óleos essenciais têm demonstrado atividade antimicrobiana efetiva (SINGH; CHATLI; SAHOO, 2015).

Embora os óleos essenciais possuam forte atividade antimicrobiana, algumas desvantagens de seu uso no controle de doenças fúngicas em frutas são observadas, como sua volatilidade, juntamente com mudanças no odor e sabor e possível fitotoxicidade. (MOHAMMADI; HASHEMI; HOSSEINI, 2015). Como sugerido por Sánchez-González et al. (2011), o principal benefício da incorporação de óleos essenciais em uma matriz polimérica é a redução de sua taxa de difusão, mantendo concentrações mais altas dos compostos ativos em contato com a superfície da fruta, onde ocorreu ou possa ocorrer a contaminação por um período mais prolongado.

As combinações de quitosana e óleos essenciais podem agir sinergicamente, melhorando as propriedades antifúngicas uns dos outros. Provavelmente, os óleos essenciais alteram a superfície e a estrutura da parede celular fúngica, e a quitosana atua como um intensificador, reduzindo a síntese da parede celular (MOHAMMADI et al., 2015). O efeito das combinações de quitosana e óleo essencial contra o crescimento de fungos depende da capacidade de liberar compostos antimicrobianos da matriz polimérica, a qualidade do óleo essencial, espécie fúngica, tipo de fruto e da taxa de respiração do mesmo (PARK et al., 2008).

Estudos têm relatado a eficácia da aplicação de revestimentos à base de quitosana e óleos essenciais no controle de doenças pós-colheita de frutas, bem como, melhorias na qualidade e aumento no tempo de prateleira dos frutos. Dos Santos et al. (2012) verificaram que filmes contendo quitosana (5mg / mL) e óleo essencial de *Origanum vulgare* L. (2,5 µL / mL) causaram altas taxas de inibição na germinação de esporos e diminuição da infecção causada por *Aspergillus niger* em frutos de uva. A combinação de quitosana (1 e 0,05%) e óleo essencial de tomilho (1-5%) também demonstrou eficiência contra *Colletotrichum gloeosporioides* e melhorou a qualidade pós-colheita de frutos de abacate (CORREA-PACHECO et al., 2017). Recentemente, Dantas Guerra et al. (2016) estudaram os efeitos de revestimentos contendo quitosana de camarão e óleo essencial de *Mentha piperita* L. para controlar infecções comuns em cv. de uva de mesa. Isabella (*Vitis labrusca* L.). Os autores verificaram que os revestimentos contendo quitosana (4,8mg / mL) e óleo essencial de *M. piperita* L. (1,25, 2 e 5 µL / mL) retardaram o crescimento de *Rhizopus stolonifer* e reduziram a incidência de infecções causada pelo fungo durante o armazenamento.

O potencial da quitosana e de óleos essenciais utilizados tanto individualmente como em combinações na formulação de coberturas comestíveis, contra a inibição de fungos

fitopatogênicos, causadores de doenças pós-colheita em frutas, é comprovado, representando assim um avanço nas tecnologias de controle de doenças pós-colheita.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDOLAH, A., HASSANI, A., GHOSTA, Y., JAVADI, T., & MESHKATALSADAT, M. H. Essential oils as control agents of postharvest *Alternaria* and *Penicillium* rots on tomato fruits. **Journal of Food Safety**, 30, 341-352, 2010.
- ALMEIDA, D. **Manual de culturas hortícolas**. Lisboa: Editorial Presença, 2006. v. 2, p. 326
- ASSIS, O. B. G.; BRITO, D.; FORATO, L. A. O uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas in natura e minimamente processadas. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, p. 23, 2009.
- ASSIS, O. B. G.; FORATO, L. A.; BRITTO, D. Revestimentos Comestíveis Protetores em Frutos Minimamente Processados. **Higiene Alimentar**, v. 22, n. 160, p. 99-106, 2008.
- BASTOS, C.N.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Efeito do óleo essencial de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.5, p.555-7, 2004.
- BLANCO, M. M.; COSTA, C. A. R. A.; FREIRE, A. O.; SANTOS JR, J. G.; COSTA, M. Neurobehavioral effect of essential oil of *Cymbopogon citratus* in mice. **Phytomedicine**, v. 16, p. 265–270, 2009.
- BOUKHATEM, M.N.; FERHAT, M.A.; KAMELI, A.; SAIDI, F.; KEBIR, H.T. Lemon grass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as a potent anti-inflammatory and antifungal drugs. **Libyan Journal of Medicine**, v. 9, p. 25431, 2014.
- BRASIL. Ministério da Integração Nacional. Secretaria de Infra-Estrutura Hídrica. **Departamento de Desenvolvimento Hidroagrícola**. Melão. Brasília, DF, 2003. 12 p. (FrutiSéries. Ceará, 2)
- BRUTON, B. D. Crater rot. In: ZITTER, T. A.; HOPKINS, D. L.; THOMAS, C. E. (Eds.). Compendium of cucurbit diseases. St. Paul: **APS Press**. p. 49-50. 1996
- CALO, J.R.; CRANDALL, P.G.; O'BRYAN, C.A.; RICKE, S.C. Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. **Food Control**, v. 54, p. 111-119, 2015.
- CAMILI, E. C.; BENATO, E. A.; PASCHOLATI, S. F.; CIA, P. Avaliação de quitosana, aplicada em pós-colheita, na proteção de uva 'Itália' contra *Botrytis cinerea*. **SummaPhytopathologica**, v.33, p.3, p.215-221, 2007
- CARMO, E.S.; CAVALCANTE, N.M.; LIMA, E.O.; PEREIRA, F.O.; GAYOSO, C.W. Treatment of pityriasis versicolor with topical application of essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf – therapeutic pilot study. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 88, n. 3, p. 381-5, 2013.

- CARNELOSSI, P. R., SCHWAN-ESTRADA, K. R. F., CRUZ, M. E. S., ITAKO, A. T., & MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 11, 399-406, 2009.
- CASTRO, L. O. de; RAMOS, R. L. D. Principais gramíneas produtoras de óleos essenciais: *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. capim-cidrô, *Cymbopogon martinii* (Rox.) J.F. Watson, palma-rosa, *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle, citronela, *Elyonurus candidus* (Trin.) Hack, capim-limão, *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash, vetiver. Porto Alegre: **FEPAGRO**, 2003. 31 p. (Boletim FEPAGRO, 11).
- CELIN, E. F.; PASTORI, P. L.; NUNES; G. H. S.; ARAGÃO, F. A. S. Agronegócio brasileiro do melão na última década. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 53., 2014, Palmas. **Anais...** Palmas: ABH, 2014.
- CHAVES-LÓPEZ, C., MARTIN-SÁNCHEZ, M., FUENTES-ZARAGOZA, E., VIUDAMARTOS, M., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J., SENDRA, E., et al. Role of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil as a surface fungus inhibitor on fermented sausages: Evaluation of its effect on microbial and physicochemical characteristics. **Journal of Food Protection**, 75(1), 104–111. 2012.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de Frutas e Hortaliças: Glossário. Lavras: UFLA, 2006.
- CHIVANGKUL, T.; PENGPRECHA, S.; PADUNGROS, P.; et al. Enhanced watersolubility and mucoadhesion of N, N, N-trimethyl-N-gluconate- N-homocysteine thiolactone chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 108, p. 224–231, 2014.
- CORDEIRO DE AZEREDO, H. M. Edible coatings. In S. Rodrigues, & F. A. N. Fernandes (Eds.). *Advances in fruit processing technologies* (pp. 345–361). Boca Raton: **CRC Press Inc.** 2012.
- CORREA-PACHECO, Z. N., BAUTISTA-BAÑOS, S., VALLE-MARQUINA, M.Á., & HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M. The effect of nanostructured chitosan and chitosan-thyme essential oil coatings on *Colletotrichum gloeosporioides* growth in vitro and on cv hass avocado and fruit quality. **Journal of Phytopathology**, 165(5), 297–305. 2017.
- COSTA, C. P. D.; PINTO, C. A. B. P. **Melhoramento de hortaliças**. Piracicaba: ESALQ, 1977.
- COSTA, N. D.; DIAS, R. de C. S.; FARIA, C. M. B. de; TAVARES, S. C. C. de; TERAÓ, D. **Cultivo do melão**. Petrolina, PE: Embrapa Semi-Árido, Circular Técnica, v. 59, p. 67, 2000.
- DAMIAN, C.; BEIRÃO, L. H.; TEIXEIRA, E. Quitosana: Um amino polissacarídeo com características funcionais. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 2, p. 195–205, 2005.
- DANTAS GUERRA, I. C., LIMA DE OLIVEIRA, P. D., FERNANDES SANTOS, M. M., SUASSUNA CARNEIRO LÚCIO, A. S., FECHINE TAVARES, J., BARBOSA-FILHO, J. M., et al. The effects of composite coatings containing chitosan and *Mentha* (*piperita* L. or *x villosa* Huds) essential oil on postharvest mold occurrence and quality of table grape cv. Isabella. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 34 112–12. 2016.
- DOMSCH, K. W.; GAMS, W.; ANDERSON, T-H. *Compendium of soil fungi*. London: Academic Press, 1980. v. 1, 859 p.
- DOS SANTOS, N. S. T., ATHAYDE AGUIAR, A. J. A., DE OLIVEIRA, C. E. V., VERÍSSIMO DESALES, C., DE MELO, E., SILVA, S., et al. Efficacy of the application of a

coating composed of chitosan and *Origanum vulgare* L. essential oil to control *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger* in grapes (*Vitis labrusca* L.). **Food Microbiology**, 32(2), 345–353. 2012

FALGUERA, V., QUINTERO, J. P., JIMÉNEZ, A., MUÑOZ, J. A., & IBARZ, A. Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. **Trends in Food Science & Technology**, 22, 292–303. 2011

FERGANY, M.; KAUR, B.; MONFORTE, A. J.; PITRAT, M.; RYS, C.; LECOQ, H.; DHILLON, N. P. S.; DHALIWAL, S. S. **Variation in Melon (*Cucumis melo*) Landraces adapted to the Humid Tropics of Southern India. Genetic Resources and Crop Evolution**, p. 1-19, 2010.

FIGUEIRÊDO, M. C. B.; GONDIM, R. S.; ARAGÃO, F. A. S. **Produção de melão e mudanças climáticas: Sistemas conservacionistas de cultivo para redução das pegadas de carbono e hídrica**. Brasília; Embrapa, 2017. p. 18-32 (Embrapa Agroindústria Tropical).

FONSECA, S. F.; RODRIGUES, R. S. Utilização de embalagens comestíveis na indústria de alimentos. Trabalho Acadêmico. Universidade Federal de Pelotas, 34 p. 2009.

FONTES, P. C. R.; PUIATTI, M. **Cultura do melão**. In: FONTES, P. C. R. (Ed.). Olericultura: teoria e prática. Viçosa: UFV, 2005. Cap.26. p. 407-428.

GBENOU, J.D.; AHOUNOU, J.F.; AKAKPO, H.B.; LALEYE, A.; YAYI, E.; GBAGUIDI, F.; BABA-MOUSSA, L.; DARBOUX, R.; DANSOU, P.; MOUDACHIROU, M.; KOTCHONI, S.O. Phytochemical composition of *Cymbopogon citrates* and Eucalyptus citriodora essential oils and their anti-inflammatory and analgesic properties on Wistar rats. **Molecular Biology Reports**, v. 40, p. 1127–1134, 2013.

GOMES, E.C.; NEGRELLE, R.R.B. Análise da cadeia produtiva do capim limão: estudo de caso. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n.2, p. 201-209, 2015.

GOMES, P. **Fruticultura Brasileira**, 13. ed. São Paulo: Nobel, 2007.

GOY, R.C., DE BRITO, D., ASSIS, O. B.G., A Review of the antimicrobial activity of chitosan, Polímeros: **Ciência e Tecnologia**, n 3, p. 241-247, 2009.

GRANDE-TOVAR, C.D.; CHAVES-LOPEZ, C.; SERIO, A. ROSSI, C. PAPARELLA, A. Chitosan coatings enriched with essential oils: Effects on fungi involved in fruit decay and mechanisms of action. **Trends in Food Science & Technology**. v. 78, p. 61–71, 2018

HAN, J. H., & GENNADIOS, A. Edible films and coatings: A review. In J. H. Han (Ed.). Innovations in food packaging p. 138–156. San Diego: Elsevier. 2005.

HOLLEY, R. A., & PATEL, D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microbiology**, 22(4), 273–292. 2005.

HORTIFRUTI BRASIL. **Anuário Hortifruti Brasil - Retrospectiva & Perspectiva 2007**. Piracicaba: Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada - USP/ESALQ, ano 5, n. 53, dez. 2006.

HU, Y., ZHANG, J., KONG, W., ZAO, G., & YANG, M. Mechanisms of antifungal and anti-aflatoxigenic properties of essential oil derived from turmeric (*Curcuma longa* L.) on *Aspergillus flavus*. **Food Chemistry**, 220, 1-8. 2017.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA SIDRA: Sistema IBGE de recuperação automática [on line]. Agropecuária: Produção Agrícola Municipal. 2016. Disponível em: < <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/21814-2017-censo-agropecuario.html?=&t=resultados> > Acesso em: 28 de jan. 2019.

KNAAK, N., & FIUZA, L. M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and Conservation**, 5, 120-132, 2010.

LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. DE. Quitosana: Biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 672–678, 2009.

LOMBARD, L.; HOUBRAKEN, J.; DECOCK, C.; SAMSON, R. A.; MEIJER, M. RÉBLOVÁ, M.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS P.W. Generic hyper-diversity in *Stachybotriaceae*. **Persoonia**, v. 36, p. 156-246, 2016.

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

MENDES, L; D; BRESOLIN, J.D; BRITTO, A.O.B.G. Avaliação in vitro da ação da quitosana e de seu derivado quaternizado na inibição do crescimento do fungo *Penicillium expansum*. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, Tupã- Sp, n. 1, p.116-128, mar. 2016.

MENEZES, J. B.; FILGUEIRAS, H. A. C.; ALVES, R. E.; MAIA, C. E.; ANDRADE, G. G.; ALMEIDA, J. H. S.; VIANA, F. M. P. **Características do melão para exportação**. In: ALVES, R. E. (Org.). Melão: pós-colheita. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 2000. p. 13-22. (Frutas do Brasil, 10).

MOHAMMADI, A., HASHEMI, M., & HOSSEINI, S. M. Nanoencapsulation of *Zataria multiflora* essential oil preparation and characterization with enhanced antifungal activity for controlling *Botrytis cinerea*, the casual agent of gray mould disease. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 28, 73 –80. 2015.

MONZÓN-ORTEGA, K.; SALVADOR-FIGUEROA, M.; GALVEZ-LÓPEZ, D.; ROSAS-QUIJANO, R.; OVANDO-MEDINA, I.; VAZQUEZ-OVANDO, A.; Characterization of Aloe vera-chitosan composite films and their use for reducing the disease caused by fungi in papaya Maradol. **J Food Sci Technol**, V. 55, p. 4747–4757, 2018.

MORADI, M.; TAJIK, H.; RAZAVI ROHANI, S. M.; OROMIEHIE, A. R.; MALEKINEJAD, H.; ALIAKBARLU, J.; HADIAN, M. Characterization of Antioxidant Chitosan Film Incorporated with *Zataria multiflora* Boiss Essential Oil and Grape Seed Extract. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, n. 2, p. 477-484, 2012.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Integração de métodos biocompatíveis no manejo de doenças e pragas: experiências em plantas ornamentais e medicinais. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, p. 31-34, 2008.

NAZZARO, F. I. D., FRATIANNI, F., COPPOLA, R., & DE FEO, V. Essential oils and antifungal activity-. **Pharmaceuticals**, 10 86. 2017.

NO, H.K.; PARK, N. Y.; LEE, S. H.; MEYERS, S. P. **International Journal of Food Microbiology**, 74, p. 65, 2002.

- PARK, Y., KIM, M. H., PARK, S.-C., CHEONG, H., JANG, M. K., NAH, J. W. Investigation of the antifungal activity and mechanism of action of LMWS-Chitosan. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, 18(10), 1729–1734. 2008.
- PASTOR, C., SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., MARCILLA, A., CHIRALT, A., CHÁFER, M., & GONZÁLEZ MARTÍNEZ, C. Quality and safety of table grapes coated with hydroxypropylmethylcellulose edible coatings containing propolis extract. **Postharvest Biology and Technology**, 60, 64-70. 2011.
- PENICHE-COVAS, C.; ARGUELLES-MONAL, W.; SAN ROMÁN, J. A kinetic study of the thermal degradation of chitosan and a mercaptan derivative of chitosan. *Polymer Degradation and Stability*, v. 39, n. 1, p. 21–28, 1993.
- PILLAI, C. K. S.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science** (Oxford), v. 34, p. 641–678, 2009.
- RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science** (Oxford), v. 31, p. 603–632, 2006.
- ROBINSON, R. W.; DECKER-WALTERS, D. S. Evolution and exploitation. In: ROBINSON, R. W.; DECKER-WALTERS, D. S. (Ed.). *Curcubis*. New York: CAB International, 1997. Cap. 2, p. 35.
- ROBINSON, R. W.; DECKER-WALTERS, D. S. Evolution and exploitation. In: ROBINSON, R. W.; DECKER-WALTERS, D. S. (Ed.). *Curcubis*. New York: **CAB International**, 1997. Cap. 2, p. 35.
- ROMANAZZI, G., FELIZIANI, E., BAUTISTA BAÑOS, S., & SIVAKUMAR, D. Shelf life extension of fresh fruit and vegetables by chitosan treatment. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 57, 579–601. 2015.
- ROMANAZZI, G., SMILANICK, J. L., FELIZIANI, E., & DROBY, S. Integrated management of postharvest gray mold on fruit crops. **Postharvest Biology and Technology**, 113, 69–76. 2016.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., CHÁFER, M., CHIRALT, A., & GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. **Carbohydrate Polymers**, 82(2), 277–283. 2010a.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C., CHIRALT, A., & CHÁFER, M. Physical and antimicrobial properties of chitosan–tea tree essential oil composite films. **Journal of Food Engineering**, 98(4), 443–452. 2010b
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., PASTOR, C., VARGAS, M., CHIRALT, A., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C., & CHÁFER, M. Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. **Postharvest Biology and Technology**, 60, 57-63.2011.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., PASTOR, C., VARGAS, M., CHIRALT, A., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C., & CHÁFER, M. Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. **Postharvest Biology and Technology**, 60, 57 –63. 2011.
- SANTIN, M.R.; SANTOS, A.O.; NAKAMURA, C.V.; FILHO, B.P.D.; FERREIRA, I.C.P.; UEDA-NAKAMURA, T. In vitro activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* and its



- major componente (citral) on *Leishmania amazonensis*. **Parasitology Research**, v. 105, p. 1489–1496, 2009.
- SENHOR, R. F. **Epidemiologia da podridão-de-cratera em frutos de meloeiro**. 2006. 76 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2006.
- SERIO, A., CHIARINI, M., TETTAMANTI, E., & PAPARELLA, A. (2010). Electronic paramagnetic resonance investigation of the activity of *Origanum vulgare* L. Essential oil on the *Listeria monocytogenes* membrane. **Letters in Applied Microbiology**, 51, 149–157. 2010.
- SILVA JUNIOR, A. A.; VERONA, M. L. F. **Plantas medicinais e aromáticas**. Itajaí, SC: Ministério de Meio Ambiente, Fundo Nacional do Meio Ambiente, 1997. 456 p.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre, RS: Ed. Da UFSC, 2004. 1102 p.
- SINGH, K.; MISHRA, A. Water soluble chitosan nanoparticle for the effective delivery of lipophilic drugs: A review. **International Journal of Applied Pharmaceutics**, v. 5, n. 3, p. 1–6, 2013.
- SINGH, T. P., CHATLI, M. K., & SAHOO, J. Development of chitosan based edible films: Process optimization using response surface methodology. **Journal of Food Science & Technology**, 52(5), 2530–2543. 2015.
- SONKER, N.; PANDEY, A.K.; SINGH, P.; TRIPATHI N.N. Assessment of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf Essential Oil as Herbal Preservatives Based on Antifungal, Antiaflatoxin, and Antiochratoxin Activities and In Vivo Efficacy During Storage. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 4, p. 628-634, 2014.
- SOUZA, N.A.B., DE OLIVEIRA LIMA, E., GUEDES, D. N., DEOLIVEIRA PEREIRA, F., DE SOUZA, E. L., & DE SOUSA, F. B. Efficacy of *Origanum* essential oils for inhibition of potentially pathogenic fungi. Brazilian **Journal of Pharmacology Science**, 46, 499–508. 2010.
- TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Herbarium Compêndio de Fitoterapia**. 3. ed. Curitiba, 1997. 317 p.
- THEICHEL, M.; KIST, B. B.; SANTOS, C. E.; CARVALHO, C.; BELING, R. R. **Anuário Brasileiro da Fruticultura** - 2016. Santa Cruz do Sul. Ed. Gazeta Santa Cruz. 88p. 2016.
- VILLADIEGO, A. M. D.; SOARES, N. F. F; ANDRADE, N. J.; PUSCHMANN, R.; MINIM, V. P. R.; CRUZ, R. Filmes e revestimentos comestíveis na conservação de produtos alimentícios. **Revista Ceres**, v. 52, n. 300, p. 221-244, 2005.
- WANG, J.; WANG, L.; YU, H.; et al. Recent progress on synthesis, property and application of modified chitosan: An overview. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 88, p. 333–344, 2016.
- YING, G. Q.; XIONG, W. Y.; WANG, H.; SUN, Y.; LIU, H. Z. Preparation, water solubility and antioxidant activity of branched-chain chitosan derivatives. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 1787–1796, 2011.
- YOGESHKUMAR, G.; ATUL, G.; ADHIKRAO, Y. Chitosan and Its Applications: A Review of Literature. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 4, n. 1, p. 312–331, 2013.

## CAPÍTULO II

---

**Aplicação combinada de quitosana e óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf no controle de podridão da cratera em frutos de melão**

1 **Aplicação combinada de quitosana e óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf**  
2 **no controle de podridão da cratera em frutos de melão**

3

4

5

6 Samara Alves Macedo<sup>1</sup>, Giovanna Alencar Lundgren<sup>2</sup>, Selma dos Passos Braga<sup>2</sup>, Evandro  
7 Leite de Souza<sup>2</sup>, Marcos Paz Saraiva Câmara<sup>1</sup>

8

9 <sup>1</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900, Recife, Brazil

10 <sup>2</sup> Universidade Federal da Paraíba, 58051-900, João Pessoa, Brazil

11 E-mail:samaramacedo18@hotmail.com;giolundgren@gmail.com; selmaufpb@yahoo.com.br;

12 evandroleitesouza@gmail.com; marcos.camara@ufrpe.br.

13 E-mail do autor corresponde: evandroleitesouza@gmail.com

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

## 29 **Resumo**

30 Este estudo avaliou a eficácia da quitosana (QUI) e do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*  
31 (D.C.) Stapf (OECC) isoladamente ou em combinação no controle do crescimento micelial de  
32 isolados de *Paramyrothecium roridum* causadores de podridão de cratera em frutos de melão  
33 (*Cucumis melo* L.). Ainda, foi verificada a eficácia de revestimentos formulados a partir da  
34 combinação de diferentes concentrações de QUI e OECC no controle do desenvolvimento de  
35 podridão de cratera em frutos de melão. As concentrações de QUI 3,75 e 5 mg/mL testadas  
36 individualmente apresentaram resultados maiores que 50% de inibição do crescimento  
37 micelial radial para todos os isolados de *P. roridum* estudados. As concentrações 0,08, 0,15,  
38 0,3 μL/mL de OECC apresentaram inibição entre 2,07 e 92% de crescimento micelial radial,  
39 enquanto a concentração 0,6 μL/mL apresentou 100% de inibição. Todas as combinações  
40 testadas de QUI (5 mg/mL) + OECC (0,15 ou 0,3 μL/mL) apresentaram interação do tipo  
41 aditivo na inibição do crescimento micelial dos isolados de *P. roridum* testados. A cobertura  
42 formulada com a combinação de 5 mg/mL de QUI + 0,3 μL/mL de OECC apresentou maior  
43 redução no tamanho da lesão nos frutos após quinze dias de armazenamento (0,79 a 1,16 cm  
44 de diâmetro), enquanto o controle negativo apresentou lesões entre 1,68 e 1,89 cm de  
45 diâmetro. A aplicação de revestimentos com QUI e OECC pode ser uma alternativa eficaz  
46 para o controle da podridão de cratera em frutos de melão.

47

48 **Palavras-chave:** Controle pós-colheita; Efeito antifúngico; *Paramyrothecium*; Revestimentos.

49

50

51

52

53

54 **Abstract**

55 This study evaluated the efficacy of chitosan (Chi) and essential oil of *Cymbopogon citratus*  
56 (DC) Stapf (OECC) alone or in combination in controlling the mycelial growth of  
57 *Paramyrothecium roridum* isolates that cause crater rot in melon (*Cucumis melo*) fruits. L.).  
58 Furthermore, the effectiveness of coatings formulated from the combination of different  
59 concentrations of Chi and OECC in controlling the development of crater rot in melon fruits  
60 was verified. The individually tested concentrations of Chi 3.75 and 5 mg / mL showed  
61 results greater than 50% inhibition of radial mycelial growth for all *P. roridum* isolates  
62 studied. OECC concentrations 0.08, 0.15, 0.3  $\mu$ L / mL showed inhibition between 2.07 and 92%  
63 of radial mycelial growth, while 0.6  $\mu$ L / mL showed 100% inhibition. All tested  
64 combinations of Chi (5 mg / ML) + OECC (0.15 or 0.3  $\mu$ L / mL) showed additive-type  
65 interaction in inhibiting mycelial growth of the tested *P. roridum* isolates. Coverage  
66 formulated with the combination of 5 mg / mL Chi + 0.3  $\mu$ L / mL OECC showed the greatest  
67 reduction in fruit lesion size after fifteen days of storage (0.79 to 1.16 cm in diameter), while  
68 the negative control presented lesions between 1.68 and 1.89 cm in diameter. Application of  
69 coatings with Chi and OECC may be an effective alternative to control crater rot in melon  
70 fruits.

71

72 **Keywords:** Antifungal effect; Coatings; *Paramyrothecium*; Postharvest control.

73

74

75

76

77

78

## 79 1. Introdução

80 A fruticultura destaca-se como importante segmento produtivo para diversas regiões  
81 do Brasil, sendo estimada uma produção de 44 milhões de toneladas de frutas em 2017,  
82 mantendo-se como o terceiro maior produtor mundial de frutas (Anuário, 2017). Dentre as  
83 frutas mais produzidas no Brasil, destaca-se o melão (*Cucumis melo* L., família Cucurbitaceae)  
84 pelo elevado volume de produção e boa aceitação por consumidores em todo mundo. A  
85 região Nordeste do Brasil é responsável pela quase totalidade da produção de melão do país,  
86 destacando-se na oferta de melão para o mercado interno e para exportação (IBGE, 2019).

87 Apesar da expansão das áreas de produção e desenvolvimento de tecnologias de  
88 cultivo, a ocorrência de doenças tem contribuído para queda da produtividade e qualidade do  
89 melão produzido no Brasil, pois esses frutos estão suscetíveis à contaminação microbológica  
90 em ambientes de pré ou pós-colheita (Bowen et al., 2006). Dentre as doenças que atacam o  
91 melão, destaca-se a podridão de cratera causada pelo fungo *Paramyrothecium roridum*, tendo  
92 potencial para causar um impacto econômico significativo na produção, sendo responsável  
93 por perdas de até aproximadamente 30% da produção de frutos ainda no campo (Bruton, 1996;  
94 Chen et al., 2018). As lesões no fruto variam de superficiais a profundas, frequentemente em  
95 forma de cratera, com diâmetro de 2 a 50 mm, nas quais são produzidos esporódoquios de cor  
96 verde-oliva e exsudados escuros (Bruton, 1996; Senhor, 2006).

97 O controle da podridão de cratera em frutos de melão tem sido tradicionalmente  
98 realizado pela aplicação de fungicidas sintéticos. Embora os fungicidas sintéticos sejam  
99 eficazes no controle do desenvolvimento dessa doença, o seu uso excessivo tem induzido  
100 resistência a fungos fitopatogênicos (Zheng et al., 2013). Além disso, o uso de fungicidas  
101 sintéticos em frutas tem sido associado ao aumento dos riscos à saúde humana e à  
102 contaminação ambiental (Santos et al., 2012). O uso de revestimentos comestíveis  
103 apresentando propriedades antifúngicas, como a quitosana tem sido citado como tecnologia

104 alternativa para proteger os frutos da ação de fungos causadores de infecções pós-colheita  
105 (Guerra et al., 2015). A quitosana caracteriza-se como um polímero natural de cadeia linear  
106 derivado da quitina, constituído por unidades monoméricas 2-amino-2desoxi-D-glicopirranose  
107 e N-acetil-2-desoxi-D-glicopirranose ligadas por ligações do tipo  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) (Pillai et al., 2009;  
108 Wang, Junhua et al., 2016). A quitosana possui propriedades formadoras de filmes  
109 comestíveis, além de exercer efeito antimicrobiano sobre uma variedade de patógenos de  
110 ocorrência pós-colheita (Guerra et al., 2015; Santos et al., 2012).

111 Estudos têm demonstrado que a aplicação combinada de quitosana e óleos essenciais  
112 exerce efeitos antimicrobianos contra fungos associados com uma variedade de doenças pós-  
113 colheita em frutos (Singh et al., 2015). A aplicação de revestimentos comestíveis a base de  
114 quitosana e óleos essenciais pode explorar a obtenção de efeitos sinérgicos ou aditivos  
115 resultantes da interação dessas substâncias. Estes efeitos antifúngicos quando aumentados  
116 diminuem as doses comumente utilizadas de quitosana e óleos essenciais usados em  
117 formulações de revestimento que são eficazes para inibir organismos-alvo em frutos em  
118 comparação com seu uso separadamente (Guerra, 2015; Guerra, 2016). Ainda, o uso  
119 combinado de baixas doses de quitosana e óleos essenciais na formulação de revestimentos  
120 tem se mostrado eficaz para reduzir potenciais impactos negativos dessas substâncias quando  
121 aplicadas isoladamente em doses mais elevadas sobre a qualidade geral dos frutos (Sousa,  
122 2013; Bosquez-Molina, 2010).

123 O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf. tem mostrado atividade  
124 antimicrobiana de amplo espectro, incluindo a inibição de fungos envolvidos em infecções  
125 pós-colheita de frutos (Shukla, 2009; Sonker et al., 2015). Estudos anteriores relataram os  
126 efeitos do uso combinado de quitosana e óleo essencial de *C. citratus* no controle de podridão  
127 fúngica em tomate, goiaba, manga e mamão (Athayde et al., 2016; Oliveira et al.; 2018),  
128 entretanto não há relato na literatura sobre a eficácia da aplicação combinada de quitosana e  
129 óleos essenciais para controle da podridão de cratera causada por *P. roridum* em melão.

130 Este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia de combinações de quitosana e óleo  
131 essencial de *C. citratus* na inibição do crescimento micelial radial de isolados de *P. roridum*,  
132 bem como de revestimentos formulados com combinações de quitosana e óleo essencial de *C.*  
133 *citratus* para controlar o desenvolvimento de podridão de cratera em frutos de melão.

134

## 135 **1. Material e métodos**

136

### 137 **2.1 Obtenção dos materiais**

138 Os frutos de melão (*Cucumis melo* L.) da variedade *inodorus* do tipo amarelo, em  
139 estágio de maturação comercial (uma semana após a colheita), foram obtidos na Empresa  
140 Paraibana de Serviços Agrícolas (EMPASA), localizada no município de João Pessoa – PB.  
141 Os frutos foram selecionados considerando tamanho uniforme, padrões satisfatórios de  
142 qualidade, sem sinais visíveis de dano mecânico ou infecção microbiana.

143 Os isolados de *P. roridum* CMM4727, CMM4728, CMM4729 e CMM4731 foram  
144 obtidos da Coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos "Profa. Maria Menezes"  
145 (Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife - Brasil). Todos os isolados de *P.*  
146 *roridum* usados nesse estudo foram previamente identificados por meio de filogenia genética  
147 (Borges et al., 2018; Borges et al., 2019). Em ensaio prévio todos os isolados foram capazes  
148 de desenvolver sintomas característicos da podridão de cratera em frutos de melão com  
149 sintomas semelhantes, compreendendo rachaduras superficiais a profundas, geralmente em  
150 forma de cratera, medindo 2 a 50 mm de diâmetro (Bruton, 1996; Senhor, 2006).

151 A Quitosana de médio peso molecular ( $5,6 \times 10^5$  g/mol; grau de desacetilação de 75-  
152 85%) foi obtida da Sigma-Aldrich Co. (St Louis, EUA), o óleo essencial de *C. citratus* foi  
153 obtido da empresa LAZLO Ltda. (Minas Gerais, Brasil) e o fungicida sistêmico foi adquirido  
154 de um estabelecimento comercial na cidade de João Pessoa (Paraíba, Brazil).

155



## 156 **2.2 Identificação dos constituintes do óleo essencial de *Cymbopogon citratus***

157

158 Os constituintes do óleo essencial de *C. citratus* foram identificados por meio da  
159 técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM) utilizando  
160 cromatógrafo modelo CGMS-QP2010 Ultra (Shimadzu, Kyoto, Japão). A análise foi  
161 conduzida sob as seguintes condições analíticas: coluna capilar RTX- 5MS (30 m  
162 Comprimento x 0,25 mm diâmetro interno x 0,25 µm espessura do filme); temperatura  
163 programada de 60 – 240 °C a 3 °C/min; temperatura do injetor, 250 °C; temperatura do  
164 detector, 220 °C; impacto de elétrons, 70 e V; transporte de gás hélio 0,99 mL/min de fluxo;  
165 velocidade linear - 36,4 cm/s, pressão de 57 kPa e escala de massa (m/z), 40 a 500. O volume  
166 de 1µl de óleo essencial de *C. citratus* foi injetado numa solução de 1,0mL de metanol. Os  
167 componentes foram identificados após a comparação dos espectros de massa de cada  
168 constituinte com a base de dados de CG/EM (NIST/EPA/NIH de Massa Espectral Database  
169 Versão 1.7. (Adams, 2001). Os constituintes foram quantificados depois das áreas serem  
170 normalizadas, sendo expressos em percentagem total de área (%) (de Sousa Guedes et al.,  
171 2016).

172

## 173 **2.3 Preparo das soluções de quitosana, óleo essencial e revestimentos**

174

175 As emulsões do óleo essencial de *C. citratus* em diferentes concentrações (0,08; 0,15;  
176 0,3 e 0,6µL/mL) foram obtidas por dissolução do óleo essencial em água destilada e  
177 esterilizada, contendo Tween 80 (1%, v/v; Sigma- Aldrich Corp., St. Louis, MO, EUA) como  
178 agente estabilizante (Maqbool et al., 2011). As soluções de quitosana foram preparadas em  
179 diferentes concentrações (2,5; 3,75; 5,0 e 6,75 mg/mL) após dissolução do polímero em ácido  
180 acético 0,1 M (1 mL/100 mL, pH 5,6; Química Moderna, São Paulo, Brasil) por 24 h a  
181 temperatura ambiente sob agitação (120 rpm). O pH da solução foi ajustado a 5,5 por meio da

182 adição de NaOH a 3M (Química Moderna, São Paulo, Brasil) ou HCl a 0,1 M (Química  
183 Moderna, São Paulo, Brasil) (Ali et al., 2015; Guerra et al., 2015). Para os ensaios de  
184 aplicação do revestimento contendo as combinações de quitosana e óleo essencial de *C.*  
185 *citratrus* em frutos, glicerol (2,5 mL/100mL) foi adicionado à mistura como agente  
186 plastificante imediatamente após a incorporação do óleo essencial de *C. citratrus* na dispersão  
187 de quitosana (Maqbool et al., 2011; Oliveira et al., 2017).

188

#### 189 **2.4 Avaliação do efeito da quitosana e do óleo essencial de *C. citratrus* no crescimento** 190 **micelial de *P. roridum***

191

192 A quitosana ou o óleo essencial de *C. citratrus* foi incorporado ao meio de cultura  
193 (Agar Batata Dextrose, BDA) ainda fundente em quantidade suficiente para alcançar as  
194 concentrações finais desejadas (quitosana: 2,5; 3,75; 5,0; 6,75mg/mL; óleo essencial de *C.*  
195 *citratrus*: 0,08; 0,15; 0,3 e 0,6 µL/L) e, em seguida, o meio foi vertido em placas de Petri de  
196 90 mm de diâmetro. Um disco de 5 mm de diâmetro de meio de cultura contendo propágulos  
197 dos isolados de *P. roridum* provenientes de colônia com 7 dias de idade (cultivadas em BDA)  
198 foi transferido para o centro de cada placa. Como testemunha negativa, utilizou-se apenas o  
199 meio de cultura sem quitosana ou óleo essencial. Como testemunha positiva, foi utilizado o  
200 fungicida sistêmico Nativo® [trifloxistrobina (100 g/L) + tebuconazol (200 g/L)], sendo  
201 utilizada concentração final de 1 mL/L. As placas foram seladas e incubadas em câmaras  
202 incubadoras tipo BOD a 25 °C. As avaliações foram realizadas por medições diárias do  
203 diâmetro das colônias (média de duas medidas diametralmente opostas) com auxílio de um  
204 paquímetro durante dez dias.

205 O percentual de inibição do crescimento micelial (ICM%) foi calculado utilizando a  
206 fórmula:  $ICM\% = [(C-T) / C] \times 100$ , onde C é o diâmetro da colônia no ensaio controle e T é  
207 o diâmetro da colônia crescido em BDA contendo as diferentes concentrações testadas da

208 quitosana ou do óleo essencial de *C. citratus* (Camiletti et al., 2014; Lima et al., 2015;  
209 Oliveira et al., 2017).

210 As concentrações que apresentaram inibição do crescimento fúngico inferior a 100%  
211 foram selecionadas para utilização nos ensaios de verificação do tipo de interação da  
212 combinação das diferentes concentrações de quitosana e do óleo essencial de *C. citratus* na  
213 inibição do crescimento micelial de *P. roridum*.

214

## 215 **2.5 Determinação do tipo de interação das combinações de quitosana e óleo essencial de** 216 ***C. citratus* sobre isolados de *P. roridum***

217

218 Para definir o tipo de interação entre as diferentes combinações de quitosana e do óleo  
219 essencial de *C. citratus*, foi calculado o percentual de inibição do crescimento micelial  
220 causado pela quitosana (5 mg/mL) e pelo óleo essencial (0,08; 0,15 e 0,3 µL/mL)  
221 isoladamente e em combinação), determinando-se, assim, o ICM% observado (ICM% obs).  
222 Para realização desses ensaios, foram utilizados os mesmos procedimentos descritos para  
223 avaliação do efeito inibitório sobre o crescimento micelial de *P. roridum* (Oliveira et al.,  
224 2017).

225 O tipo de interação das diferentes combinações de quitosana e óleo essencial de *C.*  
226 *citratus* foi determinada por meio do método de Abbott (Kosman e Cohen, 1996; Camiletti et  
227 al., 2016). Primeiramente, o ICM% esperado para cada combinação de quitosana e óleo  
228 essencial de *C. citratus* foi calculado, usando a seguinte fórmula:

229

$$230 \quad \text{ICM\%esp} = \text{ICMQUI\%obs} + \text{ICMOECCobs\%} - (\text{ICMQUI\%} \times \text{ICMOECC\%}) / 100$$

231

232 Onde, ICMQUI%obs e ICMOECCobs% são os valores individuais de ICM%  
233 observados para quitosana e óleo essencial de *C. citratus* nas diferentes concentrações

234 testadas, respectivamente. Subsequentemente, o tipo de interação das diferentes combinações  
235 de quitosana e óleo essencial de *C. citratus* sobre o crescimento micelial fúngico foi  
236 determinado através do Índice de Abbott (IA), como segue:  $IA = ICM\% \text{ obs} / ICM\% \text{ esp}$ . A  
237 determinação do efeito foi designada quando observado:  $IA \geq 1,5$  efeito sinérgico;  $IA \geq 0,5 -$   
238  $<1,5$  efeito aditivo e  $IA < 0,5$  efeito antagônico (Kosman e Cohen, 1996; Camiletti et al., 2016;  
239 Oliveira et al., 2017).

240

## 241 **2.6 Avaliação do efeito da aplicação do revestimento formado por quitosana e óleo** 242 **essencial de *C. citratus* no desenvolvimento de lesões de cratera em melão**

243

244 Os frutos de melão foram higienizados com água potável e detergente, em seguida  
245 imersos em solução de hipoclorito de sódio a 1% por 5 minutos e lavados em água destilada  
246 (Oliveira et al., 2017). Depois de secos à temperatura ambiente, os frutos foram feridos com o  
247 auxílio de cinco agulhas esterilizadas (3 mm de profundidade e 2 mm de largura) em lados  
248 opostos, resultando em dois ferimentos por fruto (Lima et al., 2015).

249 Posteriormente, os frutos foram imersos em 500 mL da dispersão de quitosana (5  
250 mg/mL) contendo as concentrações do óleo essencial de *C. citratus* (0,15 e 0,3  $\mu\text{L/mL}$ ), com  
251 suave agitação durante cinco minutos. Em seguida, os frutos foram expostos sobre papel filtro  
252 absorvente para secagem sob temperatura ambiente. Após o procedimento de secagem, um  
253 disco de 5 mm de diâmetro de meio de cultura contendo propágulos dos isolados de *P.*  
254 *rorida* com 7 dias de idade (cultivado em BDA) foi transferido para o ferimento, sendo  
255 fixado com o uso de fita adesiva na superfície do fruto (Lima et al., 2015).

256 Os frutos foram acomodados em recipientes de polietileno esterilizados contendo  
257 papéis toalha umedecidos com água destilada, e, em seguida, envolvidos com saco plástico a  
258 fim de formar uma câmara úmida. As embalagens foram acondicionadas em câmaras tipo  
259 BOD à 25 °C. Após 48 horas de acondicionamento, os sacos plásticos e os papéis toalha

260 foram retirados, mantendo-se os frutos armazenados durante 15 dias (Lima et al., 2015). As  
261 medições das lesões característica de podridão de cratera foram feitas diariamente com auxílio  
262 de um paquímetro (média de duas medidas diametralmente opostas). Paralelamente, controles  
263 negativo e positivo foram incluídos e ensaiados de forma semelhante. Para o controle  
264 negativo utilizou-se água destilada esterilizada contendo glicerol (2,5 mL/100 mL; pH 5,6). O  
265 controle positivo consistiu na aplicação do fungicida sistêmico [Nativo®, trifloxistrobina (100  
266 g/L) + tebuconazol (200 g/L), concentração final aplicada sobre o fruto: 1 mL/mL] (Lima et  
267 al., 2015).

268

## 269 **2.7 Análise de dados**

270 As análises dos efeitos sobre o crescimento micelial fúngico foram realizadas em  
271 triplicata em três experimentos independentes. As análises de desenvolvimento das lesões nos  
272 frutos consistiram em quatro repetições para cada tratamento e dois frutos por repetição em  
273 dois experimentos independentes. Todos os resultados foram expressos como a média dos  
274 dados obtidos em cada repetição. Inicialmente, os dados foram avaliados de forma a obter a  
275 ordem de descrição das variáveis (média e coeficiente de variação). Posteriormente, foram  
276 realizadas análises inferenciais (ANOVA, seguida de teste de Tukey) para determinar  
277 diferenças ( $p \leq 0,05$ ) entre os resultados obtidos. A Análise de regressão foi utilizada para  
278 avaliar o crescimento micelial dos isolados. A Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença  
279 foi utilizada para avaliação da severidade da doença. As análises estatísticas foram realizadas  
280 utilizando o pacote estatístico Sisvar Versão X.X, Build 86 - DEX-UFLA.

281

## 282 **2. Resultados**

### 283 **3.1 Identificação dos constituintes do óleo essencial de *Cymbopogon citratus***

284 Na análise dos constituintes do óleo essencial de *C. citratus* foram identificados 9  
 285 diferentes constituintes (Tabela 1), resultando em 87,82% da massa total do óleo essencial. O  
 286 óleo essencial de *C. citratus* apresentou citral (40,01%) e geranial (36,51%) como  
 287 componentes majoritários, seguido por limoneno (5,72%) e uma variedade de outros  
 288 constituintes com concentração entre 0,04 e 1,64%.

289

290 **Tabela 1.** Constituintes identificados no óleo essencial de *Cymbopogon citratus*. Os resultados são  
 291 expressos como porcentagem (%) da área total.

Tempo de retenção (min)	Índice de retenção linear (IRL)	Constituintes	%
5:75	927	4-Metil-2,3-dihidrofurano	0,04
6:94	969	β- pinemo	1,64
7:28	981	6-Metil-5-hepteno-2-one	0,46
8:37	1027	Nerol	1,19
8:73	1024	Limonemo	5,72
11:40	1082	Linalol	1,54
18:87	1267	Citral	40,01
21:97	1337	Geranial	36,51
25:42	1575	Óxido de Cariofileno	0,72

292

### 293 **3.2 Efeito da quitosana e do óleo essencial de *C. citratus* sobre o crescimento micelial *in*** 294 ***vitro* de isolados de *P. roridum***

295 Os valores do percentual de inibição do crescimento micelial radial (ICM%) causado  
 296 pela quitosana e óleo essencial de *C. citratus* sobre isolados de *P. roridum* estão apresentados  
 297 na Tabela 2. Todas as concentrações de quitosana testadas (2,5; 3,75; 5 e 6,75 mg/mL)  
 298 causaram ICM% maiores que 50% frente aos isolados de *P. roridum* testados, com exceção  
 299 da concentração de 2,5 mg/mL que causou 78% de ICM apenas frente ao isolado *P. roridum*  
 300 4728. Para os demais isolados, os valores de ICM% causados pelas concentrações de  
 301 quitosana testadas variaram entre 40 e 46,5%. As concentrações de quitosana testadas  
 302 causaram menores valores de ICM ( $p \leq 0,05$ ) frente aos isolados de *P. roridum* quando  
 303 comparado ao fungicida comercial [Trifloxistrobina (100g/L) e Tebucanazol (200g/L)],

304 com exceção da concentração de 6,75 mg/mL que causou ICM frente aos isolados *P. roridum*  
 305 4728 e 4729 similar ( $p > 0,05$ ) ao fungicida comercial.

306 A concentração de 0,6  $\mu\text{L/mL}$  do óleo essencial de *C. citratus* causou 100% de ICM  
 307 frente a todos os isolados de *P. roridum* testados, o qual foi similar ( $p > 0,05$ ) à inibição  
 308 causada pelo fungicida comercial. A concentração de 0,3  $\mu\text{L/mL}$  do óleo essencial de *C.*  
 309 *citratus* causou ICM entre 75,9% - 100% frente os isolados de *P. roridum* testados. As  
 310 concentrações de 0,08 e 0,15  $\mu\text{L/mL}$  do óleo essencial de *C. citratus* exerceram fraco efeito  
 311 inibidor sobre o crescimento micelial (ICM: 2% - 8,1%) ou mesmo nenhuma inibição (ICM: -  
 312 3%) dos isolados de *P. roridum* testados.

313

314 **Tabela 2.** Percentual de inibição do crescimento micelial radial (ICM%) de isolados de *P. roridum* após  
 315 dez dias de exposição a diferentes concentrações de quitosana e do óleo essencial de *C. citratus* (OECC)  
 316 em meio sólido (25 °C).

Concentrações	ICM (%)			
	<i>P. roridum</i> 4727	<i>P. roridum</i> 4728	<i>P. roridum</i> 4729	<i>P. roridum</i> 4731
<b>Quitosana</b>				
2,5 mg/mL	40 b	78,4 b	42,1 b	46,5 b
3,75 mg/mL	53,8 c	96,6 c	58,1 c	67,7 c
5 mg/mL	55 c	82,5 b	70,7 d	64,7 c
6,75 mg/mL	66,8 c	97,9 c	91,4 e f	70,4 c
Controle negativo*	0 a	0 a	0 a	0 a
Fungicida comercial**	100 d	100 c	100 f	100 d
CV (%) =	11,13	6,76	19,28	11,51
<b>OECC</b>				
0,08 $\mu\text{L/mL}$	3,4 a	2 a	7,2 a	-3 a
0,15 $\mu\text{L/mL}$	52,4 b	1,5 a	8,1 a	3,6 a
0,3 $\mu\text{L/mL}$	100 c	92 b	75,9 b	82,5 b
0,6 $\mu\text{L/mL}$	100 c	100 c	100 c	100 c
Controle negativo*	0 a	0 a	0 a	0 a
Fungicida comercial**	100 c	100 c	100 c	100 c
CV (%) =	23,75	20,40	20,70	19,88

317 \*Meio de cultura sem QUI ou OECC

318 \*\*Trifloxistrobina (100g/L) + Tebucanazol (200 g/L)

319 Os valores médios na mesma coluna seguidos de letras minúsculas diferentes diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ ) de  
 320 acordo com o teste de Tukey.

321

322 De acordo com a regressão linear realizada para o crescimento micelial radial fúngico,  
 323 o aumento das concentrações de óleo essencial de *C. citratus* provocou a diminuição no  
 324 crescimento micelial dos isolados de *P. roridum* quando comparada com o controle negativo.  
 325 A concentração de 0,6  $\mu\text{L/mL}$  do óleo essencial de *C. citratus* foi a mais eficaz na inibição

326 dos isolados testados, pois não apresentou diferença significativa quando comparado ao efeito  
327 causado pelo fungicida comercial testado. No entanto, as concentrações de 0,08 e 0,15 µL/mL  
328 do óleo essencial de *C. citratus* não diferiram estatisticamente ( $p > 0,05$ ) do controle negativo.  
329 As concentrações de quitosana provocaram a diminuição no crescimento micelial de todos os  
330 isolados de *P. roridum* quando comparadas com o controle negativo. Os valores de  $R^2$  das  
331 concentrações do óleo essencial *C. citratus* e da quitosana para cada isolado de *P. roridum*  
332 testado são apresentados nas Figuras 5 e 6, respectivamente.

333 As concentrações de 0,08; 0,15 e 0,3 µL/mL do óleo essencial de *C. citratus* foram  
334 selecionadas para inclusão nos ensaios de avaliação do tipo de interação quando da sua  
335 aplicação combinada por apresentarem, frente a maioria dos isolados, menos de 100% de  
336 inibição do crescimento micelial dos isolados de *P. roridum*. A concentração de 5 mg/mL de  
337 quitosana foi selecionada para uso no ensaio de avaliação do tipo de interação por apresentar  
338 inibição do crescimento micelial dos isolados de *P. roridum* 55 e 82,5%, além de ter sido a  
339 menor concentração de quitosana testada capaz de formar uma solução viscosa com  
340 características desejáveis para a formulação de revestimento, permitindo, assim, sua aplicação  
341 nos frutos de melão.

342

343

344

345

346

347

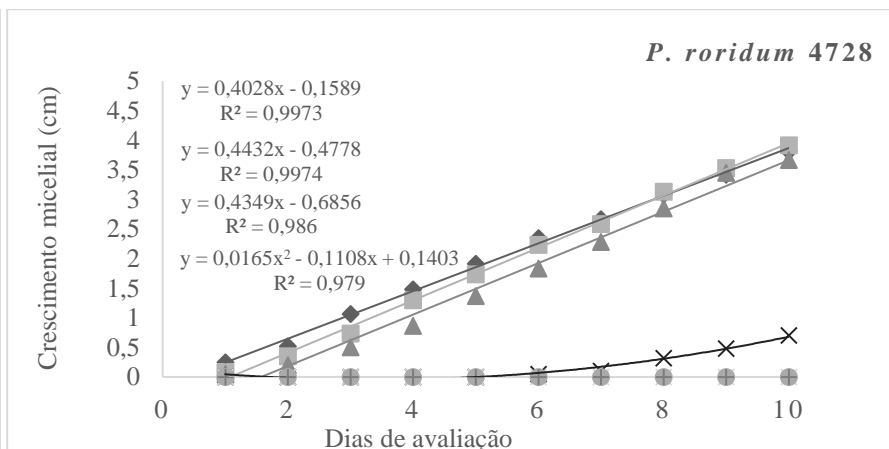
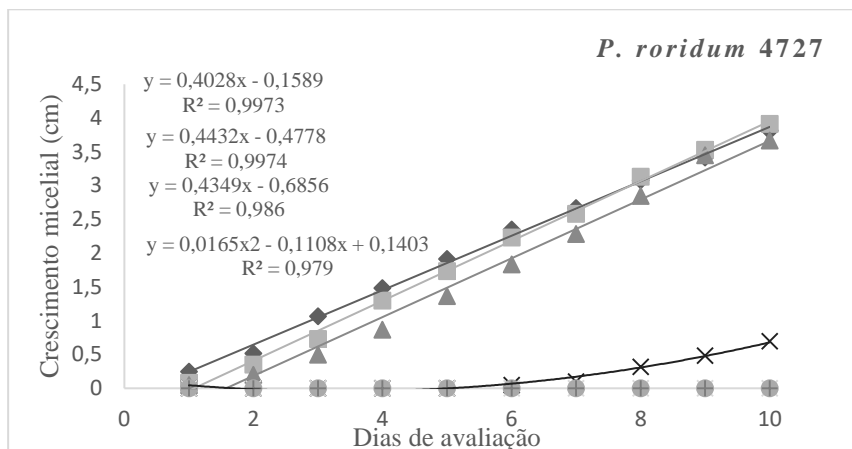
348

349

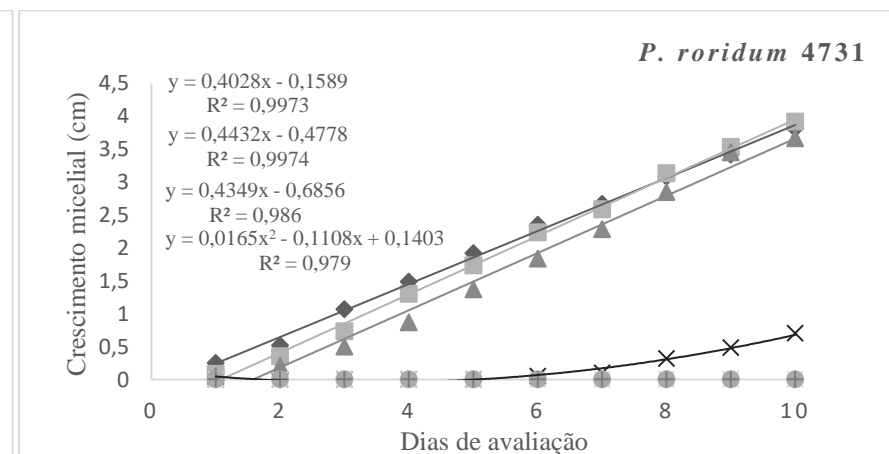
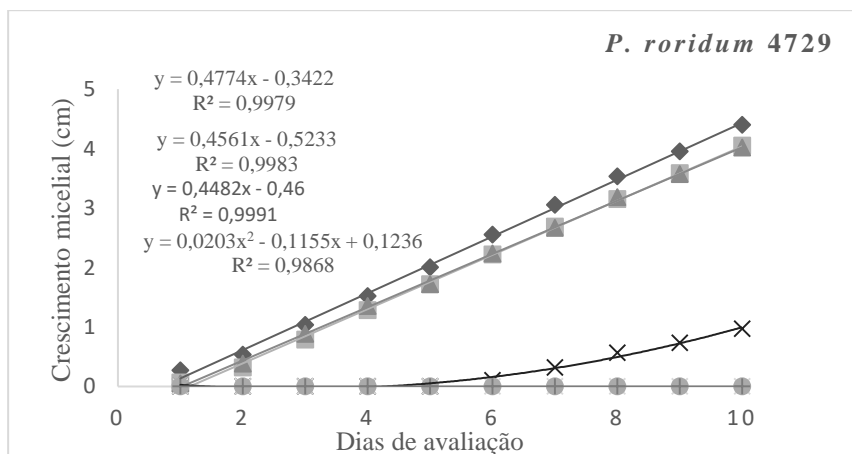
350



351



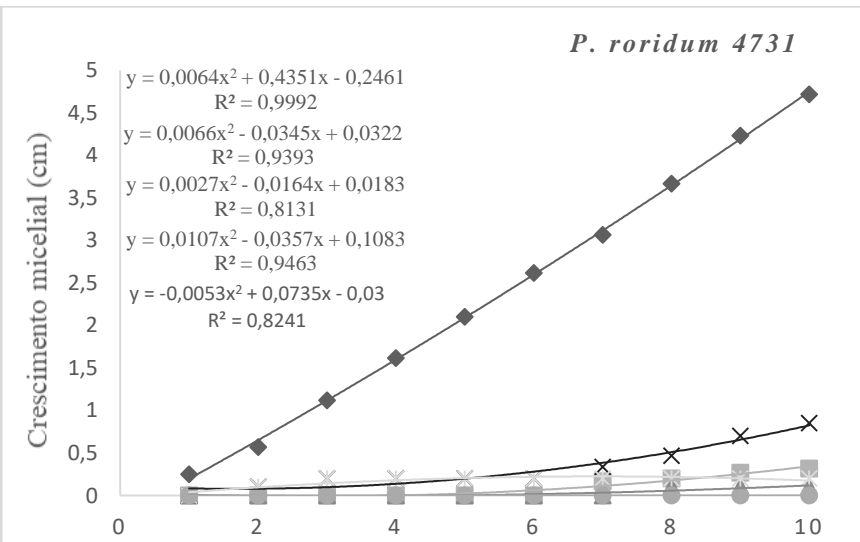
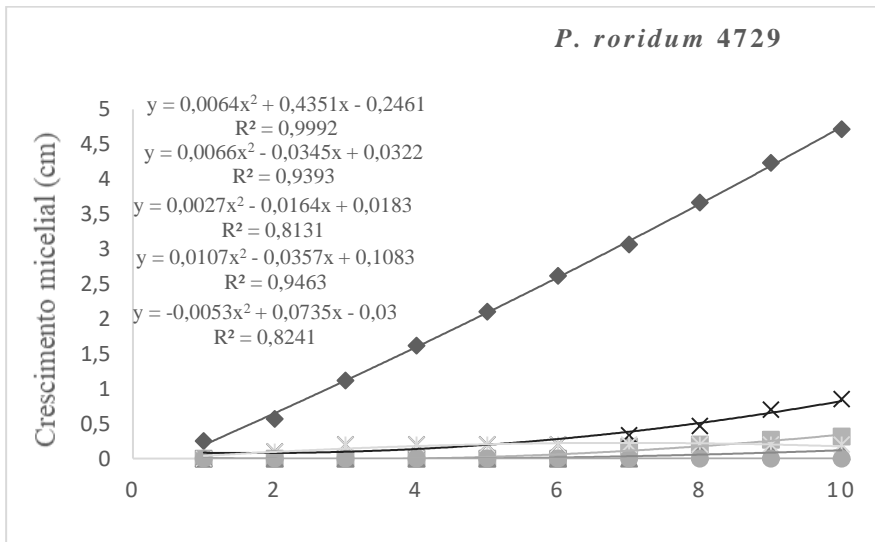
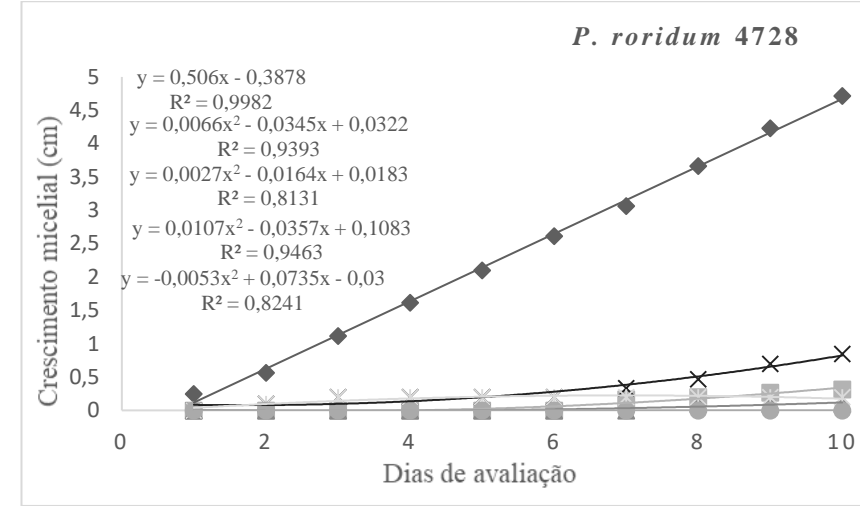
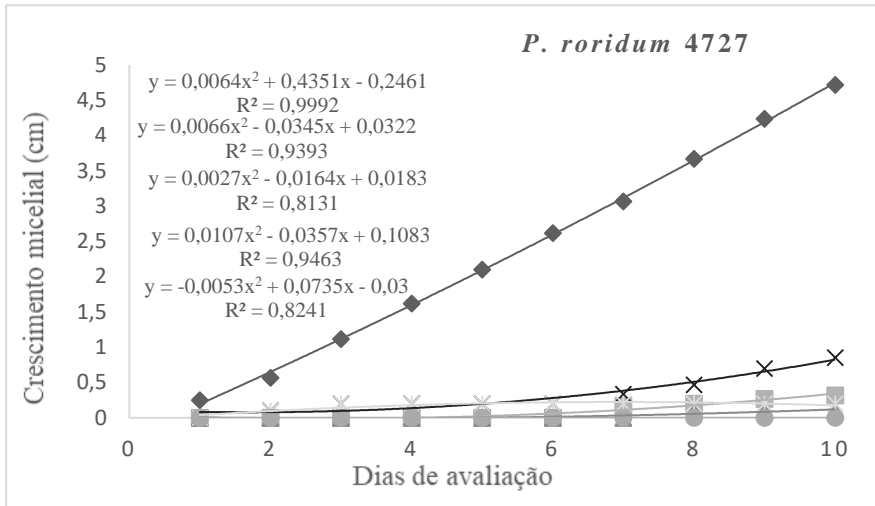
352



353

354 **Figura 3.** Curva de regressão linear do crescimento micelial radial de isolados de *P. roridum* (4727,4728, 4729 e 4731) em BDA contendo diferentes concentrações  
355 do óleo essencial de *C. citratus* durante 10 dias (25 °C). Losango: Controle positivo; Quadrado: 0,08 µL/mL; Triângulo: 0,15 µL/mL; X: 0,3 µL/mL; Asterisco: 0,6  
356 µL/mL e Círculo: Fungicida.

357



358

359

360 **Figura 4.** Curva de regressão linear do crescimento micelial radial de isolados de *P. roridum* (4727, 4728, 4729 e 4731) em BDA contendo diferentes concentrações  
 361 de quitosana durante 10 dias (25 °C). Losango: Controle positivo; Quadrado: 2,5 mg/mL; Triângulo: 3,75 mg/mL; X: 5 mg/mL; Asterisco: 6,25 mg/mL e Círculo:  
 362 Fungicida

363 **3.3 Determinação do tipo da interação de combinações compostas por quitosana e o óleo**  
364 **essencial de *C. citratus***

365 Foram avaliadas três diferentes combinações de quitosana e óleo essencial de *C.*  
366 *citratus* (5 mg/mL de quitosana + 0,08; 0,15 ou 0,3 µL/mL do óleo essencial de *C. citratus*)  
367 para determinar a ocorrência de interações sinérgicas, aditivas ou antagônicas na inibição dos  
368 isolados de *P. roridum* testados. Todas as combinações de quitosana e óleo essencial de *C.*  
369 *citratus* testadas apresentaram interação aditiva na inibição dos isolados de *P. roridum*, com  
370 valores de Índice de Abbott entre 0,85 e 1,17 (Tabela 3). A combinação de 5 mg/mL de  
371 quitosana + 0,3 µL/mL do óleo essencial de *C. citratus* causou 100% de ICM frente a todos os  
372 isolados de *P. roridum*. Por sua vez, as combinações de 5 mg/mL de quitosana + 0,08 ou 0,15  
373 µL/mL do óleo essencial de *C. citratus* causaram valores de ICM entre 61,04 e 82,10% frente  
374 aos isolados de *P. roridum*.

375 As combinações de 5 mg/mL de quitosana + 0,15 ou 0,3 µL/mL do óleo essencial de  
376 *C. citratus* foram selecionadas para avaliar sua eficácia na redução da severidade da podridão  
377 de cratera causada em frutos de melão por apresentarem efeitos aditivos frente todos os  
378 isolados de *P. roridum* testados e causarem ICM% entre 77,35 e 100% frente a três dos quatro  
379 isolados, especificamente *P. roridum* 4728, 4729 e 4731.

380

381

382

383

384

385

386

387

388 **Tabela 3.** Efeitos da quitosana (QUI) e do óleo essencial de *C. citratus* (OECC) isoladamente e em combinações na inibição do crescimento  
 389 micelial (ICM) de isolados de *P. roridum*, e tipo de interação de QUI e do OECC na inibição dos isolados de *P. roridum*.

Isolado	Combinações	Inibição do crescimento micelial		Combinações		Índice de Abbott	Tipo de interação	390
		QUI %	OECC%	Inibição do crescimento micelial esperada %	Inibição do crescimento micelial observada %			
<i>P. roridum</i> 4727	QUI 5 mg/mL+ 0,08 µL/mL OECC	55	3,42	56,54	61,04	1,07	Aditivo	392
	QUI 5 mg/mL+ 0,15 µL/mL OECC	55	52,36	78,56	67	0,85	Aditivo	393
	QUI 5 mg/mL+ 0,3 µL/mL OECC	55	100	100	100	1	Aditivo	394
<i>P. roridum</i> 4728	QUI 5 mg/mL+ 0,08 µL/mL OECC	82,47	2,07	82,83	76,14	0,92	Aditivo	395
	QUI 5 mg/mL+ 0,15 µL/MI OECC	82,47	1,52	82,73	82,10	1	Aditivo	396
	QUI 5 mg/mL+ 0,3 µL/mL OECC	82,47	92	98,59	100	1,01	Aditivo	397
<i>P. roridum</i> 4729	QUI 5 mg/mL+ 0,08 µL/mL OECC	70,56	7,17	72,67	65,74	0,9	Aditivo	398
	QUI 5 mg/mL+ 0,15 µL/mL OECC	70,56	8,08	72,93	79,87	1,09	Aditivo	399
	QUI 5 mg/mL+ 0,3 µL/mL OECC	70,56	74,94	92,91	100	1,07	Aditivo	400
<i>P. roridum</i> 4731	QUI 5 mg/mL+ 0,08 µL/mL OECC	64,71	-3	63,65	65,43	1,02	Aditivo	401
	QUI 5 mg/mL+ 0,15 µL/mL OECC	64,71	3,61	65,98	77,35	1,17	Aditivo	402
	QUI 5 mg/mL+ 0,3 µL/mL OECC	64,71	82,48	93,81	100	1,06	Aditivo	403

401

402

403

404

405

406

407

408

409 **3.4 Efeito da aplicação de revestimentos formados por quitosana e óleo essencial de *C.***  
 410 ***citratus* na inibição sobre a severidade de lesões de podridão de cratera em frutos de**  
 411 **melão**

412

413 Os efeitos inibitórios dos revestimentos formados pelas combinações de quitosana (5  
 414 mg/mL) e óleo essencial de *C. citratus* (0,15 e 0,3 µL/mL), bem como pelo fungicida  
 415 comercial sobre a severidade da lesão de podridão de cratera induzida pelos isolados de *P.*  
 416 *roridum* testados em frutos de melão armazenados à temperatura de 25 ° C são apresentados  
 417 na Tabela 4. Os frutos de melão revestidos com os tratamento de 5 mg/mL de quitosana +  
 418 0,15 ou 0,3 µL/mL do óleo essencial de *C. citratus* e infectados artificialmente com os  
 419 isolados de *P. roridum* apresentaram lesões com diâmetro variando entre 0,79 e 1,52 cm, os  
 420 quais apresentaram diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) em relação ao controle negativo (frutos  
 421 tratados com água destilada + glicerol 2%, diâmetro da lesão variando entre 1,68 e 1,89 cm).  
 422 Entre os tratamentos, a combinação de 5 mg/mL de quitosana + 0,3 µL/mL do óleo essencial  
 423 de *C. citratus* apresentou as maiores reduções no diâmetro da lesão nos frutos (diâmetro 0,79 -  
 424 1,16 cm). A aplicação do fungicida comercial causou o desenvolvimento de lesões com os  
 425 menores diâmetros (0,42 - 0,60 cm) nos frutos ( $p \leq 0,05$ ).

426

427 **Tabela 4.** Efeito do revestimento formado por combinações aditivas de quitosana (QUI) e óleo  
 428 essencial de *C. citratus* (OECC) sobre a severidade (diâmetro, cm) das lesões de podridão de  
 429 cratera causada por isolados de *P. roridum* em frutos de melão após 15 dias de armazenamento  
 430 (25 °C).

Tratamentos	Diâmetro da lesão (cm)			
	<i>P. roridum</i> 4727	<i>P. roridum</i> 4728	<i>P. roridum</i> 4729	<i>P. roridum</i> 4731
QUI 5 mg + OECC 0,15 µL/mL	1,19 a	1,17 a	1,46 a	1,52 a
QUI 5mg + OECC 0,3 µL/mL	0,79 b	0,94 b	0,99 b	1,16 b
Controle negativo*	1,68 c	1,70 c	1,73 c	1,89 c
Fungicida comercial**	0,51 d	0,53 d	0,42 d	0,60 d
CV (%)	9,98	11,77	8,63	12

431 \*Água destilada + glicerol (2,5 g/100 mL)

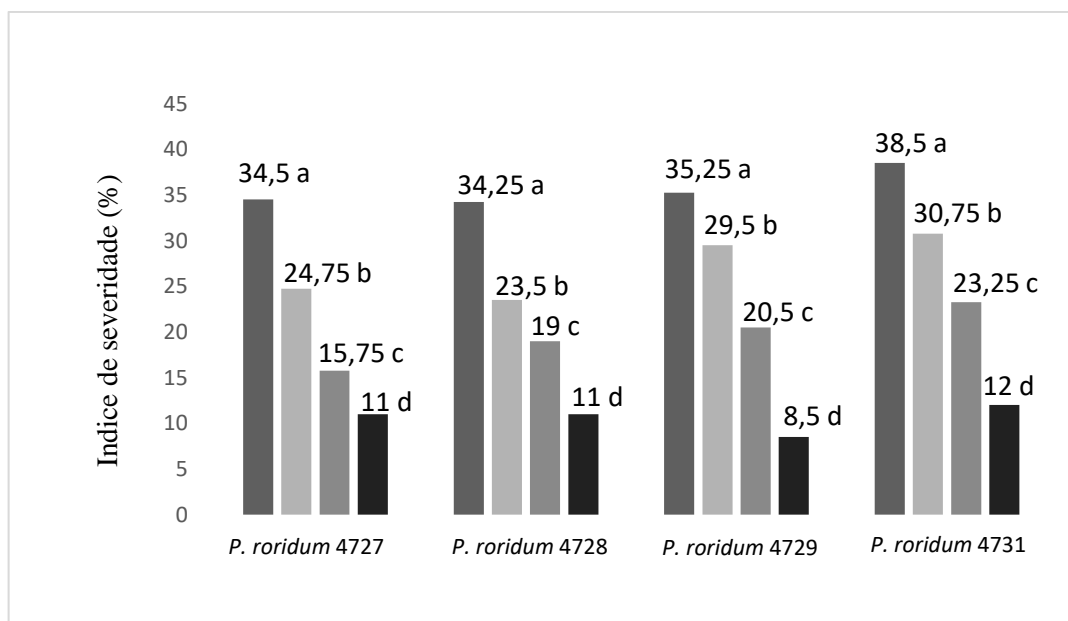
432 \*\*Trifloxistrobina (100g/L) + Tebucanazol (200 g/L)

433 Os valores médios na mesma coluna seguidos de letras minúsculas diferentes diferem significativamente ( $p \leq 0,05$ )  
434 de acordo com o teste de Tukey.

435

436 Os resultados da análise dos dados da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença  
437 mostraram que a combinação de 5 mg/mL quitosana + 0,3  $\mu$ L/mL do óleo essencial de *C.*  
438 *citratus* apresentou a melhor inibição da evolução da severidade da doença (área lesionada do  
439 fruto), com índices de severidade variando entre 15,75 e 23,25%. O controle negativo, por sua  
440 vez, apresentou índices de severidade entre 34,25 e 38,5%. O fungicida sintético apresentou  
441 melhores resultados dentre todos os tratamentos, com índices de severidade entre 8,5 e 12%  
442 (Figura 7).

443



444

445 **Figura 5.** Eficácia das combinações de quitosana e óleo essencial de *C. citratus* na  
446 redução da severidade das lesões de podridão de cratera induzidas por *P. roridum* em  
447 frutos de melões. Médias seguidas de letra diferentes para um mesmo isolado apresentam  
448 diferença significativa entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Controle, 0,15 $\mu$ L/mL,  
449 0,3 $\mu$ L/mL e Fungicida, respectivamente.

450

### 451 3. Discussão

452 Os ensaios de avaliação do efeito inibitório sobre o crescimento micelial fúngico  
453 mostraram que a quitosana e o óleo essencial de *C. citratus* exerceram efeitos inibitórios sobre  
454 o crescimento dos isolados de *P. roridum* testados. A maior concentração testada do óleo

455 essencial de *C. citratus* (0,6 µL/mL) causou total inibição do crescimento micelial dos quatro  
456 isolados de *P. roridum* testados, enquanto, das quatro concentrações de quitosana ensaiadas  
457 (2,5; 3,75; 5 e 6.75 mg/mL), apenas a concentração de 2,5 mg/mL causou inibição do  
458 crescimento micelial menor que 50% frente três (4727, 4729 e 4731) dos quatro isolados de *P.*  
459 *roridum* testados. Estudos anteriores têm relatado efeitos inibitórios da quitosana e do óleo  
460 essencial de *C. citratus* quando testados isoladamente frente a diversas espécies de fungos  
461 (El-Mohamedy et al., 2015; Oliveira et al., 2018); entretanto, não há relatos na literatura sobre  
462 o efeito inibitório dessas substâncias sobre *P. roridum*. Aquino et al. (2014) relataram inibição  
463 total da germinação dos conídios de *C. gloeosporioides* isolado de maracujá quando exposto  
464 ao óleo essencial de *C. citratus* (1 e 3 µL/mL). Carnelossi et al. (2009) relataram forte  
465 inibição da germinação de conídios e do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* isolado  
466 de mamão quando expostos ao óleo essencial de *C. citratus* (10 – 50 µL/mL).

467 Os componentes dos óleos essenciais podem atuar na inibição do crescimento fúngico  
468 por meio de interferência nas reações enzimáticas de síntese de componentes da parede  
469 celular, afetando, conseqüentemente, a morfogênese das hifas e o crescimento fúngico  
470 (Rasooli et al., 2006). Ainda, esses componentes podem atuar inibindo a síntese ou  
471 interagindo diretamente com o ergosterol, o qual é um componente essencial para manutenção  
472 da integridade celular e crescimento normal de fungos (Pinto et al., 2006; Pinto et al., 2009;  
473 Ahmad et al., 2011; Hyldgaard et al., 2012; Tian et al., 2012). O citral, componente  
474 majoritário de óleo essencial de *C. citratus*, pode causar a ruptura irreversível da membrana  
475 celular fúngica por meio de reações de ligação transversal com componentes dessa organela  
476 celular, induzindo perdas de eletrólitos, com posterior depleção do conteúdo de aminoácidos e  
477 açúcares do citoplasma (Ali et al., 2016). As propriedades antifúngicas da quitosana têm sido  
478 associadas com a sua capacidade de aderir à superfície da célula fúngica, como consequência  
479 das cargas positivas dos seus grupos amino livres, causando alteração da estrutura e  
480 permeabilidade da membrana citoplasmática e desequilíbrio osmótico interno na célula

481 fúngica (Grande Tovar et al., 2018). Leveduras e fungos filamentosos são citados como  
482 grupos microbianos mais sensíveis à ação antimicrobiana da quitosana (Aider, 2010).

483 As combinações de quitosana (5 mg/mL) e óleo essencial de *C. citratus* (0,08; 0,15 e  
484 0,3 µL/mL) ensaiadas apresentaram interação aditiva na inibição de todos os isolados de *P.*  
485 *roridum* testados. Altas taxas de inibição do crescimento fúngico decorrente da ação de  
486 substâncias atuando isoladamente podem aumentar a possibilidade de estabelecimento de  
487 interações aditivas ao invés de interações sinérgicas quando essas substâncias são testadas em  
488 combinação com outras substâncias antifúngicas, particularmente, quando o tipo de interação  
489 é avaliado por meio da determinação do Índice de Abbott (Kosman e Cohen, 1996; Oliveira et  
490 al, 2018). No presente estudo, a aplicação de quitosana (5 mg/mL) isoladamente causou forte  
491 inibição do crescimento micelial de todos os isolados de *P. roridum* (55 - 82,5%), podendo,  
492 dessa forma, ter influenciado no estabelecimento da interação aditiva quando da sua aplicação  
493 combinada com o óleo essencial de *C. citratus* (0,08; 0,15 e 0,3 µL/mL). Oliveira et al. (2018)  
494 encontraram interações do tipo aditiva e sinérgica de combinações de quitosana (5 mg/mL) e  
495 óleo essencial de *C. citratus* (0,15; 0,3; 0,6; 1,25 µL/mL) na inibição de isolados de diferentes  
496 espécies de *Colletotrichum*. No estudo de Oliveira et al. (2018), os percentuais de inibição do  
497 crescimento micelial dos isolados de *Colletotrichum* causados pela quitosana quando testada  
498 isoladamente variaram entre 24 e 37,5%, sendo menor que os percentuais de inibição  
499 causados pela quitosana sobre os isolados de *P. roridum* no presente estudo.

500 A aplicação de revestimentos formulados com combinações aditivas de quitosana (5  
501 mg/mL) e óleo essencial de *C. citratus* (0,15 e 0,3 µL/mL) apresentou eficácia no controle da  
502 severidade de lesão de cratera causada por *P. roridum* em frutos de melão após 15 dias de  
503 armazenamento. Estudo prévio relatou a eficácia de revestimentos formulados com  
504 combinações sinérgicas de quitosana e óleo essencial de *C. citratus* no controle do  
505 desenvolvimento de lesões de antracnose causadas por *Colletotrichum* spp. em goiaba cv.  
506 Paluma, mamão papaya e manga cv. Tommy Atkins (Oliveira et al., 2018). Resultados



507 semelhantes foram encontrados quando da aplicação de combinações aditivas e sinérgicas de  
508 quitosana e óleo essencial de *Mentha* spp. no controle de lesões de antracnose causadas por  
509 *Colletotrichum* spp. em manga cv. Tommy Atkins (Oliveira et al., 2017) e mamão papaya  
510 (Braga et al., 2019). Outros estudos mostram a eficácia de combinações de quitosana (3 ou 4  
511 g/L) e óleo essencial de *C. citratus* (3 mL/L) ou citral (4 g/L) na inibição do desenvolvimento  
512 de bolor verde e bolor azul causadas por *P. digitatum* e *P. italicum*, respectivamente, em  
513 laranjas durante o armazenamento (El- Mohamedy, 2015). Entretanto, não existem relatos na  
514 literatura sobre os efeitos de revestimentos de quitosana e óleos essenciais sobre o  
515 desenvolvimento de lesão de cratera em frutos de melão.

516 O aumento dos efeitos antifúngicos resultantes da aplicação combinada de quitosana e  
517 óleos essenciais, como observado em interações aditivas ou sinérgicas, pode ser alcançado  
518 devido à capacidade da quitosana de causar alteração da permeabilidade das membranas  
519 fúngicas e reduzir a síntese de componentes formadores da parede celular, diminuindo, por  
520 consequência, a habilidade dos fungos de tolerar os efeitos dos constituintes dos óleos  
521 essenciais sobre a sua estrutura celular e funções fisiológicas (Santos et al., 2012; Elsabee;  
522 Abdou, 2013; Athayde et al., 2016). Além do aumento da atividade antimicrobiana, a  
523 aplicação de revestimentos formulados com quitosana e óleos essenciais resultam na  
524 formação de filmes semipermeáveis ao redor da superfície dos frutos, os quais são capazes de  
525 reduzir a captação de oxigênio e taxa de respiração dos frutos, diminuindo a produção de  
526 etileno e perdas de componentes voláteis, além de carregarem componentes funcionais  
527 adicionais com propriedades antioxidantes e/ou agentes antimicrobianas (Harris et al., 2017).  
528 Essas alterações induzidas nos frutos tratados com revestimentos de quitosana e óleos  
529 essenciais podem repercutir também em retardo do crescimento fúngico e dificultar o  
530 estabelecimento da doença ou diminuir a sua severidade nos frutos (Elsabee e Abdou, 2013).

531 Os resultados desse estudo permitem concluir que a quitosana (2,5; 3,75; 5 e 6,75  
532 mg/mL) e o óleo essencial de *C. citratus* (0,3 e 0,6 µL/mL) apresentaram eficácia no controle

533 do crescimento micelial radial de *P. roridum* causador da podridão de cratera em frutos de  
534 melão. As combinações de quitosana e óleo essencial de *C. citratus* exerceram interação  
535 aditiva na inibição de todos os isolados de *P. roridum* testados. As combinações de quitosana  
536 (5 mg/mL) e óleo essencial de *C. citratus* (0,15 e 0,3 µL/mL) quando aplicadas na forma de  
537 revestimos reduziram a severidade das lesões da podridão de cratera em frutos de melão  
538 durante o armazenamento, embora o revestimento formulado com 5 mg/mL de quitosana +  
539 0,3 µL/mL de óleo essencial de *C. citratus* tenha sido o mais efetivo no controle da severidade  
540 das lesões nos frutos. A aplicação de revestimentos formulados com combinações de  
541 quitosana e óleo essencial de *C. citratus* se caracteriza como potencial estratégia para inibir o  
542 desenvolvimento da podridão de cratera causada por *P. roridum* em frutos de melão, e,  
543 consequentemente, para diminuir o uso de fungicidas sintéticos no controle de doenças pós-  
544 colheita nesses frutos.

545

#### 546 **4. Referências**

547 ABD-ALLA, M. A.; HAGGAG, W. M. New safe methods for controlling Anthracnose  
548 disease of mango (*Mangifera indica* L.) fruits caused by *Colletotrichum gloeosporioides*  
549 (Penz.). **Journal of American Science**, Amsterdam, v. 8, n. 8, p. 361-367, May 2010.

550 ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass  
551 spectroscopy. **Allured Publishing Corporation**, Carol Stream, Illinois (USA) 456p.

552 2001.<https://lib.ugent.be/catalog/rug01:000800424>

553 Aider, M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in  
554 the food industry: Review. **LWT-Food Science and Technology**, 43, 837–842.

555 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.021>

556 Ali, A., Bordoh, P.K., Singh, A., Siddiqui, Y., Droby, S., 2016. Post-harvest development of  
557 anthracnose in pepper (*Capsicum* spp.): **etiology and management strategies**. *Crop Prot.* 90,  
558 132–141. DOI: 10.1016/j.cropro.2016.07.026

559 ALI, A., NOH, N.M., MUSTAFA, M.A. Antimicrobial activity of chitosan enriched with  
560 lemongrass oil against anthracnose of bell pepper. **Food Pack. Shelf Life** 3, 56–61, 2015.  
561 DOI: 10.1016/j.fpsl.2014.10.003

562 AQUINO, C. F. et al. Chemical composition and in vitro activity of three essential oils on  
563 *Colletotrichum gloeosporioides* from passion fruit. **Revista Brasileira de Plantas**  
564 **Medicinais**, Botucatu, v. 16, n. 2, p. 329-336, jan. 2014. DOI: 10.1590/1983-084X/12\_115

565 BORGES, R. C. F.; ROSSATO, M.; SANTOS, M. D. M.; FERREIRA, M. A.; FONSECA,  
566 M. E. N.; REIS, A.; BOITEUX, L. S. 2018. First Report of a leaf spot Caused by  
567 *Paramyothecium roridum* on *Tectona grandis* in Brazil. **Plant Disease**, 102:8, 1661-  
568 1661. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-17-1364-PDN>

569 BORGES, R. C. F.; ROSSATO, M.; SANTOS, M. D. M.; FERREIRA, M. A.; FONSECA,  
570 M. E. N.; BOITEUX, L. S.; REIS, A. 2018/2019. Report of *Paramyothecium*  
571 *roridum* Causing Circular Leaf Spots on *Impatiens walleriana* in Brazil. **Plant**  
572 **Disease**, 103:1, 157-157. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-18-0987-PDN>

573 BOWEN, A., FRY, A., RICHARDS, G., BEAUCHAT, L., 2006. Infections associated with  
574 cantaloupe consumption: a public health concern. **Epidemiol. Infect.** 134, 675–685.  
575 DOI: 10.1017/S0950268805005480

576 BRAGA, S. P.; LUNDGREN, G. A.; MACEDO, S. A.; JOSEAN FECHINE TAVARES, J.  
577 F.; VIEIRA, W. A. S.; CÂMARA, M. P. S.; SOUZA, E. L. (2019). Application of coatings  
578 formed by chitosan and *Mentha* essential oils to control anthracnose caused by *Colletotrichum*  
579 *gloeosporioides* and *C. brevisporum* in papaya (*Carica papaya* L.) fruit. **International Journal**

580 **of Biological Macromolecules.** 139: 631-639.  
581 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.010>.

582 BRUTON, B. D. Crater rot. In: ZITTER, T. A.; HOPKINS, D. L.; THOMAS, C. E. (Eds.).  
583 Compendium of cucurbit diseases. St. Paul: **APS Press**, 1996. p. 49-50.

584 CAMILETTI, B. X. et al. Essential oils and their combinations with iprodione fungicide as  
585 potential antifungal agents against withe rot (*Sclerotium cepivorum Berk*) in garlic (*Allium*  
586 *sativum* L.) crops. **Industrial Crops and Products**, v. 85, p. 117-124, 2016.  
587 DOI:10.1016/j.indcrop.2016.02.053

588 CAMILETTI, B. X. et al. Natural control of corn postharvest fungi *Aspergillus flavus* and  
589 *Penicillium* sp. using essential oils from plants grown in Argentina. **Journal of Food Science**,  
590 v.79, p. 2499-2506, 2014. DOI:10.1111/1750-3841.12700

591 CARNELOSSI, P. R. et al. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum*  
592 *gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 11, n. 4,  
593 p. 399-406, abr. 2009. DOI.org/10.1590/S1516-05722009000400007

594 de SOUSA GUEDES, J. P., DA COSTA MEDEIROS, J. A., DE SOUZA SILVA, E. R. S.,  
595 DE SOUSA, J. M., DA CONCEIÇÃO, M. L., DE SOUZA, E. L., 2016. The efficacy of  
596 *Mentha arvensis* L. and *M. piperita* L. essential oils in reducing pathogenic bacteria and  
597 maintaining quality characteristics in cashew, guava, mango, and pineapple juices. **Int. J.**  
598 **Food Microbiol.** 238, 183–192. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.09.005

599 E. BOSQUEZ-MOLINA, E. RONQUILLO-DE JESÚS, S. BAUTISTA-BAÑOS, J.R.  
600 VERDE-CALVO, J. MORALES-LÓPEZ. Inhibitory effect of essential oils against  
601 *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruit and their  
602 possible application in coatings, **Postharvest. Biol. Technol.** 57 (2010), 132–137.  
603 DOI:10.1016/j.postharvbio.2010.03.008.

604 EL-MOHAMEDY, R. S. R., EL-GAMAL, N. G., BAKEER, A. R. T. 2015. Application of  
605 Chitosan and essential oils as alternatives fungicides to control green and blue moulds of  
606 citrus fruits. **Int.J.Curr.Microbiol. App.Sci** 4(6): 629-643.

607 Elsabee, M. Z., & Abdou, E. S. (2013). Chitosan based edible films and coatings: A review.  
608 **Materials Science and Engineering: C**, 33, 1819–1841.

609 ELSABEE, M.Z., ABDOU, E.S., 2013. Chitosan based edible films and coatings: a review.  
610 **Mater. Sci. Eng.** 33, 1819–1841.

611 GRANDE-TOVAR, C.D.; CHAVES-LOPEZ, C.; SERIO, A. ROSSI, C. PAPARELLA, A.  
612 Chitosan coatings enriched with essential oils: Effects on fungi involved in fruit decay and  
613 mechanisms of action. **Trends in Food Science & Technology**. v. 78, p. 61–71, 2018.  
614 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.019>

615 GUERRA, I.C.D., DE OLIVEIRA, P.D.L., PONTES, A.L.S., LÚCIO, A.S.S.C., TAVARES,  
616 J.F., BARBOSAFILHO, J.M., MADRUGA, M.S., DE SOUZA, E.L., 2015. Coatings  
617 comprising chitosan and *Mentha piperita* L. or *Mentha x villosa* Huds essential oils to prevent  
618 common postharvest mold infections and maintain the quality of cherry tomato fruit. **Int. J.**  
619 **Food Microbiol.** 214, 168–178. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.08.009

620 HARRIS, M., ALEXANDER, C., WELLS, C. M., BUMGARDNER, J. D., CARPENTER, D.  
621 P., & JENNINGS, J. A. (2017). Chitosan for the delivery of antibiotics. *Tissue Engineering*  
622 and Therapeutics. In *Chitosan Based Biomaterials*. **Journals & books**. 2, 147–173.  
623 <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100228-5.00006-7>

624 I.C.D. GUERRA, P.D.L. DE OLIVEIRA, A.L.S. PONTES, A.S.S.C. LÚCIO, J.F.  
625 TAVARES, J.F., J.M. BARBOSA-FILHO, M.S. MADRUGA, E.L. DE SOUZA, E. L.  
626 Coatings comprising chitosan and *Mentha piperita* L. or *Mentha x villosa* Huds essential oils

627 to prevent common postharvest mold infections and maintain the quality of cherry tomato  
628 fruit, **Int. J. Food Microbiol.** 214 (2015), 168–178. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.08.009.  
629 I.C.D. GUERRA, P.D.L. OLIVEIRA, M.M.S. FERNANDES, A.S.S.C. LÚCIO, J.F.  
630 TAVARES, J.M. BARBOSA-FILHO, M.S. MADRUGA, E.L. DE SOUZA, E.L. The effects  
631 of composite coatings containing chitosan and *Mentha (piperita L. or x villosa Huds)* essential  
632 oil on postharvest mold occurrence and quality of table grape cv. Isabella, **Innov. Food Sci.**  
633 **Emerg. Technol.**, 34 (2016), 112 – 121. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.01.008>  
634 KOSMAN, E.; COHEN, Y. Procedures for calculating and differentiating synergism and  
635 antagonism in action of fungicide mixtures. **Phytopathology**, v. 86, p. 1263-1272, 1996.  
636 L. L. SOUSA, S.C.A. ANDRADE, A. J. A. A. ATHAYDE, C.E.V. DE OLIVEIRA, C.V.  
637 SALES, M.S. MADRUGA, E.L. DE SOUZA. Efficacy of *Origanum vulgare L.* and  
638 *Rosmarinus officinalis L.* essential oils in combination to control postharvest pathogenic  
639 *Aspergillus flavus* and autochthonous mycoflora in *Vitis labrusca L.* (table grapes), **Int. J.**  
640 **Food Microbiol.** 165 (2013), 312-318. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.06.001.  
641 LIMA, N. B.; LIMA, W. G.; TOVAR-PEDROZA, J. M.; MICHEREFF, S. J.; CÂMARA, M.  
642 P. S. Comparative epidemiology of *Colletotrichum* species from mango in northeastern  
643 Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 141, p. 679–688, 2015. DOI:10.  
644 1007/s10658-014-0570-y  
645 MAQBOOL, M.; PETER, A., PETER, G. A., MOHAMED, M.T. M.; SIDDIQUI, Y.;  
646 ZAHID, N. 2011. Postharvest application of gum arabic and essential oils for controlling  
647 anthracnose and quality of banana and papaya during cold storage. **Postharvest Biology and**  
648 **Technology**, v. 62, p. 71-76. DOI:10. 1016/j.postharvbio.2011.04.002

649 MUNHUWEYI, K., CALEB, O.J., LENNOX, C.L., VAN REENEN, A.J., OPARA, U.L.  
650 2017. In vitro and in vivo antifungal activity of chitosan-essential oils against pomegranate  
651 fruit pathogens. **Postharvest Biol. Technol.** 129, 9–22.

652 OLIVEIRA, K. A. R. et al. Synergistic mixtures of chitosan and *Mentha piperita* L. essential  
653 oil to inhibit *Colletotrichum* species and anthracnose development in mango cultivar Tommy  
654 Atkins. **Food Microbiology**, v. 66, p. 96-103, 2017. DOI:10.1016/j.fm.2017.04.012

655 OLIVEIRA, P. D. L.; DE OLIVEIRA, K. A. R.; VIEIRA, W. A. A.; CÂMARA, M. P. S.,  
656 SOUZA, E. L. Control of anthracnose caused by *Colletotrichum* species in guava, mango and  
657 papaya using synergistic combinations of chitosan and *Cymbopogon citratus* (D.C. ex Nees)  
658 Stapf. essential oil. **International Journal of Food Microbiology**, 87-94, 2018.  
659 <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.018>

660 PILLAI, C. K. S.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitin and chitosan polymers: Chemistry,  
661 solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science** (Oxford), v. 34, p. 641–678,  
662 2009. doi:10.1016/j.progpolymsci.2009.04.001

663 PRINS, C.L., FREITAS, S.P., CAMPOSTRINI, E., GRAVINA, G.A., REIS, F.O., 2008.  
664 Effects of root system confinement on lemongrass (*Cymbopogon citratus*). **Rev. Ciênc.**  
665 **Agron.** 39, 416–421 (In Portuguese).

666 SANTOS, N.S.T., AGUIAR, A.J.A.A., DE OLIVEIRA, C.E.V., DE SALES, C.V., SILVA,  
667 S.M., SILVA, R.S., STAMFORD, T.C.M., DE SOUZA, E.L., 2012. Efficacy of the  
668 application of a coating composed of chitosan and *Origanum vulgare* L. essential oil to  
669 control *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger* in grapes (*Vitis labrusca* L.). **Food**  
670 **Microbiol.** 32, 345–353. DOI: 10.1016/j.fm.2012.07.014

671 SENHOR, R. F. **Epidemiologia da podridão-de-cratera em frutos de meloeiro**. 2006. 76 f.  
672 Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Universidade Federal Rural de Pernambuco,  
673 Recife, 2006.

674 SHUKLA, A. C. (2009). Volatile oil of *Cymbopogon pendulus* as an effective fumigant  
675 pesticide for the management of storage-pests of food commodities. **Nat. Acad. Sci. Lett.** 32,  
676 51–59.

677 SINGH, T. P., CHATLI, M. K., & SAHOO, J. Development of chitosan based edible films:  
678 Process optimization using response surface methodology. **Journal of Food Science &**  
679 **Technology**, 52(5), 2530–2543. 2015. DOI: [10.1007/s13197-014-1318-6](https://doi.org/10.1007/s13197-014-1318-6)

680 Sonker, N., Pandey, A. K., and Singh, P. (2015). Efficiency of *Artemisia nilagirica* (Clarke)  
681 Pamp essential oil as a mycotoxicant against postharvest mycobiota of table grapes. **J. Sci.**  
682 **Food Agric.** 95, 1932–1939. doi: [10.1002/jsfa.6901](https://doi.org/10.1002/jsfa.6901)

683 TZORTZAKIS, N.G., ECONOMAKIS, C.D., 2007. Antifungal activity of lemongrass  
684 (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens. **Innovative Food**  
685 **Sci. Emerg. Technol.** 8, 253–258. DOI: [10.1016/j.ifset.2007.01.002](https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.01.002)

686 WANG, J.; WANG, L.; YU, H.; et al. Recent progress on synthesis, property and application  
687 of modified chitosan: An overview. **International Journal of Biological Macromolecules**,  
688 v. 88, p. 333–344, 2016. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2016.04.002](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.04.002)

689 Zhen-Dong Chen, Pan-Liang Li, A-Li Chai, Wei-Tao Guo, Yan-Xia Shi, XueWen Xie &  
690 Bao-Ju Li (2018) Crown canker caused by *Paramyrothecium roridum* on greenhouse  
691 muskmelon (*Cucumis melo*) in China, **Canadian Journal of Plant Pathology**, 40:1, 115-120,  
692 DOI: [10.1080/07060661.2017.1415976](https://doi.org/10.1080/07060661.2017.1415976)



693 ZHENG, M., SHI, J., SHI, J., WANG, Q., LI, Y., 2013. Antimicrobial effects of volatiles  
694 produced by two antagonistic Bacillus strains on the anthracnose pathogen in postharvest  
695 mangos. **Biol. Control** 65, 200–206. DOI:10.1016/J.biocontrol.2013.02.004.

696 ZHU, X. et al. Effects of chitosan coating on postharvest quality of mango fruit. **Journal of**  
697 **Food Processing and Preservation, Westport**, v. 32, n. 5, p. 770- 784, Oct. 2008.

698

699

700

701

702

703

704

705

706

707

## **CAPÍTULO III**

### **Conclusões gerais**

## CONCLUSÕES GERAIS

A quitosana mostrou-se eficaz no controle do crescimento micelial radial de *Paramyrothecium roridum* causador da podridão da cratera em frutos de melão.

O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* mostrou-se eficaz no controle do crescimento micelial radial *Paramyrothecium roridum* causador da podridão da cratera em frutos de melão.

A combinação de quitosana e óleo essencial de *C. citratus* é uma opção para o controle de podridão da cratera em frutos de melão, sendo a combinação mais eficaz nesse estudo a de 5mg/mL de quitosana + 3µl/mL de óleo essencial de *C. citratus*