

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

FABIANA FIUSA FERREIRA

**CONTROLE DA PODRIDÃO AZUL EM MAÇÃS UTILIZANDO  
REVESTIMENTO COMESTÍVEL ELABORADO COM COMPOSTO  
ANTIFÚNGICO DE LEVEDURA ANTAGONISTA**

LONDRINA  
2020

FABIANA FIUSA FERREIRA

**CONTROLE DA PODRIDÃO AZUL EM MAÇÃS UTILIZANDO  
REVESTIMENTO COMESTÍVEL ELABORADO COM COMPOSTO  
ANTIFÚNGICO DE LEVEDURA ANTAGONISTA**

Dissertação de mestrado, apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, câmpus Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Rodrigo Coelho

Coorientador: Profa. Dra. Marianne Ayumi Shirai

LONDRINA  
2020

## TERMO DE LICENCIAMENTO

Esta Dissertação está licenciada sob uma Licença Creative Commons *atribuição uso não-comercial/compartilhamento sob a mesma licença 4.0 Brasil*. Para ver uma cópia desta licença, visite o endereço <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/> ou envie uma carta para Creative Commons, 171 Second Street, Suite 300, San Francisco, Califórnia 94105, USA.



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Biblioteca UTFPR - Câmpus Londrina

F383c Ferreira, Fabiana Fiusa

Controle da podridão azul em maçãs utilizando revestimento comestível elaborado com composto antifúngico de levedura antagonista / Fabiana Fiusa Ferreira. - Londrina, 2020.

64 f. : il.; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Rodrigo Coelho.

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marianne Ayumi Shirai.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Londrina, 2020.

Bibliografia: 54-64.

1. Antimicóticos. 2. Leveduras. 3. Mofo (Botânica). 4. Maçã - Conservação. I. Coelho, Alexandre Rodrigo, orient. II. Shirai, Marianne Ayumi, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. IV. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. V. Título.

CDD: 664



Ministério da Educação  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Pró-Reitora de Pesquisa e Pós-Graduação  
Programa de Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos  
Câmpus Londrina



## **FOLHA DE APROVAÇÃO**

### **CONTROLE DE PODRIDÃO AZUL EM MAÇÃS UTILIZANDO REVESTIMENTO COMESTÍVEL ELABORADO COM COMPOSTO ANTIFUNGÍCO DE LEVEDURA ANTAGONISTA**

por

**FABIANA FIUSA FERREIRA**

Dissertação de Mestrado apresentada no dia 28 de fevereiro de 2020, como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS pelo Programa de Pós-Graduação em Tecnologia em Alimentos, Câmpus Londrina, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. A mestranda foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos membros abaixo assinados. Após avaliação da Dissertação, a Banca Examinadora considerou a Dissertação **Aprovada.**

---

Prof. Dr. Alexandre Rodrigo Coelho- Orientador  
(UTFPR – Londrina)

---

Prof. Dr. Paulo de Tarso Carvalho - Membro Titular  
(UTFPR – Londrina)

---

Prof. Dr. Denis Fabrício Marchi - Membro Titular  
(IFPR – Londrina)

---

Prof. Dr. Alexandre Rodrigo Coelho  
Coordenador do Programa de Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos

**“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa de Mestrado Profissional em Tecnologia em Alimentos”**

*Dedico este trabalho ao meu esposo  
Agner Possani, por todo apoio,  
cumplicidade e amor incondicional.*

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus por me dar forças, ajudar a superar todas as dificuldades e me guiar até aqui. Pois sem ele, nada seria possível.

Um agradecimento especial ao meu orientador, o professor Dr. Alexandre Rodrigo Coelho, pela sua paciência, dedicação, preocupação, incentivo, disponibilidade e toda ajuda ofertada durante a realização deste trabalho.

A minha coorientadora Dra. Marianne Ayumi Shirai por toda ajuda, dedicação e pelo seu apoio na elaboração deste trabalho.

A Empresa SL Cereais e Alimentos Ltda, pelo fornecimento da matéria prima.

A Universidade Federal do Paraná (UTFPR) campus Londrina, direção e coordenação e todos os funcionários.

A todos os professores do PPGTAL pelos ensinamentos e experiências profissionais compartilhados.

A aluna de Iniciação Científica, Laura Fernandes Campos pela ajuda na realização desse trabalho.

Ao meu esposo Agner Possani por todo amor, paciência, compreensão, por estar sempre ao meu lado me apoiando, especialmente por me incentivar e me ajudar nos dias, noites, fins de semanas e feriados para realização desse trabalho.

A todos os meus familiares, amigos e colegas que de alguma forma contribuíram, me incentivaram ou me auxiliaram na elaboração desse trabalho.

A todos o meu sincero e profundo muito obrigada!

Por mais que a ciência evolua e que a tecnologia avance jamais ela vai decifrar a mente humana, pois cada cabeça é um mundo e cada ser humano uma história, jamais caberá numa tese ou num fundamento. Isso faz da humanidade e seu imaginário imensamente complexos e hierárquicos.  
(Afonso Allan)

## RESUMO

FERREIRA, Fabiana Fiusa. **Controle da podridão azul em maçãs utilizando revestimento comestível elaborado com composto antifúngico de levedura antagonista**. 2020. 64 folhas. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2020.

O bolor azul, causado por *Penicillium expansum*, é a podridão pós-colheita mais comum em maçãs. A utilização de revestimentos e a adição de leveduras como agentes de controle biológico é uma alternativa para evitar as perdas pós-colheita. O objetivo desse trabalho foi avaliar o controle da podridão azul em maçãs utilizando revestimento comestível elaborado com composto antifúngico de levedura antagonista. A partir de um teste piloto realizado com 80 frutos, foram determinados a ordem de aplicação do revestimento e ferimento dos frutos, e os intervalos de observação. A fase experimental consistiu de três tratamentos (frutos com revestimento em solução aquosa – RFA, frutos com revestimento elaborado com composto antifúngico – RFEB e frutos sem revestimento), totalizando 279 frutos. Os ferimentos foram realizados após a aplicação dos revestimentos, seguido de inoculação de 10 µL contendo 10<sup>5</sup> conídios de *P. expansum*/mL. O acompanhamento da doença nos frutos armazenados a 25°C por 12 dias foi realizado em intervalos de 2 dias, por meio da determinação da porcentagem de frutos doentes, porcentagem de ferimentos infectados, e porcentagem de controle da lesão. Análises físico-químicas (pH e sólidos solúveis) e perda de massa também foram realizadas. Paralelamente, os revestimentos foram analisados por microscopia eletrônica de varredura (MEV). O revestimento elaborado com composto antifúngico – RFEB não impediu a incidência da doença e a infecção, porém foi efetivo no controle da severidade doença, com valor médio de 47,6% no controle das lesões, quando comparado com o revestimento controle – RFA (10,5%). O controle das lesões nos frutos RFEB foi significativo a partir do quarto dia de armazenamento, atingindo 54,1% após 12 dias, enquanto que o controle nos frutos RFA foi de apenas 12,7% no final do experimento. Enquanto os teores de pH mantiveram-se estáveis, com variação 0,3 nos frutos controle, nos frutos com revestimento RFA e naqueles com revestimento antifúngico, o aumento nos teores de sólidos solúveis foi de 2,1, 3,8 e 2,4 °Brix, respectivamente. Portanto, os parâmetros físico-químicos não foram considerados fatores limitantes para o desenvolvimento do fungo, reforçando que o controle ocorreu pelo efeito protetor do revestimento, principalmente o antifúngico. Os tratamentos RFA e RFEB apresentaram menor perda de massa quando comparado com o controle aos 12 dias de armazenamento. O composto antifúngico presente no RFEB foi eficaz contra o desenvolvimento micelial de *Penicillium expansum*, indicando perspectivas de aplicação para o controle da podridão azul em maçãs pós-colheita.

**Palavras-chave:** Antagonismo. Toxina *killer*. *Penicillium expansum*. Pós-colheita. Maçã Fuji.



## ABSTRACT

FERREIRA, Fabiana Fiusa. **Control of blue mold rot in apples using an edible coating containing antifungal compounds from killer yeast.** 2020. 64 pages. Dissertation (Professional Master's Degree in Food Technology) - Federal University of Technology - Paraná. Londrina, 2020.

Blue mold, caused by *Penicillium expansum*, is the most common post-harvest rot disease in apples. Food coating and biological control agents, such as killer yeasts, are alternative strategies to reduce post-harvest losses. This dissertation aimed to investigate the control of blue rot in apples with an edible coating containing yeast killer toxins. A preliminary test was performed with 80 fruits to determine the order of coating application, fruit wounding procedures, and sampling intervals. The experiment consisted of three treatments (CF, fruits coated with an aqueous solution edible coating; KCF, fruits coated with an edible coating containing yeast killer toxins; and UF, uncoated fruits), totaling 279 fruits. After coating application, the fruits were wounded and inoculated with 10  $\mu$ L suspension containing  $10^5$  conidia of *P. expansum* per milliliter. Fruits were stored at 25 °C for 12 days and evaluated at 2-day intervals for determination of the percentage of diseased fruits, infected wounds, and wound closure. Physicochemical parameters (pH and soluble solids) and fruit weight loss were also determined. Coatings were examined by scanning electron microscopy. The coating containing antifungal compounds did not decrease rot incidence or wound infection rate but reduced disease severity, as shown by the 47.6% wound closure in KCF compared with 10.5% in CF. Wound closure was significantly higher in KCF from the fourth day of storage onward, reaching 54.1% after 12 days. CF showed a wound closure of only 12.7% at the end of the storage period. Fruit pH remained practically stable during storage, with a variation of 0.3 in UF, in CF, and in KCF. During the 12 days of storage, soluble solids increased by 2.1, 3.8, and 2.4 °Brix in UF, CF, and KCF, respectively. These results indicate that physicochemical properties were not limiting factors for fungal development and suggest that fungal control was achieved through the protective and antagonistic effects of the coatings. CF and KCF showed a lower weight loss than UF after 12 days of storage. Antifungal compounds present in KFC were effective in inhibiting *P. expansum* mycelial development, showing great potential for the post-harvest control of blue mold in apples.

**Keywords:** Antagonism. *Killer* toxin. *Penicillium expansum*. Post-harvest. Fuji apple.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Imagem da podridão marrom ou podridão carpelar em maçã ocasionada pelo fungo <i>Alternaria</i> sp.....	17
Figura 2 – Imagem da podridão cinzenta em maçãs ocasionada por <i>Botrytis cinerea</i> .....	18
Figura 3 – Imagem da podridão amarga em maçã ocasionada pelo fungo <i>Glomerella cingulata</i> .....	18
Figura 4 – Imagem da podridão branca em maçãs ocasionada pelo fungo <i>Botryosphaeria dothidea</i> .....	19
Figura 5 – Imagem da podridão preta em maçã ocasionada pelo fungo <i>Botryosphaeria obtusa</i> .....	19
Figura 6 – Imagem externa e interna da podridão mole em maçãs ocasionada pelo fungo <i>Rhizopus nigricans</i> .....	20
Figura 7 – Imagem da podridão olho de boi em maçãs ocasionada pelo fungo <i>Cryptosporiopsis perennans</i> .....	20
Figura 8 – Imagem externa e interna da podridão azul em maçãs ocasionada pelo fungo <i>Penicillium expansum</i> .....	21
Figura 9 – Imagem do fungo <i>Penicillium expansum</i> (bolor azul).....	22
Figura 10 – Etapas de aplicação dos revestimentos em frutos pós-colheita.....	26
Figura 11 – Fruto com ferimentos de 2,5 mm de profundidade e 3,0 mm de largura realizados na porção superior do fruto, seguido de inoculação de uma alíquota de 10 µL da suspensão de <i>P. expansum</i> .....	31
Figura 12 – Fluxograma explicativo para realização das fases pilotos.....	33
Figura 13 – Fluxograma explicativo para realização da fase experimental.....	34
Figura 14 – Incidência de doença e de ferimentos infectados por <i>Penicillium expansum</i> em maçãs armazenadas a 25°C, com e sem revestimento antifúngico.....	38
Figura 15 – Severidade da doença em maçãs armazenadas a 25°C, com e sem revestimento antifúngico.....	39
Figura 16 – Imagens das maçãs com e sem revestimento antifúngico após 12 dias de armazenamento a 25°C (piloto 3).....	41

Figura 17 – Imagens da microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos filmes elaborados.....	44
Figura 18 – Incidência de doença e de ferimentos infectados por <i>Penicillium expansum</i> em maçãs armazenadas a 25°C por 12 dias, com e sem revestimento antifúngico.....	45
Figura 19 – Severidade da doença em maçãs armazenadas a 25°C por 12 dias, com e sem revestimento antifúngico.....	46
Figura 20 – Imagens das maçãs com e sem revestimento antifúngico após 12 dias de armazenamento a 25°C (fase experimental).....	48

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Produtos comerciais biológicos registrados para o controle de podridões pós-colheita em frutos e vegetais.....	24
Tabela 2 – Valores médios dos diâmetros das lesões (mm) em maçãs armazenadas a 25°C por 15 dias, com e sem revestimento e inoculadas com 10 <sup>5</sup> conídios de <i>Penicillium expansum</i> .....	40
Tabela 3 – Parâmetros físico-químicos dos frutos de maçã Fuji armazenados em BOD a 25°C, ao longo de 15 dias no Piloto 1.....	42
Tabela 4 – Porcentagem de perda de massa nos frutos de maçã Fuji armazenados em BOD a 25°C, ao longo de 15 dias no Piloto 1.....	43
Tabela 5 – Valores médios dos diâmetros das lesões (mm) em maçãs armazenadas a 25°C por 12 dias, com e sem revestimento e inoculadas com 10 <sup>5</sup> conídios de <i>Penicillium expansum</i> .....	47
Tabela 6 – Parâmetros físico-químicos dos frutos armazenados a 25°C, ao longo de 12 dias.....	51
Tabela 7 – Porcentagem de perda de massa nos frutos armazenados a 25°C (fase experimental), ao longo de 12 dias.....	52

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2 OBJETIVO</b> .....	<b>15</b>
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	15
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>16</b>
3.1 MAÇÃ FUJI .....	16
3.2 DOENÇA EM MAÇÃS PÓS-COLHEITA .....	17
3.3 PENICILLIUM EXPANSUM.....	22
3.4 CONTROLE BIOLÓGICO POR MEIO DE LEVEDURA ANTAGONISTA.....	23
3.5 REVESTIMENTO COMESTÍVEL .....	25
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>29</b>
4.1 MATÉRIA-PRIMA E MICRO-ORGANISMOS.....	29
4.2 OBTENÇÃO DO COMPOSTO ANTIFÚNGICO NATURAL.....	30
4.3 ELABORAÇÃO DO REVESTIMENTO ANTIFÚNGICO.....	30
4.4 PREPARO DOS FRUTOS E APLICAÇÃO DO REVESTIMENTO .....	30
4.5 FASE PILOTO E FASE EXPERIMENTAL.....	31
4.5.1. Fase Piloto .....	31
4.5.2. Fase experimental.....	33
4.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....	34
4.7 PERDA DE MASSA.....	35
4.8 AVALIAÇÃO DO CONTROLE DA PODRIDÃO .....	35
4.9 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	36
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	36
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>37</b>
5.1 FASE PILOTO.....	37
5.2 FASE EXPERIMENTAL .....	44
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>53</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>54</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, ficando atrás somente da Índia e da China. A produção de frutas no país é praticamente exclusiva para o mercado interno, uma vez que apenas 3% do total produzido é destinado à exportação (SCOGNAMIGLIO, 2017).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2016), no *ranking* de produção brasileira de frutas frescas, a maçã está entre as principais frutas produzidas, juntamente com a laranja, banana e abacaxi. Em 2017, destacou-se também entre as cinco mais comercializadas, incluindo laranja, banana, mamão, e melancia, com um total de 2.629 milhões de toneladas (KIST, 2018 b). A cultivar Fuji (*Malus domestica* Borkh) destaca-se pela sua excelente qualidade e características sensoriais como a suculência e a firmeza, além de ótima aceitabilidade pelo consumidor (FELIPINI; DI PIERO, 2010).

Entretanto, o desenvolvimento da fruticultura depende principalmente da redução das perdas pós-colheita, que podem atingir até 30% do total produzido (ANDRADE, 2017). Dentre as causas relacionadas a essas perdas, incluem-se fatores climáticos, armazenamento incorreto, transporte precário, como também falhas na logística e a utilização de embalagens impróprias, que facilitam a ocorrência de danos mecânicos e conseqüentemente o ataque de fungos deteriorantes (SCOGNAMIGLIO, 2017). Especificamente em relação ao último fator mencionado, as infecções fúngicas são as principais responsáveis (80 a 90 %), pois durante o seu desenvolvimento promovem a deterioração do fruto (PARISI et al., 2015). Em maçãs, particularmente, a incidência de podridão causada por *Penicillium expansum* (bolor azul) representa perdas significativas e redução da vida útil do fruto (BRACKMANN et al., 2005).

Com o intuito de reduzir as perdas e aumentar o tempo de conservação do fruto, é importante utilizar práticas adequadas de manuseio, desde a etapa de colheita até a comercialização (RINALDI, 2018). Embora o controle de fungos em nível de campo e pós-colheita ainda seja realizado por meio de fungicidas químicos, pesquisas com novas alternativas estão sendo estudadas, a fim de minimizar os

riscos ao meio ambiente e diminuir os resíduos nos frutos tratados (OLIVEIRA; SANTOS, 2015; MACHADO, 2018; FERREIRA et al., 2019).

Segundo Assis e Britto (2014), a aplicação de revestimentos comestíveis vem sendo utilizada para prolongar a vida útil do fruto, além de melhorar a sua aparência e torná-lo mais atraente para o consumidor. Estudos comprovam o aumento de vida útil por meio de revestimentos comestíveis em frutos. Como exemplos, Garcia et al. (2012) relataram um aumento de 12 dias na conservação de morangos, quando revestidos com amido de mandioca. Soares et al., (2011) obtiveram o mesmo tempo de prolongação da vida útil de goiabas revestidas de quitosana/amido, ao passo que Fakhouri et al., (2007) aumentaram em 10 dias a vida útil de uvas tratadas com revestimento à base de amido/gelatina.

A adição de compostos naturais com propriedades antifúngicas vem se tornando uma opção atraente na preservação de frutos frescos (OLIVEIRA; SANTOS, 2015). Estudos realizados com óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas indicam uma potencial aplicação em frutos de goiaba no controle de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* (ROZWALKA et al., 2008), no controle pós-colheita de bolor verde em laranja (BENATO et al., 2018), e retardando o crescimento de *Fusarium* spp. em mamão papaia (CASTILLO et al., 2018).

No cenário do uso de compostos naturais, as toxinas *killer* de leveduras antagonistas são substâncias inócuas que inibem o desenvolvimento de fungos filamentosos deteriorantes de alimentos (SCHMITT; BREINIG, 2002), e a incorporação deste composto em revestimentos comestíveis surge como uma nova estratégia de combate a esses micro-organismos (FERREIRA et al., 2019).

## 2 OBJETIVO

Avaliar o controle da podridão azul em maçãs utilizando revestimento comestível elaborado com composto antifúngico de levedura antagonista.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Definir a forma de aplicação do revestimento nos frutos e tempos de observação por meio de teste piloto.
- Avaliar a interferência dos parâmetros pH, sólidos solúveis totais e perda de massa sobre o desenvolvimento do fungo *Penicillium expansum* nos frutos.
- Avaliar o efeito preventivo do revestimento comestível elaborado com composto antifúngico de levedura antagonista em maçãs na fase experimental.



### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 MAÇÃ FUJI

A maçã Fuji (*Malus domestica* Borkh) é resultado do cruzamento entre a maçã vermelha "Delicious" e a "Ralls Janet" e foi introduzida no Japão em 1962 (FELIPINI; DI PIERO, 2010). As primeiras mudas desta variedade foram trazidas para o Brasil em 1970, na estação experimental de Videira, situada em Santa Catarina, cujas condições climáticas foram consideradas ideais para o cultivo (SANJO, 2010). Esta cultivar destaca-se pela sua excelente qualidade e características sensoriais como a suculência, firmeza e refinamento, com um sabor doce que tem alto teor de açúcar e baixo teor de ácido (FELIPINI; DI PIERO, 2010).

Alguns parâmetros podem influenciar na qualidade das maçãs, tais como o pH, atividade de água (Aa) e sólidos solúveis totais. As maçãs variedade Fuji apresentam valores de pH entre 3,5 e 4,2, Aa > 0,98 e teor de sólidos solúveis entre 11 e 16° Brix. As condições recomendadas de armazenamento refrigerado incluem temperatura de -1 a 0°C e umidade relativa entre 92 e 96 % (EMBRAPA, 2004).

Tanto a fruta fresca como a minimamente processada apresentam um mercado importante e em amplo desenvolvimento, devido à sua conveniência e importância nutricional (BITTENCOURT; MATTEI, 2008). Não obstante, a maçã se tornou uma das opções frutíferas mais apreciadas e com o apelo de uma alimentação mais saudável, o que tem contribuído para o crescimento do mercado neste ramo. O fruto tem se destacado por seu consumo prático e disponibilidade durante o ano todo, sendo o seu consumo *per capita* em 2017 no Brasil de 5 kg (KIST, 2018 a).

A Associação Brasileira dos Produtores de Maçã (ABPM) divulgou que na safra 2016/2017 foram colhidos 1.254.614 t de maçã no Brasil, sendo os estados maiores produtores Santa Catarina (50%), Rio Grande do Sul (46%) e Paraná (2%), que juntos respondem por 98% da produção total no país, destacando-se as cultivares Gala e Fuji (KIST, 2018 a). Segundo a Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA, 2018), a maçã esteve entre as cinco frutas mais vendidas em 2017, juntamente com a laranja, o mamão, a melancia e o limão.

Para proporcionar uma maior disponibilidade da cultivar Fuji durante o ano, os frutos são armazenados por 6 a 7 meses em sistema refrigerado com

temperatura de -1 a 0 °C, ou em atmosfera controlada por 8 a 9 meses com temperatura de -5 a 1 °C (GIRARDI; BENDER, 2003). Entretanto, a prática do armazenamento vem sendo questionada, uma vez que é muito comum a degenerescência da polpa neste período (BETTENCOURT; MATTEI, 2008), favorecendo o ataque por fungos e conseqüentemente acelerando o processo de deterioração (SALOMÃO; MASSAGUER; ARAGÃO, 2008).

### 3.2 DOENÇA EM MAÇÃS PÓS-COLHEITA

As podridões de ordem fúngica são as principais doenças pós-colheita de maçã e as infecções podem ocorrer nos pomares ou nas câmaras frias durante o armazenamento (OGOSHI et al., 2019). Os principais agentes deteriorantes incluem *Botryosphaeria dothidea*, *Glomerella cingulata*, *Penicillium expansum*, *Pezizula malicorticis* (LUNARDI; SANHUEZA; BENDER, 2003), *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* e *Rhizopus stolonifer* (VALDEBENITO-SANHUEZA, 2003).

A podridão marrom causada por *Alternaria* sp. é caracterizada por coloração preta ou marrom escura na epiderme, ou crescimento micelar verde acinzentado na superfície quando o fruto é exposto em alta umidade. Em maçãs está associado ao desenvolvimento da podridão carpelar (Figura 1) (SANHUEZA, 2004).

**Figura 1.** Imagem da podridão marrom ou podridão carpelar em maçã ocasionada pelo fungo *Alternaria* sp.



Fonte: (LEVY, 2020)

A podridão cinzenta causada por *Botrytis*, *Botrytis cinérea*, apresenta coloração bege tanto na polpa quanto na epiderme e grande quantidade de micélio branco acinzentado (Figura 2) (SANHUEZA, 2004).

**Figura 2.** Imagem da podridão cinzenta em maçãs ocasionada por *Botrytis cinerea*.



Fonte: (GIRARDI et al., 2002 a)

*Glomerella cingulata*, *Colletotrichum gloesporioides* e *C. acutatum* causam a podridão aquosa e firme, com coloração marrom clara em formato circular (Figura 3) (SANHUEZA, 2004).

**Figura 3.** Imagem da podridão amarga em maçã ocasionada pelo fungo *Glomerella cingulata*.



Fonte: (AGROLINK, 2020 a)

A podridão branca é causada por *Botryosphaeria* ssp, *Botryosphaeria dothidea*, *B. beringeriana*, *B. ribis*, e apresenta na epiderme podridão circular de coloração cor marrom e possível exsudação (Figura 4) (SANHUEZA, 2004).

**Figura 4.** Imagem da podridão branca em maçãs ocasionada pelo fungo *Botryosphaeria dothidea*.



**Fonte:** (AGROLINK, 2020 b)

Na podridão preta causada por *Botryosphaeria obtusa* (*Physalospora malorum*) pode haver escurecimento da fruta, com micélio de coloração verde escura na epiderme (Figura 5) (SANHUEZA, 2004).

**Figura 5.** Imagem da podridão preta em maçã ocasionada pelo fungo *Botryosphaeria obtusa*.



**Fonte:** (AGROLINK, 2020 c)

*Rhizopus nigricans* é responsável pela podridão mole, com lesões úmidas de coloração bege clara, com micélio branco acinzentado na epiderme (Figura 6) (SANHUEZA, 2004).

**Figura 6.** Imagem externa e interna da podridão mole em maçãs ocasionada pelo fungo *Rhizopus nigricans*.



**Fonte:** (GIRARDI et al., 2002 b)

A podridão olho de boi causada por *Pezicula malicorticis* e *Cryptosporiopsis perennans* possui lesões com coloração marrom clara, com centro amarelo claro e contorno marrom escuro (Figura 7) (SANHUEZA, 2004).

**Figura 7.** Imagem da podridão olho de boi em maçãs ocasionada pelo fungo *Cryptosporiopsis perennans*.



**Fonte:** (AGROLINK, 2020 d)

A podridão azul, causada por *P. expansum*, é a doença pós-colheita mais comum em maçãs e peras (PITT; HOCKING, 2009). Essa podridão causa lesões aquosas, moles e profundas, com coloração bege claro na polpa e epiderme

contendo massas brancas e azuis constituídas de micélio e esporos do fungo (Figura 8) (SANHUEZA, 2004).

No Brasil, as doenças pós-colheita responsáveis por grandes perdas em maçãs são causadas por *Penicillium expansum* (mofo-azul) e *Pezizula malicorticis* (podridão olho de boi) (SANHUEZA, 2004).

**Figura 8.** Imagem externa e interna da podridão azul em maçãs ocasionada pelo fungo *Penicillium expansum*.



**Fonte:** Autoria própria.

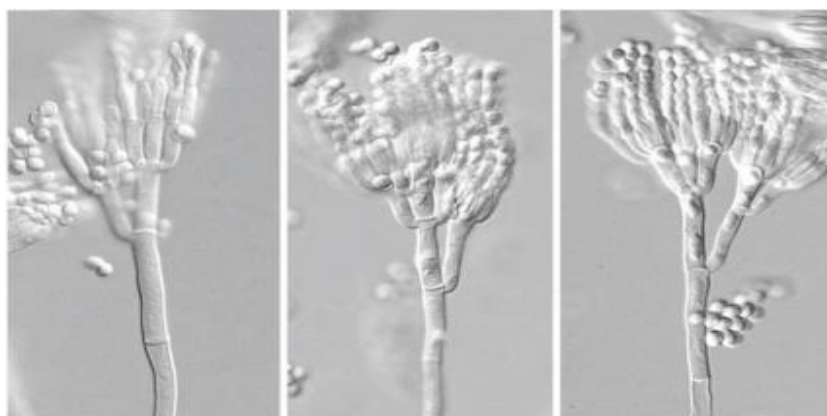
O manejo na colheita e pós-colheita frequentemente produzem ferimentos e rachaduras nas frutas, o que prejudica a qualidade dos frutos durante o armazenamento, mesmo que refrigerados (ALVES; NUNES, 2015). Na etapa inicial da pós-colheita é comum em linhas de processamento a utilização do sistema flutuante dos frutos em soluções aquosas para remoção de sujidades do campo, e se o fruto estiver desprotegido pode ocorrer a infecção por fungos, em decorrência de uma contaminação na água ou por manipuladores (EMBRAPA, 2004).

Nas maçãs especificamente, a incidência da doença está relacionada com o armazenamento prolongado dos frutos pós-colheita em câmaras frias, cuja umidade proporciona o ambiente ideal para a proliferação fúngica (ALVES; NUNES, 2015). Geralmente o fungo penetra nas maçãs por meio das lenticelas e rachaduras da epiderme, na base do pedúnculo ou da cavidade do cálice; porém basta a presença de um ferimento para que o fungo invada e se desenvolva no fruto, deteriorando-o (ALVES; NUNES, 2015).

### 3.3 *Penicillium expansum*

*Penicillium expansum* (Figura 9) é um fungo psicrotrófico, com crescimento ótimo entre 20 e 25°C e umidade relativa de 80-90%. A atividade de água mínima para os conídios germinarem situa-se em 0,82-0,83 e sua tolerância à sacarose (m/v) pode chegar a 80% no meio de crescimento (PITT; HOCKING, 2009). São pouco exigentes quanto à tensão de oxigênio, desenvolvendo-se normalmente em níveis baixos de até 2,1% (PITT; HOCKING, 2009).

**Figura 9.** Imagem do fungo *Penicillium expansum* (bolor azul).



**Fonte:** (PITT; HOCKING, 2009).

Em estudo realizado por Tannous et al. (2016), que desenvolveram um modelo matemático para estimar a taxa de crescimento de *P. expansum* através do acompanhamento da temperatura, atividade de água (Aa) e pH, foi relatado um crescimento de 0,92 cm / dia com temperatura de 24°C, pH de 5,1 e Aa 0,99.

A podridão externa e interna causada por *P. expansum* em frutos se caracteriza com margens bem definidas, sendo que em condições de alta umidade a região externa pode apresentar uma coloração branca e/ou azul, constituída de micélio e esporos do fungo. Coloração bege ou marrom-clara pode ocorrer tanto na epiderme quanto na polpa, e as alterações nos frutos são caracterizadas também por apresentar aspecto mole e aguado (PITTET, 2001; HEFNAWY, ABOU-ZEID, 2003; SANHUEZA, 2004; PITT, HOCKING, 2009).

Considerada uma das espécies mais antigas descritas na literatura, *P. expansum* é mencionado como o principal agente deteriorante de maçãs e peras. Entretanto, já foi isolado de outras frutas, incluindo tomate, morango, abacate, manga e uva (PITT; HOCKING, 2009).

### 3.4 CONTROLE BIOLÓGICO POR MEIO DE LEVEDURA ANTAGONISTA

As perdas na pós-colheita podem apresentar um custo elevado para o produtor, devido ao valor acumulado que se inicia no plantio e se estende até o armazenamento. Não obstante, a aplicação de fungicidas sintéticos tem sido a principal arma na luta contra essas doenças (HERNÁNDEZ et al., 2014).

Até então, *P. expansum* é controlado por meio de fungicidas aplicados em frutos pós-colheita, principalmente Tiabendazol (TBZ) e Benomyl. Entretanto, a ocorrência de cepas resistentes vem reduzindo a eficácia de tais tratamentos. Adicionalmente, a crescente preocupação com possíveis efeitos adversos na saúde humana e no meio ambiente, causados por estes fungicidas, despertam a necessidade da descontinuação ou a redução do seu uso (CHAND-GOYAL; SPOTTS, 1996).

Com base neste contexto, o controle biológico tem emergido nos últimos anos como alternativa promissora. Micro-organismos antagonistas vêm sendo utilizados no combate de fungos filamentosos em frutas, quando aplicados na fase pós-colheita e armazenamento (SMILANICK et al., 2002; MACARISIN et al. 2010).

Embora a utilização e comercialização de produtos biológicos no Brasil enfrentem dificuldades para registrar e liberar sua utilização em grande escala, (MORANDI; BETTIOL, 2009), outros países já comercializam produtos biológicos registrados para o controle de podridões pós-colheita, incluindo como agente ativo bactérias e leveduras antagonistas, conforme observado na Tabela 1 (BETTIOL et al., 2012). Entretanto, as leveduras merecem grande destaque, devido ao seu caráter inócuo e facilidade e segurança de manuseio para aplicação (COELHO et al., 2009).

Os mecanismos de antagonismo relatados para o controle biológico incluem a competição por nutrientes, antibiose, parasitismo e indução de defesa, sendo que alguns antagonistas podem apresentar mais de um mecanismo, característica desejada para biocontrole mais eficiente (MORANDI; BETTIOL, 2009).

Estudos com *Debaryomyces hansenii* mostraram que a levedura é eficaz contra *P. italicum* e *P. digitatum*, devido ao seu antagonismo baseado em competição por nutrientes (TAQARORT et al., 2008). Este mecanismo é favorecido pela rápida velocidade de crescimento que as leveduras possuem em relação aos



fungos filamentosos, que por possuírem uma taxa de crescimento mais lenta, não conseguem competir com o antagonista em questão (ZHAO et al., 2008).

**Tabela 1** - Produtos comerciais biológicos registrados para o controle de podridões pós-colheita em frutos e vegetais.

Nome comercial	Agente ativo	Doenças e patógenos visados	Modo de ação	Registro e comercialização
<b>Aspire®</b>	<i>Candida oleophila</i> I-182	<i>Penicillium digitatum</i> em pós-colheita de citros e <i>Botrytis</i> para frutos de caroço.	Compete com o patógeno por nutrientes nas injúrias e previne a infecção.	EUA/Israel
<b>Avogreen®</b>	<i>Bacillus subtilis</i> B246	<i>Cercospora</i> e <i>Colletotrichum</i> em pós-colheita de abacate.	O agente de biocontrole age por antagonismo.	África do Sul
<b>Biosave® 100</b>	<i>Pseudomonas syringae</i> ESC-10	Utilizados para frutos e vegetais, os principais frutos são maçã e pera, <i>Penicillium expansum</i> e <i>Botrytis cinérea</i> .	Controle de doenças em pós-colheita por competição	EUA
<b>Biosave® 110</b>	<i>Pseudomonas syringae</i> ESC-11	Utilizados para frutos e vegetais, os principais frutos são maçã e pera, <i>Penicillium expansum</i> e <i>Botrytis cinérea</i> .	Atua contra os patógenos por competição	EUA
<b>BoniProtect®</b>	<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Botrytis</i> , <i>Penicillium</i> e <i>Monilia</i> causadores de podridões de frutos e podridões pós-colheita em pomáceas.	Antagonista, competição por espaço na superfície dos tecidos vegetais.	Alemanha
<b>Shemer®</b>	<i>Metschnikowia fructicola</i>	<i>Penicillium digitatum</i> e <i>Penicillium italicum</i> dos citros, <i>Penicillium expansum</i> em frutos de caroço, <i>Botrytis cinérea</i> e <i>Rhizopus stolonifer</i> em uva e morango, <i>Aspergillus niger</i> em uva.	Competição por espaço e nutrientes.	Israel
<b>Yield Plus®</b>	<i>Cryptococcus albidus</i>	Patógenos de pós-colheita ( <i>Botrytis</i> e <i>Penicillium</i> ) em maçã e citros.	-----	África do Sul

Fonte: Ajustada de Bettiol et al., (2012).

Além disso, algumas espécies de leveduras são capazes de secretar metabólitos proteicos de massa molar variável, chamados de toxinas *killer*, capazes de inibir ou matar outros micro-organismos por alterações na parede ou membrana

celular (BUZZINI et al., 2007). Atualmente, existem inúmeros relatos de eficácia e potencial das leveduras *killer* para controlar fungos filamentosos indesejáveis. *Botrytis cinerea*, um dos agentes deteriorantes mais importantes em uvas e morangos, foi inibido com toxinas parcialmente purificadas de *Pichia membranifaciens* CYC 1106 (SANTOS; MARQUINA, 2004). O mesmo fungo foi posteriormente inibido com cepas de *Pichia anomala* e *Debaryomyces hansenii*, aumentando o arsenal biológico com potencial de biocontrole (SANTOS et al., 2004).

*Issatcehnkia orientalis*, *Candida guilliermondii*, *P. ohmeri* e *Torulaspota globosa*, entre outros, têm sido relatadas como bem sucedidas na inibição de fungos deteriorantes, tais como *Aspergillus carbonarius*, *A. niger*, *P. expansum* e *Colletotrichum sublineolum* em culturas de uva, maçã e sorgo, respectivamente (BLEVE et al., 2006; COELHO et al., 2009; ROSA et al., 2010).

Ao testar o efeito antifúngico *in vitro* do extrato livre de células de *H. wingei* AM2<sub>2</sub>, a germinação de conídios e o desenvolvimento micelial de *P. expansum* foram inibidos em 96,49% e 78,34%, respectivamente (FERREIRA et al., 2019). No mesmo trabalho, os autores também obtiveram excelentes resultados contra *Aspergillus ochraceus*, indicando a susceptibilidade de diferentes espécies fúngicas a um mesmo composto antagônico (FERREIRA et al., 2019).

### 3.5 REVESTIMENTO COMESTIVEL

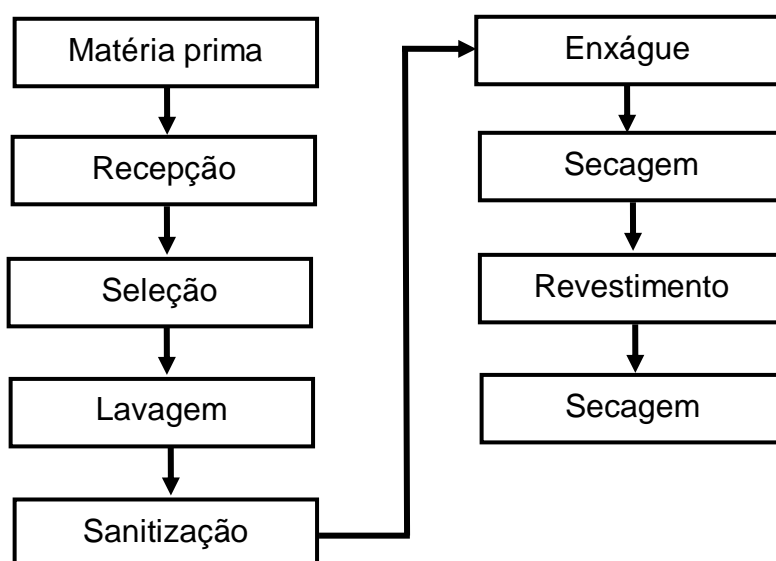
Os revestimentos comestíveis, conhecidos também como coberturas comestíveis, são definidos como uma fina e imperceptível camada depositada sobre o alimento, por imersão ou aspersão, e são produzidos a partir de materiais biodegradáveis que formam uma película protetora sobre o alimento (FARIAS et al., 2012).

A utilização de revestimentos comestíveis em alimentos pode trazer inúmeras vantagens, tais como prolongar a sua vida útil, proteção do fruto contra danos mecânico durante a distribuição e comercialização, além de melhorar a aparência (brilho), serem considerados GRAS (Generally Recognized as Safe), e de baixo custo (FERNÁNDEZ, 2015). Adicionalmente, é importante que os revestimentos sejam biodegradáveis, apresentem boas propriedades sensoriais e nutricionais, desempenhem boa atuação como barreira a gases e vapor d'água, e

sejam resistentes à perfuração, bem como apresentem boa elasticidade e boas propriedades mecânicas (ASSIS, BRITTO, 2014).

O processo de aplicação dos revestimentos em frutos pós-colheita envolve algumas etapas, tais como: recepção, seleção, lavagem, sanitização, enxágue, drenagem, secagem e revestimento, conforme apresentado na Figura 10. A recepção e seleção tem por função selecionar e qualificar a matéria-prima e frutos danificados mecanicamente ou com sinais de podridão fúngica advinda do campo (SILVA et al., 2011). Em seguida ocorre a lavagem para remoção de partículas de solo ou outros materiais estranhos e então a sanitização, em tanques com água e cloro. Os frutos são então enxaguados e drenados, por meio de peneiras ou telas de aço inoxidável, que permitem acelerar a perda d'água (SIGRIST, BLEINROTH, MORETTI, 2002; SILVA et al., 2011). Por fim, a etapa de revestimento pode ser realizada por imersão em tanques contendo solução filmogênica ou em esteiras móveis com aplicação por aspersão (ASSIS, BRITTO, 2014).

**Figura 10:** Etapas de aplicação dos revestimentos em frutos pós-colheita



**Fonte:** Adaptada de Silva et al., (2011), Assis; Britto, (2014).

Em estudo realizado em maçãs, o revestimento a base de quitosana se mostrou eficiente quanto ao retardo da maturação e redução de perda de água ao longo do armazenamento, intensificando o brilho e obtendo boa aceitação até 28 dias de armazenamento em temperatura ambiente (JORGE et al., 2011).

A produção do revestimento comestível pode ser realizada a partir de diferentes compostos como, polissacarídeos, proteínas, lipídios e resinas naturais (GALGANO et al., 2015), bem como aditivos e emulsificantes de natureza química diferente podem ser incorporados à formulação, com o objetivo de formar emulsões estáveis e melhorar as propriedades mecânicas (FERNÁNDEZ, 2015).

Entre os polissacarídeos se destaca o amido, que apresenta um custo consideravelmente baixo, grande disponibilidade e é de fonte renovável. Seu comportamento é tido como termoplástico quando utilizado em associação com outras substâncias plastificantes. Entre os amidos provenientes de cereais, o de aveia possui propriedades específicas que o tornam único, como seu teor lipídico que pode ser até quatro vezes superior ao teor de outros cereais comuns (GALDEANO et al., 2014).

Outra vantagem do amido de aveia é a presença da amilose que se associa naturalmente com os lipídios. Essa característica é complexa e única do amido de aveia, já que a maioria dos amidos necessita da incorporação de lipídios para reduzir a hidrofiliabilidade dos materiais. Na presença de um material hidrofóbico a umidade dos filmes pode levar a uma menor variação das suas características mecânicas, sendo indicado para aplicação em produtos refrigerados devido a sua alta estabilidade à retrogradação (GALDEANO et al., 2009).

No processamento da aveia a indústria produz em média 25 a 30 % de cascas, talos, palhas e outros cereais (resíduo primário) e 10 a 20 % de aveias duplas, finas, leves (descartes), 2 a 5 % de resíduos provenientes da limpeza de equipamentos, produtos fora do padrão, e resíduos do processamento (resíduos secundários) (DEANE; COMMERS, 1986). A aplicação e utilização dos resíduos agroindustriais é vantajosa pois minimiza os impactos ambientais, de forma a proporcionar uma redução de custos no desenvolvimento de novos produtos, além de possibilitar aplicações na indústria (PELIZER et al., 2007).

Em estudo realizado por Costa et al., (2018), um filme comestível foi desenvolvido à base de amido proveniente de resíduo de aveia industrial e as propriedades mecânicas se mostraram satisfatórias para aplicação como revestimento comestível em frutos. Nesse mesmo estudo foi testado a incorporação de composto antifúngico natural em revestimento comestível, e foi testado o efeito inibitório *in vitro* de fungos filamentosos deteriorantes em frutos visando prolongar a sua vida útil.

Um estudo realizado com a incorporação de *Debaryomyces hansenii* em revestimento comestível mostrou eficiência no controle de *Penicillium italicum* em limão, com 20% de incidência de doença no tratamento preventivo e com 70% no tratamento curativo durante o armazenamento, preservando a cor e reduzindo a perda de massa (GONZÁLEZ-ESTRADA et al., 2017). Segundo os autores deste trabalho, os resultados indicam que os revestimentos contendo *D. hansenii* tem alto potencial de aplicação, sendo uma alternativa viável para controlar doenças pós-colheita (GONZÁLEZ-ESTRADA et al., 2017).

Um filme desenvolvido à base de amido de aveia e com composto antifúngico de *H. wingei* apresentou espessura, solubilidade, permeabilidade ao vapor d'água e resistência à perfuração, satisfatórios para utilização como revestimento comestível em frutos pós-colheita (COSTA et al., 2019). Segundo os mesmos autores, o filme desenvolvido mostrou maior solubilidade e permeabilidade ao vapor d'água, bem como maior resistência a perfuração, quando comparado com o filme à base de amido residual de aveia em solução aquosa, ressaltando assim a possibilidade de aplicação em frutos pós-colheita (COSTA et al., 2019).

Revestimentos elaborados com alginato de sódio (NaAlg) e goma alfarroba (LBG) com incorporação de células integras de levedura *killer* aplicados em laranjas, foram eficazes na redução da perda de massa e redução de *P. digitatum* nos frutos durante 13 dias de armazenamento a 25°C (ALLOUI et al., 2015).

Com o intuito de reduzir perdas dos frutos e devido às restrições de resíduos de agrotóxicos aplicados na pós-colheita, surge a oportunidade de novos métodos para o controle de podridão. A utilização de revestimentos comestíveis seria uma alternativa viável, que reduziria a incidência de podridão, preservando a qualidade dos frutos, e conseqüentemente minimizando perdas econômicas (CANAVAR; DI PIERO, 2011).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um trabalho de caráter experimental realizado no período de agosto de 2018 a outubro de 2019, envolvendo a aplicação de um revestimento comestível em maçãs variedade Fuji, à base de amido extraído de resíduo de aveia industrial, adicionado de composto antifúngico obtido do cultivo de levedura antagonista contra *Penicillium expansum*. O experimento *in situ* foi realizado no Laboratório de Microbiologia, enquanto que as análises físico-químicas e determinação da perda de massa foram realizadas no Laboratório de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Londrina (UTFPR). A análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada no Laboratório de Microscopia Eletrônica da Universidade Estadual de Londrina (UEL).

### 4.1 MATÉRIA-PRIMA E MICRO-ORGANISMOS

O amido extraído do resíduo de aveia industrial foi fornecido pela empresa SL Cereais e Alimentos Ltda., situada em Mauá da Serra, Paraná, Brasil.

As maçãs cultivar Fuji foram adquiridas em comércio local da cidade de Londrina - PR.

As culturas de *Penicillium expansum* n. 2 e *Hansenula wingei* AM-2<sub>2</sub>, da coleção de culturas do laboratório de Microbiologia da UTFPR, Câmpus Londrina, foram utilizadas nesta pesquisa.

A levedura e o fungo filamentosos foram mantidos a 7 °C em ágar Meio Para levedura – MPL (glicose 2%, extrato de levedura 0,5%, cloreto de sódio 1%, sulfato de amônio 0,5%, ágar 1,8%) e em Ágar Batata Dextrose – BDA, respectivamente. *H. wingei* foi reativa em Caldo MPL para obtenção do extrato bruto, ao passo que *P. expansum* foi cultivado no mesmo meio, contendo 1,8% de ágar (COELHO et al., 2009). Para o ensaio antifúngico *in situ*, *P. expansum* foi suspenso em solução de Tween 80 0,1 % (v/v) e padronizado em 10<sup>5</sup> conídios / mL, com auxílio de câmara de Neubauer.

## 4.2 OBTENÇÃO DO COMPOSTO ANTIFÚNGICO NATURAL

Para a obtenção do composto antifúngico, *H. wingei* AM2<sub>2</sub> foi inicialmente ativada em 25 mL de caldo MPL a 25°C por 24h, seguido de padronização do inóculo na Escala número 1 de MacFarland, e transferência de uma alíquota de 100 µL (correspondente a  $3,0 \times 10^6$  células) para frasco Erlenmeyers contendo 50 mL de Caldo MPL. O cultivo estático de 96h a 25°C foi centrifugado (15min a 10.000 rpm) e filtrado em membrana de 0,20 µm para remoção das células (COELHO et al., 2009). O sobrenadante livre de células (Extrato Bruto contendo o composto antifúngico) foi homogeneizado e armazenado em frascos âmbar a - 20°C para elaboração da solução filmogênica.

## 4.3 ELABORAÇÃO DO REVESTIMENTO ANTIFÚNGICO

O revestimento foi elaborado conforme descrito por Costa et al. (2018), empregando-se a técnica de *casting*, com dispersão de amido de aveia em extrato livre de células contendo composto antifúngico e glicerol, como agente plastificante. Em um bequer contendo 90 mL de extrato livre de células com composto antifúngico (conforme descrito no item 4.2) foi adicionado 4 g de amido, seguido de agitação (agitador magnético) por 15 min em temperatura ambiente. Paralelamente, uma solução de glicerol a 20% (20g / 100g de macromolécula de amido) foi preparada, utilizando-se 0,8 mL de glicerol em 9,2 mL do mesmo extrato livre de células. Ambas foram homogeneizadas.

Como controle, foi elaborada uma formulação do revestimento sem o composto antifúngico, substituindo-o integralmente pelo volume com água destilada. As duas formulações foram aquecidas a 90°C por 30 minutos para a gelatinização dos grânulos de amido de aveia, originando as soluções filmogênicas, foram resfriadas até 30°C e então aplicadas nos frutos.

## 4.4 PREPARO DOS FRUTOS E APLICAÇÃO DO REVESTIMENTO

Os frutos foram selecionados visualmente por tamanho, cor, firmeza e ausência de lesões mecânicas. Os frutos selecionados foram higienizados por imersão em solução de hipoclorito de sódio 1% (v/v) (NaClO, 2,5% cloro ativo) por

10 minutos, seguido de duas lavagens com água destilada e secagem em BOD a 25°C por 2 horas.

Para a aplicação do revestimento, os frutos foram submersos individualmente por 1 minuto em um béquer contendo a solução filmogênica a 30°C, seguido de secagem em BOD a 25°C por 24 horas. Dois ferimentos com auxílio de perfurador pontiagudo (2,5 mm de profundidade e 3,0 mm de largura) foram realizados na porção superior do fruto, seguido de inoculação de uma alíquota de 10 µL da suspensão de *P. expansum* (previamente padronizado em 10<sup>5</sup> conídios/mL) com o auxílio de micropipeta (Figura 11).

Os frutos foram armazenados individualmente em potes plásticos higienizados (10,0 cm Largura X 8,5 cm altura), e incubados em BOD a 25°C.

**Figura 11.** Fruto com ferimentos de 2,5 mm de profundidade e 3,0 mm de largura realizados na porção superior do fruto, seguido de inoculação de uma alíquota de 10 µL da suspensão de *P. expansum*.



**Fonte:** autoria própria.

#### 4.5 FASE PILOTO E FASE EXPERIMENTAL

Este estudo foi realizado em duas fases, denominadas Fase Piloto e Fase Experimental.

##### 4.5.1. Fase Piloto

A fase piloto foi realizado com os seguintes propósitos: definir os intervalos de tempo das observações de podridão; determinar a ordem de realização



dos fermentos nos frutos e aplicação do revestimento comestível; e determinar os parâmetros a serem analisados.

Para tanto, foram realizadas 3 fases pilotos distintos como testes preliminares, consistindo de 5 tratamentos, sendo:

T1 (RFA): Fruto revestido com formulação de solução aquosa, seguido de ferimento e inoculação com *P. expansum*.

T2 (FRA): Fruto ferido, revestido com formulação de solução aquosa e inoculado com *P. expansum*.

T3 (RFEB): Fruto revestido com formulação à base de extrato livre de células (Extrato bruto), seguido de ferimento e inoculação com *P. expansum*.

T4 (FREB): Fruto ferido, revestido com formulação à base de extrato livre de células (Extrato bruto) e inoculado com *P. expansum*.

C (Controle): Fruto ferido e inoculado com *P. expansum* (sem revestimento).

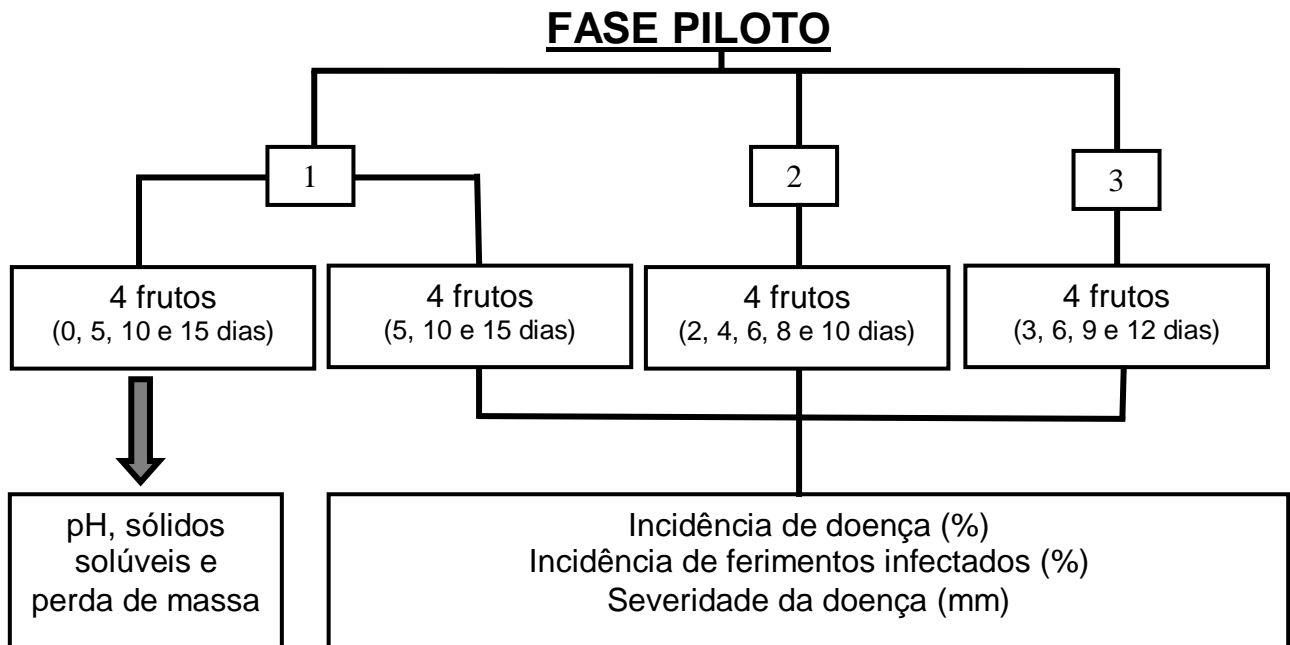
Os tratamentos envolvendo primeiramente o revestimento do fruto, seguido de ferimento simulam uma situação de prevenção da doença (aplicação pré-infecção), ao passo que aqueles onde os frutos são inicialmente feridos e depois revestidos promovem um efeito curativo (aplicação pós-infecção). No primeiro caso, os frutos revestidos ainda estão sujeitos a pequenas perfurações e machucados durante a distribuição para os revendedores e nas gôndolas para comercialização; o revestimento, que atua a princípio como barreira, está passível de pequenos rompimentos, possibilitando a colonização do fungo e conseqüentemente a deterioração. Já no efeito curativo, o revestimento é incorporado ao fruto já machucado, facilitando o acesso do fungo até a polpa do fruto; uma vez instalado, é necessário que o componente ativo do revestimento se difunda pela polpa para interromper o apodrecimento.

A fase piloto 1 consistiu de 40 frutos, sendo 20 (4 por tratamento) submetidos às análises físico-químicas (pH, sólidos solúveis e perda de massa), e 20 (4 por tratamento) ao acompanhamento da doença (incidência da doença, de fermentos infectados e severidade). As análises foram realizadas aos 5, 10 e 15 dias de armazenamento a 25°C.

Nas fases pilotos 2 e 3, 20 frutos (4 por tratamento) foram armazenados a 25°C por 10 e 12 dias, e o acompanhamento da doença foi realizado em intervalos

de 2 e 3 dias, respectivamente. Nestas fases pilotos não foram realizadas análises físico-químicas (Figura 12).

**Figura 12** – Fluxograma explicativo para realização das fases pilotos.

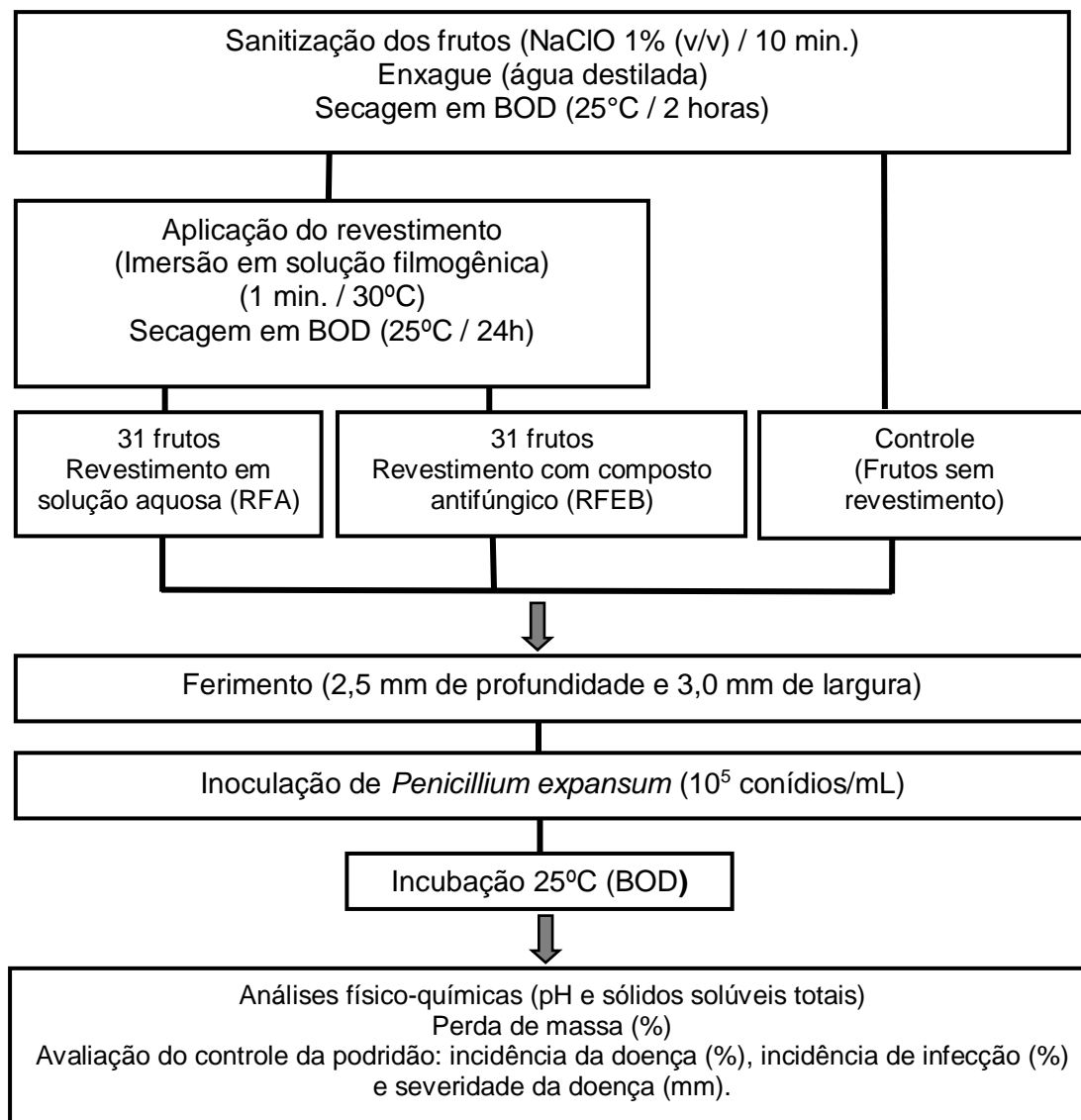


**Fonte:** Autoria própria.

#### 4.5.2. Fase experimental

Com base nos resultados obtidos na fase piloto, foram definidas as condições da Fase experimental, determinando-se o tratamento com melhor efeito (preventivo), e o intervalo de observação (0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 dias). Portanto a Fase experimental consistiu de 3 Tratamentos (31 frutos com revestimento elaborado com composto antifúngico; 31 frutos com revestimento elaborado em solução aquosa; 31 frutos sem revestimento). O experimento foi realizado 3 vezes, sendo 93 frutos por repetição (total 279 frutos) (Figura 13).

**Figura 13** – Fluxograma explicativo para realização da fase experimental.



**Fonte:** Autoria própria.

#### 4.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As seguintes análises físico-químicas foram realizadas conforme descrito na *Association of Official Analytical Chemists - AOAC* (1995): pH (AOAC 981.12) e sólidos solúveis totais (AOAC 932.12). As análises foram realizadas em triplicata, nos intervalos de tempo pré-determinados na fase Piloto 1 (0, 5, 10 e 15 dias) e na fase experimental (0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 dias).

#### 4.7 PERDA DE MASSA

Para determinar a perda de massa, foi utilizada uma balança eletrônica semi-analítica, considerando a diferença entre a massa inicial do fruto e a massa obtida a cada intervalo de tempo de amostragem. As análises foram realizadas em triplicata, nos intervalos de tempo pré-determinados na fase Piloto 1 (0, 5, 10 e 15 dias) e na fase experimental (0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 dias). A média dos resultados foi expressa em porcentagem, calculado da seguinte forma:

$$\%Pm: (P_i - P_f) \times 100/P_i$$

Onde:

Pm: perda de massa

P<sub>i</sub>: peso inicial do fruto;

P<sub>f</sub>: peso final do fruto

#### 4.8 AVALIAÇÃO DO CONTROLE DA PODRIDÃO

A avaliação da podridão dos frutos foi realizada por meio das análises de incidência da doença, incidência de ferimentos infectados e severidade da doença.

Para estas análises, 4 frutos de cada tratamento foram avaliados nos tempos 5, 10 e 15 dias (fase piloto 1), nos tempos 2, 4, 6, 8 e 10 dias (fase piloto 2) e nos tempos 3, 6, 9 e 12 dias (fase piloto 3). Na fase experimental foram utilizados 10 frutos para cada tratamento, avaliados nos tempos 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 dias.

Na determinação da incidência da doença, o fruto foi considerado doente quando pelo menos um ferimento apresentasse sinal de podridão. O resultado foi expresso em porcentagem de frutos doentes.

Na determinação da incidência de ferimentos infectados, foi considerado positivo o ferimento que apresentasse sinais de infecção de desenvolvimento do fungo. O resultado foi expresso em porcentagem de ferimentos infectados.

A determinação da severidade da doença, foi realizada pelo diâmetro da podridão (lesão) dos ferimentos nos frutos com o auxílio de um paquímetro. Os resultados foram expressos em milímetros.

Além disso, a porcentagem de controle das lesões foi calculada da seguinte forma:

$X$  = Média aritmética do diâmetro das lesões no tratamento x 100 / Média aritmética do diâmetro das lesões no controle;

Controle das lesões ( $Y$ ) = 100 -  $X$ .

#### 4.9 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Para a análise de microestrutura dos revestimentos foi utilizando microscópio eletrônico de varredura (FEI Quanta 200). As amostras foram secas em estufa com circulação de ar por 24h a 40°C e mantida em dessecador por 10 dias para completa secagem. As amostras foram fixadas em “stubs” com fita de carbono, recobertas com uma fina camada de ouro em um Sputter Coater (BAL-TEC, modeloSCD-050, Balzers, Liechtenstein) e finalmente visualizadas em microscópio eletrônico de varredura (Philips, modelo FEI Quanta 200, Japão), com potência de aceleração de 20 kV. A magnitude de observação foi de 400x.

#### 4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A fase experimental foi conduzida em um delineamento inteiramente casualizado. Os resultados da incidência de doença, incidência de ferimentos infectados, severidade da doença, pH, sólidos solúveis totais e perda de massa da fase experimental, e os resultados das análises de severidade da doença, pH, sólidos solúveis totais e perda de massa na fase piloto foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $p < 0,05$ ). Foi empregado o programa Statistica 12.0 (Statsoft, USA).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 FASE PILOTO

As três fases pilotos foram conduzidos com períodos de armazenamento de 10, 12 e 15 dias, onde o acompanhamento da podridão dos frutos (incidência da doença e de ferimentos infectados e severidade da doença) foi realizado com intervalos de tempos de 2, 3 e 5 dias, respectivamente. Apenas a fase piloto 1 de 15 dias foi utilizada para o monitoramento dos parâmetros físico-químicos e porcentagem de perda de massa.

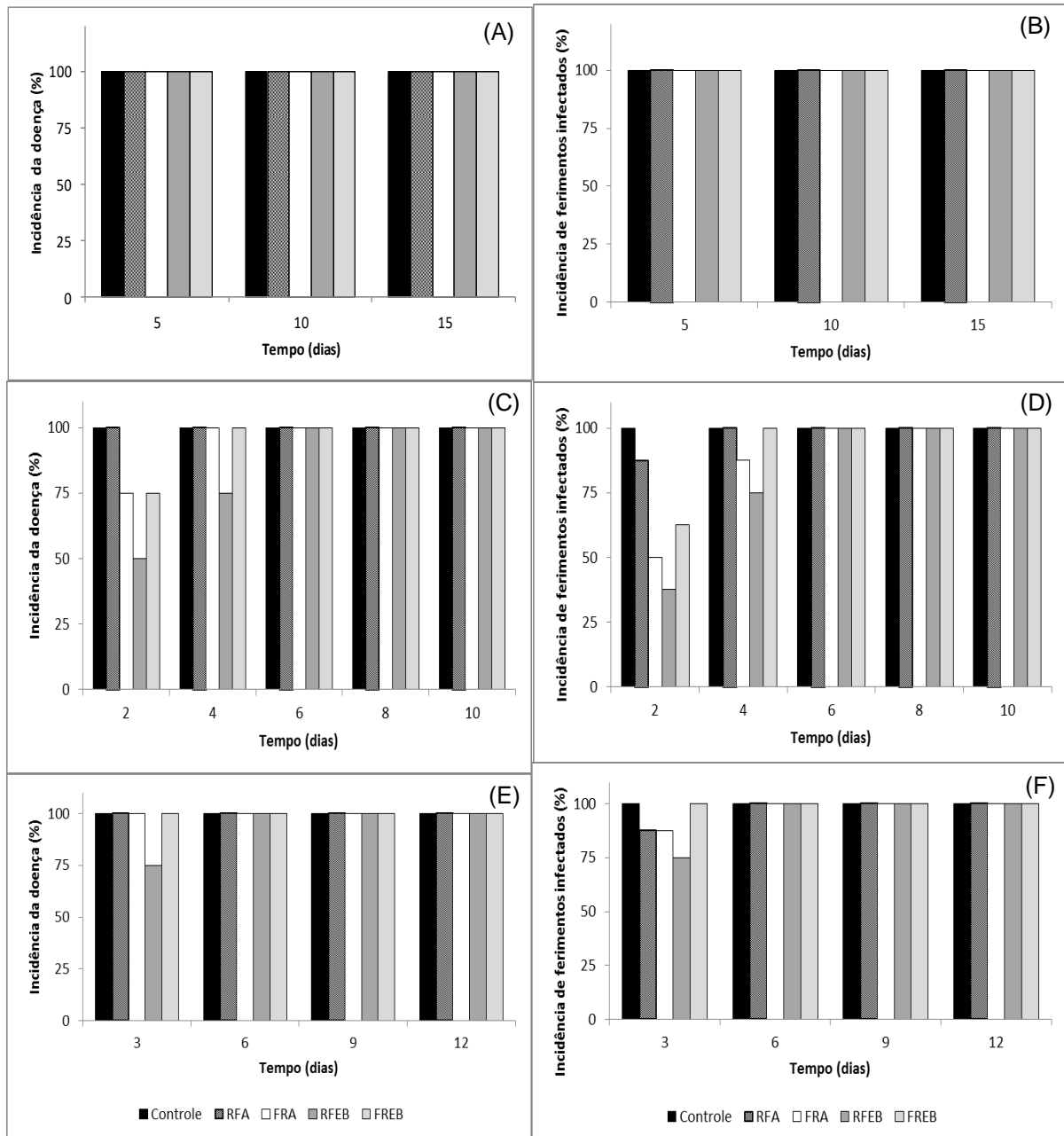
A ordem de aplicação dos revestimentos no fruto foi realizada com o intuito de estudar o efeito preventivo e curativo da doença, ou seja, anteriormente e posteriormente a realização do ferimento, respectivamente. No primeiro caso, os frutos revestidos ainda estão sujeitos a pequenas perfurações e machucados durante a distribuição para os revendedores e nas gôndolas para comercialização; o revestimento, que atua a princípio como barreira, está passível de pequenos rompimentos, possibilitando a colonização do fungo e conseqüentemente a deterioração. A presença do composto antifúngico na formulação poderia inibir a germinação de conídios / desenvolvimento micelial, prevenindo a deterioração. Já no efeito curativo, o revestimento é incorporado ao fruto já machucado, facilitando o acesso do fungo até a polpa do fruto; uma vez instalado, é necessário que o componente ativo do revestimento se difunda pela polpa para interromper o apodrecimento.

De maneira geral, a incidência da doença e de ferimentos infectados foi controlada até o quarto dia de armazenamento, nos frutos contendo revestimento antifúngico aplicado com função preventiva (RFEB), ao passo que os elaborados em solução aquosa (RFA e FRA) mostraram pouco ou nenhum controle sobre os parâmetros analisados. No segundo dia de armazenamento, o revestimento RFEB controlou em 50% a ocorrência da doença e 62,5% da infecção nos ferimentos, enquanto que a inibição pelos elaborados em solução aquosa foi de 25 e 50%, respectivamente (Figura 14).

Após o quinto dia, a incidência de frutos doentes e de ferimentos infectados atingiu 100%, independente do revestimento testado e a ordem de aplicação. Em relação à ordem de aplicação dos revestimentos antifúngicos, o efeito

preventivo prevaleceu, ou seja, mesmo que o fungo se instale, o seu desenvolvimento para evolução da infecção ocorre de forma mais lenta (Figura 14).

**Figura 14.** Incidência de doença e de ferimentos infectados por *Penicillium expansum* em maçãs armazenadas a 25°C, com e sem revestimento antifúngico.

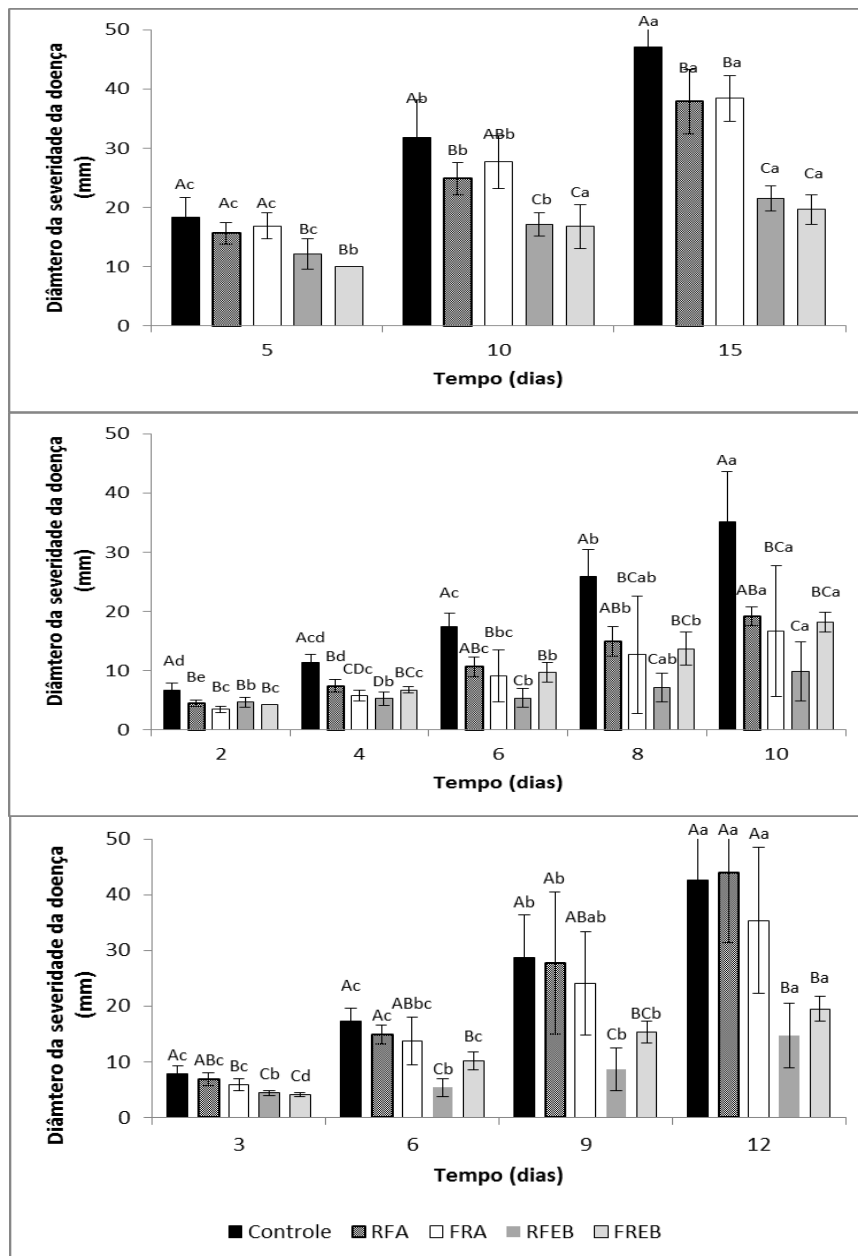


Controle: Fruto sem revestimento, ferido e inoculado com *P. expansum*; RFA: revestimento em solução aquosa / ferimento / inoculação; FRA: ferimento / revestimento em solução aquosa / inoculação; RFEB: revestimento antifúngico / ferimento / inoculação; FREB: ferimento / revestimento antifúngico / inoculação. (A, B) Fase Piloto 1 - tempos 5, 10 e 15 dias, (C, D) Fase Piloto 2 - tempos 2, 4, 6, 8 e 10 dias, (E, F) Fase Piloto 3 - tempos 3, 6, 9 e 12 dias.

**Fonte:** Autoria própria.

Na Figura 15 estão apresentados os resultados dos diâmetros das lesões (severidade da doença) ao longo do período de armazenamento a 25°C nas três fases pilotos realizadas.

**Figura 15.** Severidade da doença em maçãs armazenadas a 25°C, com e sem revestimento antifúngico.



Média  $\pm$  desvio padrão de 8 dados. Em cada tempo de armazenamento, letras maiúsculas iguais, e em cada tratamento, letras minúsculas iguais, não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de significância (teste Tukey). Controle: Fruto sem revestimento, ferido, inoculado com *P. expansum*; RFA: revestimento em solução aquosa / ferimento / inoculação; FRA: ferimento / revestimento em solução aquosa / inoculação; RFEB: revestimento antifúngico / ferimento / inoculação; FREB: ferimento / revestimento antifúngico / inoculação. (A) Fase Piloto 1 - tempos 5, 10 e 15 dias, (B) Fase Piloto 2 - tempos 2, 4, 6, 8 e 10 dias, (C) Fase Piloto 3 - tempos 3, 6, 9 e 12 dias.

**Fonte:** Autoria própria.



Os revestimentos contendo composto antifúngico controlaram o aumento das lesões infectadas até o último dia de observação, quando comparados com os frutos não revestidos ( $p \leq 0,05$ ). Por outro lado, o controle das lesões nos frutos revestidos sem composto antifúngico foi bastante variável, oscilando ao longo do período de armazenamento (Figura 15).

O acompanhamento do controle das lesões foi melhor observado na fase piloto realizada com intervalos de 2 dias (Figura 15B), onde foi possível se obter uma análise mais detalhada do parâmetro em questão. As primeiras 48 horas foram caracterizadas pela colonização, adaptação e infecção do fruto, não sendo diferenciado o comportamento dos revestimentos com e sem antifúngico (Figura 15B). A partir do quarto dia, o tratamento RFEB se destacou significativamente em relação aos demais revestimentos, com inibição de 67,26% do diâmetro das lesões no décimo dia (Figura 15B).

Na Tabela 2 estão apresentados os valores médios das lesões nos frutos e os valores médios de controle das lesões, levando-se em consideração nas três fases pilotos simultaneamente. Os valores médios de controle das lesões pelos revestimentos antifúngico e de solução aquosa (controle) foram de 55 e 20%, respectivamente, com destaque para o revestimento antifúngico aplicado antes do ferimento, cujo valor médio de controle foi de 59%.

**Tabela 2.** Valores médios dos diâmetros das lesões (mm) em maçãs armazenadas a 25°C por 15 dias, com e sem revestimento e inoculadas com  $10^5$  conídios de *Penicillium expansum*.

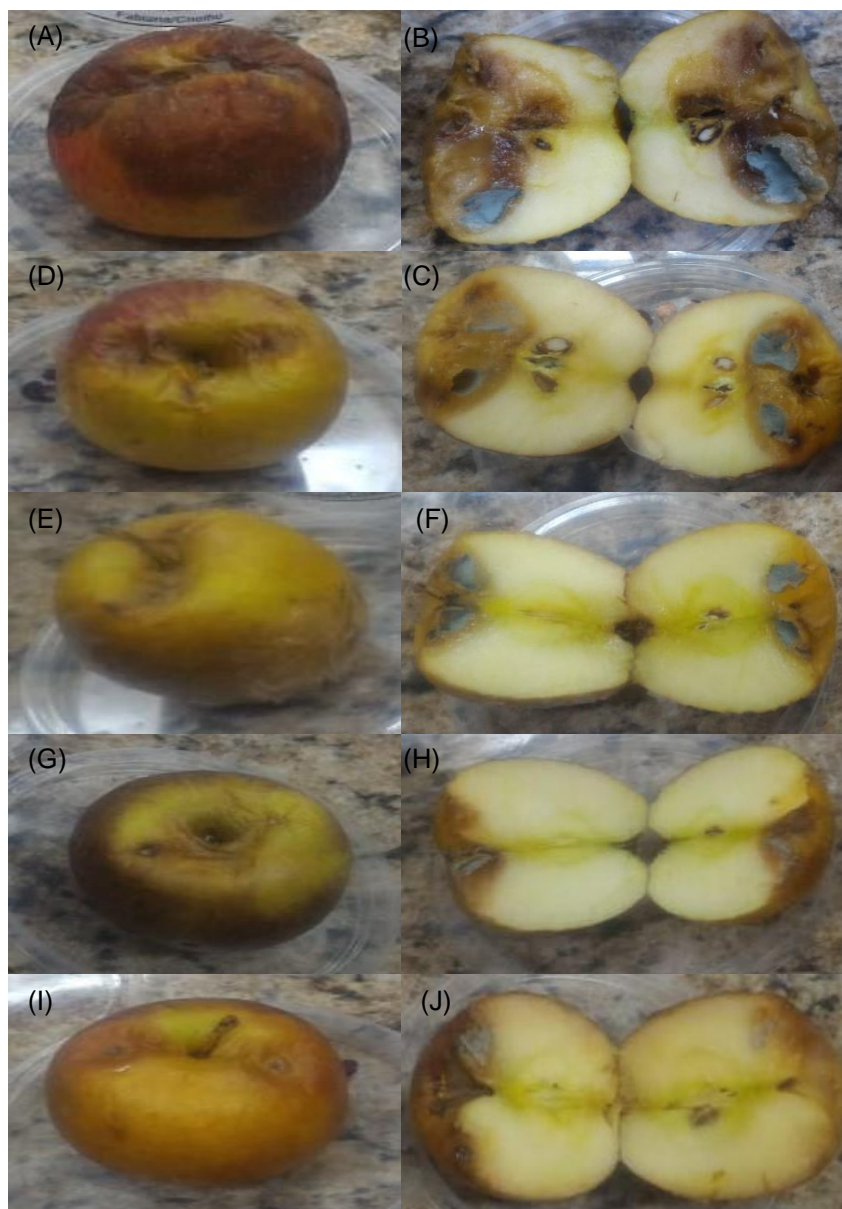
	Valor médio das lesões (mm)*	Valor médio do controle das lesões (%)
RFA	19,03 ± 3,79 <sup>AB</sup>	21,27
FRA	19,46 ± 5,43 <sup>AB</sup>	19,49
RFEB	9,89 ± 2,45 <sup>B</sup>	59,08
FREB	12,05 ± 1,58 <sup>B</sup>	50,15
Controle	24,17 ± 4,81 <sup>A</sup>	-

\* O valor médio das lesões corresponde à média ± desvio padrão de 96 dados, nas três fases pilotos, durante o período de armazenamento a 25°C. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey. O valor médio do controle das lesões corresponde à porcentagem de inibição dos frutos revestidos em relação ao controle (sem revestimento). RFA: revestimento em solução aquosa / ferimento / inoculação; FRA: ferimento / revestimento em solução aquosa / inoculação; RFEB: revestimento antifúngico / ferimento / inoculação; FREB: ferimento / revestimento antifúngico / inoculação.

**Fonte:** Autoria própria.

Na Figura 16 estão apresentadas as imagens de um fruto inteiro e cortado após 12 dias de armazenamento a 25°C (fase piloto 3). Percebe-se claramente que o revestimento com composto antifúngico aplicado na forma preventiva controlou o desenvolvimento de *P. expansum* durante o armazenamento (Figura 16 G e 16H).

**Figura 16.** Imagens das maçãs com e sem revestimento antifúngico após 12 dias de armazenamento a 25°C (fase piloto 3).



(A) Controle: Fruto sem revestimento, (B) Controle: Fruto sem revestimento (cortada), (C) RFA: revestimento em solução aquosa / fermento / inoculação, (D) RFA: revestimento em solução aquosa / fermento / inoculação (cortada), (E) FRA: fermento / revestimento em solução aquosa / inoculação, (F) FRA: fermento / revestimento em solução aquosa / inoculação (cortada), (G) RFEB: revestimento antifúngico / fermento / inoculação, (H) RFEB: revestimento antifúngico / fermento / inoculação (cortada), (I) FREB: fermento / revestimento antifúngico / inoculação, (J) FREB: fermento / revestimento antifúngico / inoculação (cortada).

**Fonte:** Autoria própria.

Levando-se em consideração que o pH das maçãs apresentam-se na faixa de 3,5 a 4,2 (EMBRAPA, 2004), os valores determinados neste trabalho permaneceram estáveis nos frutos ao longo do armazenamento (Tabela 3), com variação de 3,9 a 4,1. Comparando-se o teor de pH dos tratamentos aos quinze dias de armazenamento, observa-se que a variação entre os tratamentos não foi significativa, indicando não exercer influência nas diferentes respostas das lesões provocadas pelo fungo. Ainda, mesmo que os valores de pH entre os tempos inicial e final tenha sido significativo para os tratamentos RFA, RFEB e FREB, a faixa de pH observada é considerada ótima para o desenvolvimento de *P. expansum*.

Os teores de sólidos solúveis variaram de 13,1 a 15,4 °Brix nos frutos sem revestimento, ao passo que nos frutos revestidos com e sem composto antifúngico a variação foi de 12,4 a 15,9 °Brix e de 10,5 a 16,3 °Brix, respectivamente. Os valores de sólidos totais também situaram-se na faixa descrita pela literatura, ou seja, favoráveis para o desenvolvimento do fungo em todos os tratamentos. A literatura descreve uma faixa de 11 a 16 °Brix em frutos de maçã em estágio de maturação (EMBRAPA, 2004).

Portanto, o retardamento na severidade da doença em maçãs revestidas está diretamente relacionado ao efeito protetor do revestimento, principalmente antifúngico, e não aos parâmetros físico-químicos.

**Tabela 3** – Parâmetros físico-químicos dos frutos de maçã Fuji armazenados em BOD a 25°C, ao longo de 15 dias no Fase Piloto 1.

Tratamentos	pH			
	T0	T5	T10	T15
Controle	4,0 ± 0,1 <sup>ABa</sup>	3,9 ± 0,1 <sup>Ca</sup>	3,9 ± 0,2 <sup>Aa</sup>	4,0 ± 0,2 <sup>Aa</sup>
RFA	3,9 ± 0,0 <sup>Cc</sup>	4,0 ± 0,0 <sup>Bbc</sup>	4,0 ± 0,1 <sup>Ab</sup>	4,1 ± 0,1 <sup>Aa</sup>
FRA	4,1 ± 0,1 <sup>Aa</sup>	3,9 ± 0,1 <sup>Cb</sup>	3,9 ± 0,1 <sup>Ab</sup>	4,0 ± 0,1 <sup>Aab</sup>
RFEB	3,9 ± 0,1 <sup>BCb</sup>	4,1 ± 0,0 <sup>Aa</sup>	3,9 ± 0,0 <sup>Ab</sup>	4,1 ± 0,1 <sup>Aa</sup>
FREB	4,1 ± 0,0 <sup>Aa</sup>	4,0 ± 0,1 <sup>Bab</sup>	4,0 ± 0,1 <sup>Aab</sup>	3,9 ± 0,0 <sup>Ab</sup>
Sólidos solúveis totais (°Brix)				
Controle	13,4 ± 0,6 <sup>Bb</sup>	15,4 ± 0,1 <sup>ABa</sup>	14,9 ± 0,2 <sup>Ab</sup>	13,1 ± 0,2 <sup>Aab</sup>
RFA	16,1 ± 0,1 <sup>Aa</sup>	15,5 ± 0,3 <sup>BCa</sup>	14,0 ± 0,1 <sup>Aab</sup>	10,5 ± 0,5 <sup>Ab</sup>
FRA	13,3 ± 0,4 <sup>Ba</sup>	16,3 ± 0,4 <sup>Aa</sup>	15,6 ± 0,4 <sup>Aa</sup>	12,1 ± 0,2 <sup>Aa</sup>
RFEB	14,1 ± 0,1 <sup>ABb</sup>	12,4 ± 0,4 <sup>Cb</sup>	15,5 ± 0,4 <sup>Aa</sup>	13,3 ± 0,2 <sup>Aab</sup>
FREB	15,9 ± 0,1 <sup>ABa</sup>	12,7 ± 0,3 <sup>Cb</sup>	12,8 ± 0,2 <sup>Ab</sup>	13,2 ± 0,3 <sup>Ab</sup>

Média ± desvio padrão, de triplicata. Em cada tempo, letras maiúsculas iguais na mesma coluna, e em cada tratamento, letras minúsculas iguais na mesma linha, não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

**Fonte:** Autoria própria.

A perda de massa foi outro fator abordado neste estudo, e está relacionado com a taxa de respiração do fruto, perda de unidade e seu ambiente de armazenamento, como umidade relativa e temperatura do ambiente; além disso, também está relacionada como consequência do processo deteriorativo, caracterizado pelo murchamento, amolecimento e perda de suculência do fruto (KADER, 2002).

O percentual de perda de massa nos frutos aumentou gradualmente em todos os tratamentos ao longo do período de armazenamento (Tabela 4). A variação da perda de massa nos frutos não revestidos e com revestimento em solução aquosa foi de 6,9%, enquanto que nos frutos revestidos com composto antifúngico a variação foi de 5,9%, após 15 dias de armazenamento (Tabela 4).

Os frutos com tratamento FRA apresentaram menor perda de massa após 15 dias, quando comparados ao controle e aos frutos com revestimento antifúngico. Isso poderia ser explicado pelo fato de que o fruto foi revestido após o ferimento, para análise de efeito curativo, o que manteve a sua superfície intacta sem zonas de descontinuidade (Figura 17A). A perda de massa evidenciada nos frutos revestidos com composto antifúngico, independente da ordem de aplicação, pode estar associada com a formação de zonas de descontinuidade entre o amido e o extrato, o que permitiu maior permeabilidade de gases, aumento da taxa de respiração e consequentemente perda de água (Figura 17B).

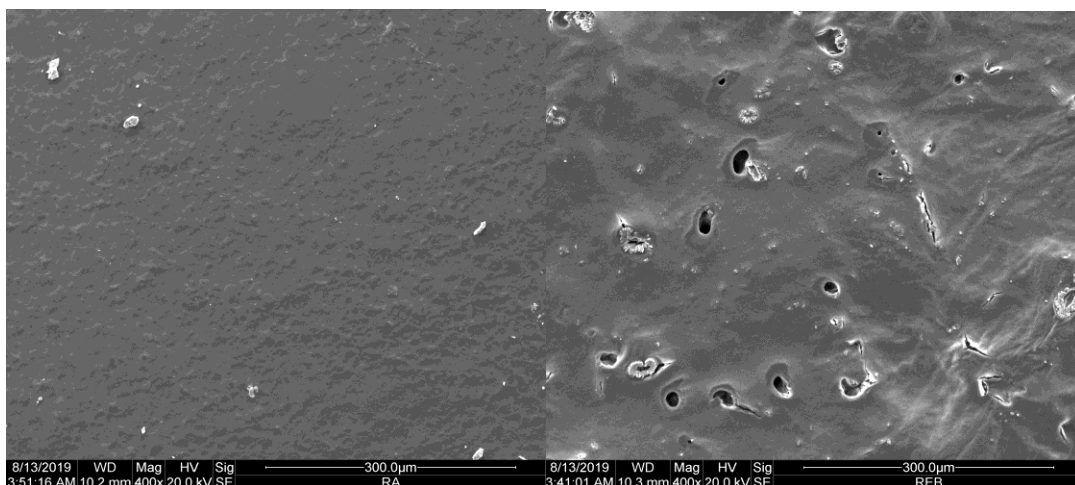
**Tabela 4** – Porcentagem de perda de massa nos frutos de maçã Fuji armazenados em BOD a 25°C, ao longo de 15 dias no Fase Piloto 1.

Tratamentos	Perda de massa (%)		
	5 dias	10 dias	15 dias
Controle	3,67±0,34 <sup>Ac</sup>	6,38±0,17 <sup>ABb</sup>	10,61±2,35 <sup>Aa</sup>
RFA	2,65±0,09 <sup>Bc</sup>	4,75±0,77 <sup>Cb</sup>	9,54±1,23 <sup>ABa</sup>
FRA	3,19±0,15 <sup>ABc</sup>	5,11±1,29 <sup>Cb</sup>	7,69±0,89 <sup>Ba</sup>
RFEB	3,15±0,04 <sup>ABc</sup>	7,11±0,24 <sup>Ab</sup>	9,02±0,76 <sup>ABa</sup>
FREB	3,11±0,68 <sup>ABc</sup>	5,76±0,12 <sup>BCb</sup>	8,92±1,34 <sup>ABa</sup>

Média ± desvio padrão de triplicata de 4 frutos. Em cada tempo, letras maiúsculas iguais na mesma coluna, e em cada tratamento, letras minúsculas iguais na mesma linha, não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

**Fonte:** Autoria própria.

**Figura 17.** Imagens da microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos filmes elaborados.



(A) imagem da superfície (400x) filme de amido residual de aveia e água; (B) imagem da superfície (400x) filme de amido residual de aveia e composto antifúngico natural.

**Fonte:** A autoria própria.

Por se tratar de um fruto climatérico, é comum ocorrer um aumento da taxa de respiração ao final da fase de amadurecimento (CALBO; MORETTI; HENZ, 2007), provocando assim a perda de água e conseqüentemente, a perda de massa. (MAGUIRE et al, 2000).

Os resultados indicam que o processo de deterioração pelo fungo não é o principal fator responsável pela perda de massa dos frutos. O desenvolvimento do fungo, associado às condições de armazenamento, possibilitaram o aumento da transpiração e conseqüentemente a perda de massa em todos os frutos, independentemente do tratamento testado.

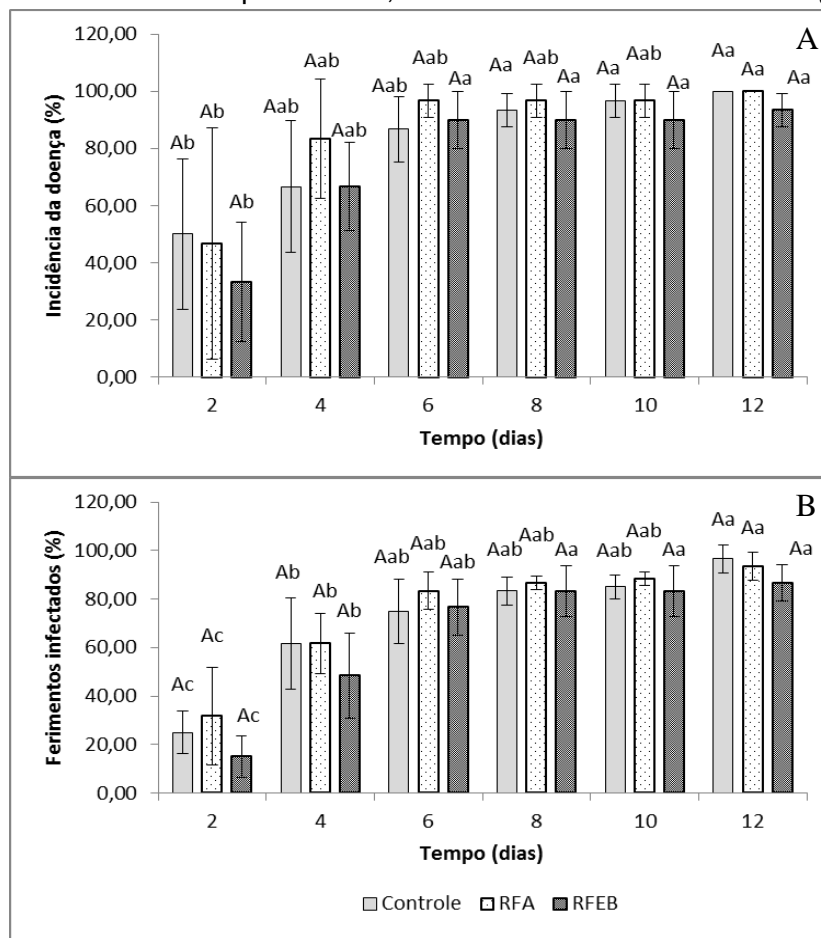
## 5.2 FASE EXPERIMENTAL

Neste sentido, a fase experimental foi realizada com os revestimentos aplicados na prevenção da doença (RFA e RFEB), pois na fase piloto o efeito preventivo prevaleceu, ou seja, mesmo que o fungo se instale, o seu desenvolvimento para evolução da infecção ocorre de forma mais lenta. A fase experimental consistiu de um estudo com maior número de frutos por tratamento, ao longo de 12 dias de armazenamento. O acompanhamento da podridão e a determinação dos parâmetros físico-químicos e perda de massa foram realizados

em intervalos de 2 dias, uma vez que na fase piloto foi possível se obter uma análise mais detalhada dos parâmetros analisados nesse intervalo.

Os dados apresentados na Figura 18 comprovaram que a incidência da doença e de ferimentos infectados ocorre nos frutos, independentemente do revestimento aplicado. Enquanto a doença atingiu 93 e 100% dos frutos após 12 dias, a porcentagem de ferimentos infectados foi de aproximadamente 87 e 93% nos frutos revestidos com e sem composto antifúngico, respectivamente ( $p > 0,05$ ). Os resultados evidenciaram que o composto antifúngico não tem ação inibitória contra a germinação dos conídios de *P. expansum* mas retarda o desenvolvimento da doença durante o armazenamento do fruto.

**Figura 18.** Incidência de doença e de ferimentos infectados por *Penicillium expansum* em maçãs armazenadas a 25°C por 12 dias, com e sem revestimento antifúngico.



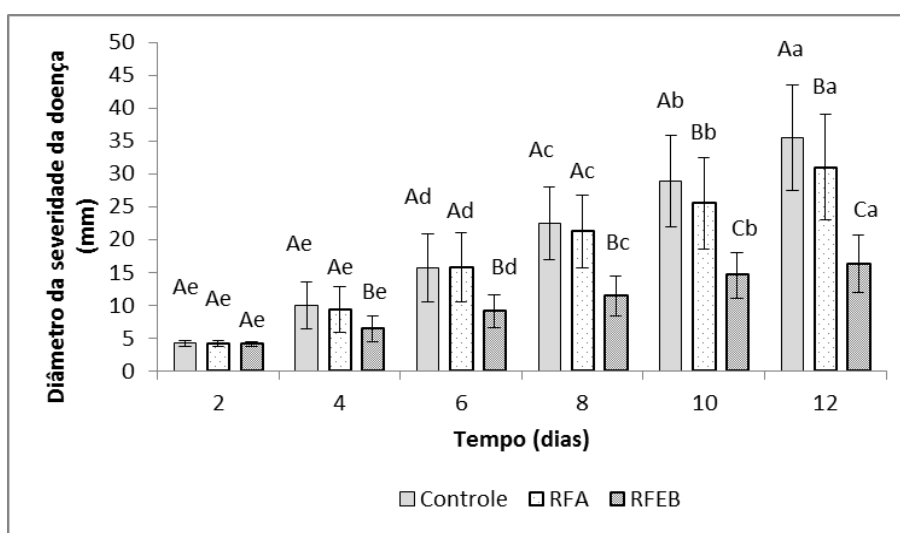
A = incidência da doença, média  $\pm$  desvio padrão de 30 respostas (10 por repetição); B = incidência de ferimentos infectados, média  $\pm$  desvio padrão de 60 respostas (20 por repetição). Em cada tempo de armazenamento, letras maiúsculas iguais, e em cada tratamento, letras minúsculas iguais, não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de significância ( $p > 0,05$ ), pelo teste de Tukey. Controle: Fruto sem revestimento, ferido e inoculado com *P. expansum*; RFA: revestimento em solução aquosa / ferimento / inoculação; RFEB: revestimento antifúngico / ferimento / inoculação.

**Fonte:** Autoria própria.

Embora o RFEB não tenha mostrado atividade contra a germinação dos conídios, a ação inibitória sobre a severidade da doença foi significativa a partir do quarto dia de armazenamento (Figura 19). No sexto dia, a severidade da doença foi controlada em 42%, e após 12 dias atingiu 54,1% ( $p \leq 0,05$ ).

Para o revestimento RFA, o controle da severidade da doença foi de apenas 12,7% no final do experimento (Figura 19). A média dos diâmetros das lesões somente difere do controle (fruto sem revestimento) a partir do décimo dia, provavelmente devido ao estágio acelerado de deterioração ocasionado pela ausência de revestimento, cujos frutos estão expostos diretamente ao ataque e proliferação fúngica e a deterioração do fruto.

**Figura 19.** Severidade da doença em maçãs armazenadas a 25°C por 12 dias, com e sem revestimento antifúngico.



Média  $\pm$  desvio padrão de 60 respostas (20 por repetição). Em cada tempo de armazenamento, letras maiúsculas iguais, e em cada tratamento, letras minúsculas iguais, não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de significância ( $p > 0,05$ ), pelo teste de Tukey. A: incidência da doença; B: incidência de ferimentos infectados. Controle: Fruto sem revestimento, ferido e inoculado com *P. expansum*; RFA: revestimento em solução aquosa / ferimento / inoculação; RFEB: revestimento antifúngico / ferimento / inoculação. **Fonte:** Autoria própria.

A variação dos diâmetros das lesões nos frutos RFEB entre o segundo e o décimo segundo dia foi baixa (12,2 mm), enquanto que nos frutos RFA e sem revestimento, foi de 26,8 e 31,3 mm, respectivamente (Tabela 5). Estas variações evidenciam um efeito retardado na deterioração dos frutos revestidos com composto antifúngico ao longo do armazenamento, quando comparado com uma velocidade mais acelerada nos demais tratamentos. Enquanto o revestimento antifúngico

apresentou um valor médio de 47,6% no controle das lesões, para o revestimento sem antifúngico (RFA) este valor foi de apenas 10,5%. Os dados reforçam uma forte ação inibitória do composto antifúngico presente no RFEB contra o crescimento micelial de *P. expansum*, quando comparado com o revestimento RFA.

Por fim, a fase experimental confirmou os resultados preliminares do ensaio antifúngico expresso nas fases pilotos.

**Tabela 5** - Valores médios dos diâmetros das lesões (mm) em maçãs armazenadas a 25°C por 12 dias, com e sem revestimento e inoculadas com  $10^5$  conídios de *Penicillium expansum*.

	Valor médio das lesões (mm)*	Valor médio do controle das lesões (%)
RFA	19,56 ± 10,13 <sup>B</sup>	10,5
RFEB	11,46 ± 4,87 <sup>C</sup>	47,6
Controle	21,85 ± 11,24 <sup>A</sup>	-

\* O valor médio das lesões corresponde à média ± desvio padrão de 360 dados (3 repetições), durante o período de armazenamento a 25°C. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey. O valor médio do controle das lesões corresponde à porcentagem de inibição dos frutos revestidos em relação ao controle (sem revestimento). RFA: revestimento em solução aquosa / fermento / inoculação; RFEB: revestimento antifúngico / fermento / inoculação.

**Fonte:** Autoria própria.

Os resultados mostraram que o composto antifúngico atuou contra o desenvolvimento de *P. expansum* (Figura 20). Embora os conídios consigam germinar tão logo as condições sejam favoráveis, o desenvolvimento micelial é prejudicado ou retardado pelo composto antifúngico (Figura 20 E,F), deixando claro que o tratamento preventivo atua no controle da doença. Um estudo preliminar realizado *in vitro* com o extrato livre de células da mesma levedura mostrou uma inibição superior a 78% do desenvolvimento de *P. expansum* e *Aspergillus ochraceus*, quando incubados em meio líquido por 12 horas (FERREIRA et al., 2019). Neste mesmo estudo, o composto resistiu ao tratamento térmico de 90°C / 30 minutos, indicando ser favorável para aplicação na formulação do revestimento (FERREIRA et al., 2019).



**Figura 20.** Imagens das maçãs com e sem revestimento antifúngico após 12 dias de armazenamento a 25°C (fase experimental).



(A) Controle: Fruto sem revestimento, (B) Controle: Fruto sem revestimento (cortada), (C) RFA: revestimento em solução aquosa / ferimento / inoculação, (D) RFA: revestimento em solução aquosa / ferimento / inoculação (cortada), (E) RFEF: revestimento antifúngico / ferimento / inoculação, (F) RFEF: revestimento antifúngico / ferimento / inoculação (cortada).

**Fonte:** Autoria própria.

Quando o composto foi aplicado para elaboração do revestimento, a solução filmogênica controlou significativamente 30,52 e 61,52% a germinação dos conídios e o desenvolvimento de hifas de *P. expansum*, (*in vitro*) respectivamente (COSTA, 2018), comportamento este que comprova uma atuação mais preventiva sobre o fungo.

O estudo *in situ* empregando células íntegras de *Hansenula wingei* AM2<sub>2</sub>, em combinação com baixa dosagem de tiabendazol (10% da recomendada pelo

fabricante), apresentou 100% de eficácia no controle de doença de maçãs por *P. expansum* após 7 dias de estocagem a 21 °C, quando aplicados diretamente nos ferimentos. Após 14 e 21 dias, a eficácia foi de 80,45% e 72,13%, respectivamente (FIEIRA et al., 2013).

Entretanto, estudos envolvendo antagonismo com *H. wingei* vem sendo realizados desde 2011, quando Gasperini et al. (2011) isolou a cepa *H. wingei* AM2<sub>2</sub> de amostra de milho no sudoeste do Paraná, que se mostrou antagonista contra *Fusarium verticillioides* 103F, associado ao caráter *killer* positivo demonstrado no estudo. Desde então, estudos progrediram na pesquisa desta cepa, direcionando para outros fungos filamentosos, como *Penicillium expansum* e *Aspergillus ochraceus* (SIMER et al., 2013; FONTANA et al., 2017). A tentativa de purificar parcialmente a toxina *killer* da levedura por ultrafiltração indicou massa molar menor que 10 kDa, o que seria inviável do ponto de vista econômico para fins de aplicação (SIMER et al., 2013). Os mesmos autores mostraram ainda que a produção da toxina *killer* pela levedura em questão é espontânea, ou seja, não é induzido (SIMER et al., 2013).

O controle da severidade da doença em maçãs após serem imersas em solução de quitosana foi de 44% quando comparado ao controle (26%) Felipini e Di Piero (2010), ao passo que Canaver e Di Piero (2011) relataram uma redução de 53% e 72%, em frutos imersos em quitosana a 0,25% e 0,5%, respectivamente.

A literatura também descreve o tratamento preventivo como mais eficaz no controle de doenças em frutos pós-colheita. Um estudo realizado por González-Estrada et al. (2017) mostrou o controle mais efetivo da podridão azul em limão, quando o revestimento com leveduras antagonistas foi aplicado no tratamento preventivo da doença, em relação ao tratamento curativo.

Cabe ressaltar que este trabalho relata pela primeira vez a utilização de composto antifúngico produzido por *Hansenula wingei* aplicado em forma de revestimento comestível para o controle de *Penicillium expansum in situ*.

Os parâmetros físico-químicos analisados foram favoráveis para o desenvolvimento de *P. expansum* ao longo do experimento (Tabela 6), indicando não exercer influência nas diferentes respostas das lesões causadas pelo fungo. Sendo assim, o controle das lesões foi decorrente do revestimento aplicado nos frutos, principalmente naquele elaborado com o composto antifúngico. Enquanto os teores de pH mantiveram-se estáveis, com variação de 0,3 nos frutos controle, nos

frutos com revestimento RFA e naqueles com revestimento antifúngico, o aumento nos teores de sólidos solúveis foi de 2,1, 3,8 e 2,4, respectivamente.

Embora o pH dos frutos RFEB tenha sido maior no 12º dia de armazenamento em relação ao tempo inicial ( $p < 0,05$ ), sabe-se que os fungos filamentosos se desenvolvem em uma ampla faixa de pH, com valores ótimos situados entre 4,0 e 4,5. Tal fato indica que o pH de 4,4 não estaria influenciando negativamente no desenvolvimento do fungo.

Comparando-se os valores médios de pH entre os tratamentos no último dia de armazenamento, a diferença não foi significativa. Portanto, este fator não exerce influência nas diferentes respostas das lesões provocadas por *P. expansum*. Ainda, mesmo que os valores de pH entre os tempos inicial e final tenha sido significativo para os frutos com revestimento antifúngico, a faixa de pH observada é considerada ótima para o desenvolvimento do fungo.

As médias dos teores de sólidos solúveis totais dos frutos com e sem revestimento no 12º dia de armazenamento foram maiores ( $p < 0,05$ ) que no primeiro dia. Esta diferença era esperada, em decorrência do amadurecimento dos frutos. A comparação entre os valores médios dos tratamentos no 12º dia, também indica que este parâmetro não influenciou as diferentes respostas das lesões provocadas pelo fungo (Figura 19).

Deste modo, os parâmetros físico-químicos analisados não foram considerados como fatores limitantes para o desenvolvimento do fungo nos frutos com e sem revestimento, e portanto não exerceram qualquer influência no controle significativo das lesões nas maçãs revestidas com composto antifúngico; ao contrário, possibilitaram as condições ideais para a germinação dos conídios e crescimento das hifas, independentemente do tratamento aplicado. A variação nos valores de pH em salada de fruta com revestimento comestível à base de amido e nos valores de sólidos solúveis em manga Tommy revestidas com fécula de mandioca também foi sutil ( $p > 0,05$ ), nos estudos relatados por Couto (2016) e Pereira et al. (2004), respectivamente.

**Tabela 6** – Parâmetros físico-químicos dos frutos armazenados a 25°C, ao longo de 12 dias.

Tempo	pH						
	0 dias	2 dias	4 dias	6 dias	8 dias	10 dias	12 dias
Controle	4,2±0,2 <sup>Aa</sup>	4,4±0,1 <sup>Aa</sup>	4,2±0,2 <sup>Aa</sup>	4,5±0,1 <sup>Aa</sup>	4,4±0,0 <sup>Aa</sup>	4,4±0,2 <sup>Aa</sup>	4,2±0,2 <sup>Aa</sup>
RFA	4,3±0,2 <sup>Aa</sup>	4,3±0,1 <sup>Aa</sup>	4,2±0,3 <sup>Aa</sup>	4,5±0,1 <sup>Aa</sup>	4,4±0,0 <sup>Aa</sup>	4,4±0,1 <sup>Aa</sup>	4,2±0,2 <sup>Aa</sup>
RFEB	4,1±0,1 <sup>Ab</sup>	4,3±0,1 <sup>Aab</sup>	4,3±0,3 <sup>Aab</sup>	4,4±0,2 <sup>Aa</sup>	4,4±0,1 <sup>Aa</sup>	4,4±0,2 <sup>Aa</sup>	4,4±0,2 <sup>Aa</sup>

Tempo	Sólidos solúveis (°Brix)						
	0 dias	2 dias	4 dias	6 dias	8 dias	10 dias	12 dias
Controle	13,4±0,5 <sup>Ab</sup>	14,1±1,2 <sup>Aab</sup>	14,9±1,4 <sup>Aab</sup>	15,3±1,6 <sup>Aa</sup>	15,4±0,9 <sup>Aa</sup>	15,2±1,2 <sup>Aa</sup>	15,5±0,7 <sup>Aa</sup>
RFA	12,4±0,7 <sup>Bc</sup>	12,8±2,4 <sup>Abc</sup>	14,4±1,0 <sup>Aabc</sup>	14,9±1,2 <sup>Aab</sup>	14,1±1,5 <sup>Aabc</sup>	14,7±1,6 <sup>Aab</sup>	16,2±1,8 <sup>Aa</sup>
RFEB	12,9±0,4 <sup>ABd</sup>	13,3±0,9 <sup>AcD</sup>	15,2±2,2 <sup>Aab</sup>	13,4±0,7 <sup>Bbcd</sup>	14,7±1,5 <sup>Aabc</sup>	14,4±0,5 <sup>Aabcd</sup>	15,3±1,7 <sup>Aa</sup>

Média ± desvio padrão, de triplicata. Em cada tempo, letras maiúsculas iguais na mesma coluna, e em cada tratamento, letras minúsculas iguais na mesma linha, não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

**Fonte:** Autoria própria.

Assim como na fase Piloto 1, a porcentagem de perda de massa dos frutos analisados na fase experimental aumentou gradualmente em todos os tratamentos durante o armazenamento (Tabela 7). Após 12 dias os tratamentos RFA e RFEB apresentaram menor perda de massa quando comparado com o controle (Tabela 7). O tratamento preventivo, caracterizado pelo fermento do fruto após a aplicação do revestimento, pode ter ocasionado uma desestruturação do revestimento, possibilitando maiores trocas gasosas e respiração do fruto, e consequentemente não se observando diferença deste parâmetro entre os tratamentos RFA e RFEB. A variação da perda de massa nos frutos não revestidos (controle) foi de 7,5%, e com revestimento em solução aquosa (RFA) foi de 6,9%, enquanto que nos frutos revestidos com composto antifúngico (RFEB) a variação foi de 7,1%, após 12 dias de armazenamento (Tabela 7).

Os resultados sugerem que os revestimentos comestíveis aplicados nas maçãs formam membranas semipermeáveis, que permitem os processos de respiração, transpiração e evaporação (ASSIS, BRITTO, 2014).

Valores superiores de perda de massa foram obtidos em estudos realizados por Macedo (2013), em frutos de maracujá revestidos com fécula de mandioca armazenados por nove dias. Segundo o autor, a perda de massa nos frutos revestidos com 2% e 3% de fécula de mandioca foi de 18,81 e 15,23 %, respectivamente (MACEDO, 2013). Morangos revestidos com diferentes formulações de amido de fruta-de-lobo e sorbitol, apresentaram perda de massa

variando de 8,67 a 16,26%, entre os frutos revestidos e sem revestimento, após 10 dias de armazenamento a 10°C (PRATES; ASCHERI 2011).

**Tabela 7** – Porcentagem de perda de massa nos frutos armazenados a 25°C (fase experimental), ao longo de 12 dias.

	2 dias	4 dias	6 dias	8 dias	10 dias	12 dias
Controle	1,64±0,32 <sup>Af</sup>	3,20±0,61 <sup>Ae</sup>	4,56±0,83 <sup>Ad</sup>	5,94±1,09 <sup>Ac</sup>	7,50±1,33 <sup>Ab</sup>	9,13±1,7 <sup>Aa</sup>
RFA	1,63±0,27 <sup>Af</sup>	3,10±0,55 <sup>ABe</sup>	4,41±0,62 <sup>Ad</sup>	5,74±0,96 <sup>Ac</sup>	7,11±1,13 <sup>ABb</sup>	8,50±1,40 <sup>Ba</sup>
RFEB	1,56±0,34 <sup>Af</sup>	2,97±0,64 <sup>Be</sup>	4,40±0,79 <sup>Ad</sup>	5,65±0,84 <sup>Ac</sup>	7,03±1,13 <sup>Bb</sup>	8,62±1,60 <sup>ABa</sup>

Média ± desvio padrão de 90 respostas, sendo 30 por repetição (10 frutos, em triplicata). Em cada tempo, letras maiúsculas iguais na mesma coluna, e em cada tratamento, letras minúsculas iguais na mesma linha, não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

**Fonte:** Autoria própria.

O filme elaborado com extrato livre de células contendo composto antifúngico foi caracterizado por Costa et al. (2019) em estudo anterior, e mostrou ser estatisticamente mais permeável ao vapor d'água, mais resistente e mais solúvel que o filme elaborado em solução aquosa. Segundo os mesmos autores, é interessante e vantajoso que apresentem alta solubilidade, uma vez que o revestimento seria facilmente removido durante a lavagem e/ou enxágue do fruto antes do consumo, mantendo-se íntegro durante o transporte e o armazenamento. Além disso, a maior resistência confere mais proteção ao fruto à possíveis danos mecânicos ocasionados pelo impacto, por exemplo.

## 6 CONCLUSÃO

O revestimento elaborado com composto antifúngico de levedura antagonista aplicado de forma preventiva não impediu a ocorrência da doença e da infecção em maçãs. Porém, controlou significativamente a evolução das lesões causadas por *Penicillium expansum*, cujo acompanhamento foi melhor observado em intervalos de 2 dias.

Os teores de sólidos solúveis e pH foram favoráveis para o desenvolvimento do fungo, logo o retardamento das lesões está diretamente relacionado ao efeito protetor do revestimento antifúngico aplicado. O desenvolvimento do fungo, associado às condições de armazenamento, possibilitaram o aumento da transpiração e conseqüentemente a perda de massa nos frutos com e sem revestimento.

A aplicação do composto antifúngico natural de *Hansenula wingei* em revestimento comestível indica perspectivas positivas para o controle da podridão azul em maçãs pós-colheita.

## REFERÊNCIAS

- AGROLINK. **Podridão amarga da macieira**. 2020 a. 1 fotografia. Disponível em: [https://www.agrolink.com.br/problemas/podridao-amarga-da-macieira\\_1537.html](https://www.agrolink.com.br/problemas/podridao-amarga-da-macieira_1537.html). Acesso em: 10 jan. 2020.
- AGROLINK. **Podridão branca**. 2020 b. 1 fotografia. Disponível em: [https://www.agrolink.com.br/agrolinkfito/problema/podridao-branca\\_1747.html](https://www.agrolink.com.br/agrolinkfito/problema/podridao-branca_1747.html). Acesso em: 10 jan. 2020.
- AGROLINK. **Podridão preta**. 2020 c. 1 fotografia. Disponível em: [https://www.agrolink.com.br/problemas/podridao-preta\\_1643.html](https://www.agrolink.com.br/problemas/podridao-preta_1643.html). Acesso em: 10 jan. 2020.
- AGROLINK. **Podridão olho-de-boi**. 2020 d. 1 fotografia. Disponível em: [https://www.agrolink.com.br/agrolinkfito/problema/podridao-olho-de-boi\\_3018.html](https://www.agrolink.com.br/agrolinkfito/problema/podridao-olho-de-boi_3018.html). Acesso em: 10 jan. 2020.
- ALLOUI, H.; LICCIARDELLO; F.; KHWALDIA; K.; HAMDI; M.; RESTUCCIA, C. Physical properties and antifungal activity of bioactive films containing *Wickerhamomyces anomalus* killer yeast and their application for preservation of oranges and control of postharvest green mold caused by *Penicillium digitatum*. **International journal of food microbiology**, v. 200, p. 22-30, mai. 2015. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Khaoula\\_Khwaldia/publication/271844360\\_IJFM\\_2015/links/54d4764a0cf2970e4e633cb6/IJFM-2015.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Khaoula_Khwaldia/publication/271844360_IJFM_2015/links/54d4764a0cf2970e4e633cb6/IJFM-2015.pdf). Acesso em: 30 set. 2019.
- ALVES, S.; NUNES, C. C. Prejuízos pós-colheita em macieira: um alerta para as doenças de verão. **Embrapa Uva e Vinho**. Lages, jan. 2015. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1007659/1/1011.pdf>. Acesso em: 15 set. 2019.
- ANDRADE, P. F. S. SEAB – Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. **DERAL- Departamento de Economia Rural. Fruticultura**. Análise da conjuntura agropecuária safra 2016/17. Mar. 2017. Disponível em: [http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2017/Fruticultura\\_2016\\_17.pdf](http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2017/Fruticultura_2016_17.pdf). Acesso em: 05 nov. 2018.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Arlington: A.O.A.C., v.1-2, 1995.
- ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D. D. Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 87-97, 2014. Disponível em: <https://search.proquest.com/openview/e711d9de36a7372b558edd818f449997/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2030117>. Acesso em: 13 nov. 2018.
- BENATO, E. A.; BELLETTI, T. C.; TERAPO, D.; FRANCO, D. Óleos essenciais e tratamento térmico no controle pós-colheita de bolor verde em laranja. Embrapa

Meio Ambiente-Artigo em periódico indexado. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 44, n. 1, p. 65-71, 2018. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1093539/1/2018AP03.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2018.

BITTENCOURT, C. C.; MATTEI, L. F. Panorama da cadeia da maçã no estado de Santa Catarina: algumas evidências no segmento da produção. *In: Anais [...]*. Chapecó, Santa Catarina, p. 87-100. 2008. Disponível em <http://necat.ufsc.br/files/2011/10/Laurooo-2008.pdf>. Acesso em: 20 out. 2018.

BLEVE, G.; GRIECO, F.; COZZI, G.; LOGRIECO, A.; VISCONTI, A. Isolation of epiphytic yeasts with potential for biocontrol of *Aspergillus carbonarius* and *A. niger* on grape. **International Journal of Food Microbiology**, v. 108, n. 2, p. 204-209. 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160505006185>. Acesso em: 30 nov. 2018.

BRACKMANN, A.; SESTARI, I.; GIEHL, R.; STEFFENS, C.; FAULIN, G.; PINTO, J. Controle de podridão pós-colheita de *Penicillium spp.*, em maçã 'Fuji' com fosfitos e fungicidas. **Current Agricultural Science and Technology**. Pelotas, v.11, n. 2, p. 251-254, abr-jun, 2005. Disponível em: <https://periodicos.ufpel.edu.br/ojs2/index.php/CAST/article/view/1220>. Acesso em: 13 nov. 2018.

BETTIOL, W. et al. Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas. **Embrapa Meio Ambiente-Documentos (INFOTECA-E)**. Jaguariuna, 2012. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/930378/1/Doc881.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2018.

BUZZINI, P.; TURCHETTI, B.; VAUGHAN-MARTINI, A. E. The use of killer sensitivity patterns for biotyping yeast strains: the state of the art, potentialities and limitations. **FEMS yeast research**, v. 7, n. 6, p. 749-760, 2007. Disponível em: <https://academic.oup.com/femsyr/article/7/6/749/532280>. Acesso em: 21 nov. 2018.

CALBO, A. G.; MORETTI, C. L.; HENZ, G. P. **Respiração de frutas e hortaliças**. Embrapa Hortaliças-Comunicado Técnico 46 (INFOTECA-E), 2007. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/103079/1/cot-46.pdf>. Acesso em: 14 jan. 2020.

CANAVER, B. S.; DI PIERO, R. M. Quitosana e adjuvantes para o controle preventivo do mofo azul da macieira. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 6, p. 419-423, 2011. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1982-56762011000600013&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1982-56762011000600013&script=sci_abstract&tlng=pt). Acesso em: 25 nov. 2018.

CASTILLO, D. A. S.; SALAZAR, K. A.; MOSQUERA, S. A. S.; RENGIFO, E. C. Efecto de recubrimientos de almidón modificado de yuca, proteína aislada de soya y aceite esencial de orégano aplicados a la papaya. **Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica**, v. 21, n. 1, p. 71-80, 2018. Disponível em:



<http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v21n1/0123-4226-rudca-21-01-00071.pdf>. Acesso em: 25 nov. 2018.

CHAND-GOYAL, T.; SPOTTS, R. A. Control of postharvest pear diseases using natural saprophytic yeast colonists and their combination with a low dosage of thiabendazole. **Postharvest Biology and Technology**, v. 7, n. 1-2, p. 51–64., 1996. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0925521495000313>. Acesso em: 25 nov. 2018.

CNA. Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil. **Confederação Nacional da Agricultura**. Frutas: saiba quais foram as 20 variedades mais comercializadas em 2017. Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/noticias/frutas-saiba-quais-foram-as-20-variedades-mais-comercializadas-em-2017>. Acesso em: 11 nov. 2018.

COELHO, A.R.; TACHI, M.; PAGNOCCA, F.C.; NÓBREGA, G.M.A.; HOFFMANN, F.L.; HARADA, K. HIROOKA, E.Y. Purification of *Candida guilliermondii* and *Pichia ohmeri* killer toxin as active agent against *Penicillium expansum*. **Food Additives and Contaminants**, v. 26, n. 1, p. 73-81, 2009. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/02652030802227227>. Acesso em: 11 nov. 2018.

COSTA, D.; FERREIRA, F. F.; SHIRAI, M. A.; SAKANAKA, L. S.; COELHO, A. R. Caracterização de filme à base de amido de resíduo de aveia com composto antifúngico natural. **Higiene Alimentar**, v. 33, n. 3, p. 2734-2743, 2019. Disponível em: [https://www.higienealimentar.com.br/wp-content/uploads/2019/06/Anais-Higienistas-2019\\_web-2.pdf](https://www.higienealimentar.com.br/wp-content/uploads/2019/06/Anais-Higienistas-2019_web-2.pdf). Acesso em: 15 jun. 2019.

COSTA, D.; MARTINS, R. A.; GUIDES, G. L.; SAKANAKA, L. S.; COELHO, A.R. Filme comestível à base de amido proveniente de resíduo de aveia industrial. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária**. Joao Pessoa, v. 12, n.3, p.65-70, set. 2018. Disponível em: <http://revistatca.pb.gov.br/edicoes/volume-12-2018/volume-12-n-3-2018/11-ce-0418-02-filme-comestivel-a-base-de-amido-aveia-industrial.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2019.

COSTA, D. R. da. **Resíduo industrial de aveia: extração e caracterização do amido visando aplicação em revestimento comestível adicionado de composto antifúngico natural**. 2018, 63 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2018. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/3543>. Acesso em: 11 nov. 2018.

COUTO, Hyrla Grazielle Silva de Araújo. **Utilização de revestimento comestível contendo amido e nisina na conservação de salada de frutas minimamente processadas**. 2016, 47 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Biodiversidade) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão, 2015. Disponível em: [https://ri.ufs.br/bitstream/riufs/3012/1/HYRLA\\_GRAZIELLE\\_SILVA\\_ARAUJO.pdf](https://ri.ufs.br/bitstream/riufs/3012/1/HYRLA_GRAZIELLE_SILVA_ARAUJO.pdf). Acesso em: 11 set. 2019.

DEANE, D. COMMERS, E. Oat cleaning and processing-general steps. *In*: WEBSTER, F. Oat's chemistry and technology. **American Association of Cereal Chemists**, p. 371-412, 1986.

EMBRAPA. **Manual de Segurança e Qualidade para a Cultura da Maçã**. Qualidade e Segurança dos Alimentos. Projeto PAS Campo. Convênio CNI/SENAI/SEBRAE/EMBRAPA. Brasília: EMBRAPA/SEDE, 81p. 2004. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/111872/1/MANUALSEGURANCAQUALIDADEParaaculturadamaca.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2018.

FARIAS, M. G.; FAKHOURI, F. M.; CARVALHO, C. W. P. D.; ASCHERI, J. L. R. Caracterização físico-química de filmes comestíveis de amido adicionado de acerola (*Malpighia emarginata* DC). **Química Nova**, v. 35, n.2, p.546-552, 2012. Disponível em: [http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol35No3\\_546\\_19-AR11474\\_cor.pdf](http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol35No3_546_19-AR11474_cor.pdf). Acesso em: 11 nov. 2018.

FAKHOURI, F. M.; FONTES, L. C. B.; GONÇALVES, P. V. M.; MILANEZ, C. R.; STEEL, C. J.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 369-375, 2007. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612007000200027&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000200027&lng=en&nrm=iso). Acesso em: 11 nov. 2018.

FELIPINI, Ricardo Barbosa; DI PIERO, Robson Marcelo. Redução da severidade da podridão-amarga de maçã em pós-colheita pela imersão de frutos em quitosana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 12, p. 1591-1597, 2010. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-204X2009001200005&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2009001200005&lng=en&nrm=iso). Acesso em: 11 nov. 2018.

FERNÁNDEZ, N. Efecto de barrera contra el vapor de agua de recubrimientos comestibles sobre el tomate. *Solanum lycopersicum*. **Popayán (Colombia): Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias**. vol 15 n.2, p. 134-141, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v15n2/v15n2a15.pdf>. Acesso em: 12 out. 2019.

FERREIRA, F. F.; MARTINS, R. A.; COSTA, D. R.; TONIAL, I. B.; COELHO, A. R. Levedura antagonista no controle de fungos filamentosos deteriorantes de alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 33, n. 289, p. 2793-2797, 2019. Disponível em: [https://www.higienealimentar.com.br/wp-content/uploads/2019/06/Anais-Higienistas-2019\\_web-2.pdf](https://www.higienealimentar.com.br/wp-content/uploads/2019/06/Anais-Higienistas-2019_web-2.pdf). Acesso em: 15 jun. 2019.

FIEIRA, C.; OLIVEIRA, F.; CALEGARI, R. P.; MACHADO, A.; COELHO, A.R. *In vitro* and *in vivo* antifungal activity of natural inhibitors against *Penicillium expansum*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, n. 1, p. 40-46, 2013. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612013000500007&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612013000500007&lng=en&nrm=iso). Acesso em: 12 out. 2019.

FONTANA, H. Y. Y.; PAIÃO, F. G.; PEDRÃO, M. R.; COELHO, A. R. Purificação parcial de toxina *killer* de *Hansenula wingei* visando aplicação no controle do

desenvolvimento de fungos filamentosos deteriorantes de alimentos. *In*: OLIVEIRA, A. F.; STORTO, L. J. **Tópicos em ciências e tecnologia de alimentos**: resultados de pesquisas acadêmicas. Editora Edgard Blücher Ltda: São Paulo, v. 3, p. 199-218, 2017. Disponível em: <https://www.blucher.com.br/livro/detalhes/topicos-em-ciencias-e-tecnologia-de-alimentos-resultados-de-pesquisas-academicas-vol-3-1336>. Acesso em: 15 out. 2018.

GALDEANO, M. C.; WILHELM, A. E.; EIRAS, M. V. G.; MALI, S. Efeito do processamento e das condições ambientais nas propriedades de materiais biodegradáveis de amido de aveia. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. São Paulo. v. 24, n. 1, p. 80-87, 2014. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-14282014000100013&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282014000100013&lng=en&nrm=iso). Acesso em: 12 out. 2019.

GALDEANO, M. C.; EIRAS, M. V. G.; MALI, S.; BELLO-PEREZ, L. A. Propriedades físico-químicas do amido de aveia da variedade brasileira IAC 7. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 4, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v29n4/31.pdf> Acesso em: 12 out. 2019.

GALGANO, F. Biodegradable packaging and edible coating for fresh-cut fruits and vegetables. **Italian Journal Food Science**, v.27, n 1, p. 1-20, 2015. Disponível em: <https://www.chiriottieditori.it/ojs/index.php/ijfs/article/view/70>. Acesso em: 12 nov. 2018.

GARCIA, L. C.; PEREIRA, L. M.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; HUBINGER M. D. Effect of antimicrobial starch edible coating on shelf-life of fresh strawberries. **Packaging Technology and Science**, Hoboken, v. 25, n. 7, p. 413-425, 2012. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/69579/1/Packaging-Technology-and-Science.pdf>. Acesso em: 12 out. 2019.

GASPERINI, A. M.; HASHIMOTO, E. H.; COELHO, A. R.; HIROOKA, E. Y. Leveduras *killer* visando o biocontrole de *Fusarium verticillioides* micotoxigênico para a qualidade de milho. *In*: III EPEA-Encontro paranaense de engenharia de alimentos, Guarapuava. **Anais [...]**. Guarapuava.Unicentro, v. 1, 2011.

GIRARDI, C. BENDER, R. J. **Produção Integrada de maçãs no Brasil: Colheita e conservação da fruta**. Embrapa Uva e Vinho. Jan. 2003. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Maca/ProducaoIntegradaMaca/colheita.htm>. Acesso em: 10 jan. 2020.

GIRARDI, C. L.; VALDEBENITO SANHUEZA, R. M.; BENDER, R. J. CANTILLANO, R. F. F. **“Ninho” de maçãs afetadas por *Botrytis cinerea* em um “bin”**. Manejo pós-colheita e rastreabilidade na Produção Integrada de Maçãs. Embrapa Uva e Vinho-Circular Técnica 31 (INFOTECA-E), 2002 a. 1 fotografia. Disponível em: [http://docsagencia.cnptia.embrapa.br/maca/Fundamentos\\_e\\_Praticas\\_de\\_Manejo.pdf](http://docsagencia.cnptia.embrapa.br/maca/Fundamentos_e_Praticas_de_Manejo.pdf). Acesso em: 10 jan. 2020.

GIRARDI, C. L.; VALDEBENITO SANHUEZA, R. M.; BENDER, R. J. CANTILLANO, R. F. F. **Tecido interno de uma maçã com podridão mole causada por *Rhizopus***

***nigricans*. Podridão e estruturas de *Rhizopus nigricans*, agente causal da podridão mole.** Manejo pós-colheita e rastreabilidade na Produção Integrada de Maçãs. Embrapa Uva e Vinho-Circular Técnica 31 (INFOTECA-E), 2002 b. 2 fotografias. Disponível em:

[http://docsagencia.cnptia.embrapa.br/maca/Fundamentos\\_e\\_Praticas\\_de\\_Manejo.pdf](http://docsagencia.cnptia.embrapa.br/maca/Fundamentos_e_Praticas_de_Manejo.pdf). Acesso em: 10 jan. 2020.

GONZÁLEZ-ESTRADA, R. R.; CARVAJAL-MILLÁN, E.; RAGAZZO-SÁNCHEZ; J. A.; BAUTISTA-ROSALES; P. U.; Calderón-Santoyo, M. Control of blue mold decay on Persian lime: Application of covalently cross-linked arabinoxylans bioactive coatings with antagonistic yeast entrapped. **LWT-Food Science and Technology**, v. 85, p. 187-196, 2017. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002364381730498X>. Acesso em: 12 out. 2018.

HEFNAWY, M. A.; ABOU-ZEID, A. M. Differential adaptation of membranes of two osmotolerant fungi, *Aspergillus chevalieri* and *Penicillium expansum* to high sucrose concentrations. **Acta Microbiologica Polonica**, Warszawa, v. 52, n. 1, p. 53-64, 2003. Disponível em:

[https://www.researchgate.net/profile/Urszula\\_Nawrot/publication/10614695\\_The\\_ability\\_of\\_Candida\\_spp\\_Strains\\_to\\_induce\\_production\\_of\\_tumor\\_necrosis\\_factor\\_and\\_interleukin-6\\_by\\_whole\\_blood\\_cells/links/0deec5220868d7b644000000/The-ability-of-Candida-spp-Strains-to-induce-production-of-tumor-necrosis-factor-and-interleukin-6-by-whole-blood-cells.pdf#page=53](https://www.researchgate.net/profile/Urszula_Nawrot/publication/10614695_The_ability_of_Candida_spp_Strains_to_induce_production_of_tumor_necrosis_factor_and_interleukin-6_by_whole_blood_cells/links/0deec5220868d7b644000000/The-ability-of-Candida-spp-Strains-to-induce-production-of-tumor-necrosis-factor-and-interleukin-6-by-whole-blood-cells.pdf#page=53). Acesso em: 10 set. 2019.

HERNÁNDEZ, A. E.; MÁRQUEZ, C. J. C.; RESTREPO, C. E. F.; CANO, J. A. S.; PATIÑO, J. H. G. Application of heat treatment, edible coating and chemical dip as postharvest treatments for the conservation of fresh-cut vegetables. **Acta agronómica**, v. 63, n. 1, p. 1-10, 2014. Disponível em:

[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-28122014000100001&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28122014000100001&lng=en&nrm=iso). Acesso em: 20 nov. de 2018.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Produção agrícola municipal: culturas temporárias e permanentes**. Rio de Janeiro, v. 43, p.1-62, 2016.

Disponível em:

[https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam\\_2016\\_v43\\_br.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam_2016_v43_br.pdf) . Acesso em: 12 out. 2019.

JORGE, P. C. S.; NUCCI, M.; RIZZO, J. S.; ASSIS, O. B. G.; MONTEIRO, M. Maçã Royal Gala revestida com quitosana estocada a temperatura ambiente. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 253-2011, 2011. Disponível em:

[https://www.researchgate.net/profile/Magali\\_Monteiro/publication/262957390\\_Shelf-Life\\_of\\_Fresh\\_and\\_Pasteurized\\_Organic\\_Passion\\_Fruit\\_Passiflora\\_Edulis\\_F\\_Flavicarpa\\_Deg\\_Pulp/links/56af5a0a08ae28588c62fca7/Shelf-Life-of-Fresh-and-Pasteurized-Organic-Passion-Fruit-Passiflora-Edulis-F-Flavicarpa-Deg-Pulp.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Magali_Monteiro/publication/262957390_Shelf-Life_of_Fresh_and_Pasteurized_Organic_Passion_Fruit_Passiflora_Edulis_F_Flavicarpa_Deg_Pulp/links/56af5a0a08ae28588c62fca7/Shelf-Life-of-Fresh-and-Pasteurized-Organic-Passion-Fruit-Passiflora-Edulis-F-Flavicarpa-Deg-Pulp.pdf). Acesso em: 18 out. 2018.

KADER, A. A. Postharvest Biology and Technology: an Overview. *In*: KADER, A. A. **Postharvest Technology of Horticultural Crops**. 3. ed. Oakland: UCANR Publications, 2002. cap. 4.

KIST, B. B. et al. **Anuário brasileiro da maçã 2018**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2018 a. 56 p. Disponível em: [http://www.abpm.org.br/site\\_us/anuariodamacabrasileira2018.pdf](http://www.abpm.org.br/site_us/anuariodamacabrasileira2018.pdf). Acesso em: 05 nov. 2018.

KIST, B. B. et al. **Anuário brasileiro de fruticultura 2018**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2018 b. 88 p. Disponível em: <http://www.editoragazeta.com.br/flip/anuario-fruticultura-2018/files/assets/basic-html/index.html#2>. Acesso em: 21 set. 2019.

LEVY, K. **Alternaria blotch of apple (*Alternaria mali*) Roberts**. Bugwood.org. 2020. 1 fotografia. Disponível em: <https://www.invasive.org/browse/detail.cfm?imgnum=5524191>. Acesso em: 10 jan. 2020.

LUNARDI, R.; SANHUEZA, R. M. V.; BENDER, R. J. Imersão em água quente no controle pós-colheita da podridão branca em maçãs cv. Fuji. **Fitopatologia brasileira**. Brasília. Vol. 28, n. 4, p. 431-434, 2003. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-41582003000400015&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-41582003000400015&lng=en&nrm=iso). Acesso em: 21 set. 2019.

MACARISIN, D.; DROBY, S.; BAUCHAN, G.; WISNIEWSKI, M. Superoxide anion and hydrogen peroxide in the yeast antagonist-fruit interaction: A new role for reactive oxygen species in postharvest biocontrol? **Postharvest Biology and Technology**, v. 58, n 3, p. 194-202, 2010. DOI: Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925521410001584?via%3Di> hub. Acesso em: 21 set. 2019.

MACEDO, Maria Luiza Alves de; FERREIRA, Jessica Gabriela Dantas; WANDERLEY, Werner; SILVA, Ana Heloisy Pereira da. AVALIAÇÃO DA PERDA DE MASSA EM FRUTOS DE MARACUJÁ SUBMETIDOS AO REVESTIMENTO COM FÉCULA DE MANDIOCA. *In*: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIAS DE ALIMENTOS, 2013. **Anais[...]**. Campinas, GALOÁ, 2018. Disponível em: <https://proceedings.science/slaca/slaca-2013/trabalhos/avaliacao-da-perda-de-massa-em-frutos-de-maracuja-submetidos-ao-revestimento-com-fecula-de-mandioca?lang=pt-br>. Acesso em: 16 out. 2019.

MACHADO, M. Basf destaca como foi a safra 17/18 da maçã. Grupo Cultivar Notícias. **Revista Cultivar**.abr. 2018. Disponível em: <https://www.grupocultivar.com.br/noticias/basf-destaca-como-foi-a-safra-17-18-da-maca>. Acesso em: 11 nov. 2018.

MAGUIRE, K.M., et al. Harvest date, cultivar, orchard and tree effects on water vapor permanence in apples. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, v.125, n.1, p.100-104, 2000. Disponível em: <https://journals.ashs.org/jashs/abstract/journals/jashs/125/1/article-p100.xml>. Acesso em: 10 jan. 2020.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle Biológico de Doenças de Plantas no Brasil. In: Bettiol W; Morandi, MAB (Eds.) **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna, SP. Embrapa Meio Ambiente. pp. 07-14, 2009. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/579954/biocontrole-de-doencas-de-plantas-uso-e-perspectivas>. Acesso em: 16 nov. 2018.

OGOSHI, Cláudio, et al. PODRIDÕES PÓS-COLHEITA EM MAÇÃ: PERDAS ECONÔMICAS E ALTERNATIVAS DE MANEJO. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, XVI, 2019, Fraiburgo, SC. **Anais [...]**. Caçador: Epagri, vol 1 (palestras), 2019. 130p. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1114434/1/AnaisXVIEnfrutePalestras2019.pdf#page=83>. Acesso em: 10 jan. 2020.

OLIVEIRA, E. N. A.; SANTOS, D. C. **Tecnologia e processamento de frutos e hortaliças**. Natal: IFRN, 234p., 2015. Disponível em: <https://memoria.ifrn.edu.br/bitstream/handle/1044/363/Tecnologia%20e%20Processamento%20de%20Frutos%20e%20Hortalic%CC%A7as%20.pdf?sequence=1&isAllowed=y> >. Acesso em: 10 nov. 2018.

PARISI, M. C. M.; HENRIQUE, C. M.; PRATI, P. Doenças pós-colheita: um entrave na comercialização. Pesquisa & Tecnologia, vol. 12, n. 2, jul- dez 2015.  
PEREIRA, Márcio Eduardo Canto et al. Aplicação de revestimento comestível para conservação pós-colheita da manga Tommy Atkins em temperatura ambiente. In: Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO BRASILEIRO E FRUTICULTURA, 2004, Florianópolis. **Anais [...]**. SBF: Governo do Estado: Epagri, 2004. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPATSA/30144/1/OPB835.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2018.

PELIZER, L.H. Utilização de resíduos agro-industriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. **Journal of Technology Management & Innovation**, v.2, n.1, p.118-125, 2007.

PITTET, A. Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds: a decade in review. In: KOE, W.J.; SAMSON, R. A.; VAN EGMOND, H. P.; GILBERT, J.; SABINO, M. **Mycotoxins and phycotoxins in perspective at the turn of the millenium**. Wageningen: Ponsen e Looyen, 2001. p.159.

PITT, J. I., HOCKING, A. D. *Fungi and food spoilage*. In: **Penicillium and Related Genera**. Cap.7. p. 169-263. New York: Springer, p.519. 2009. DOI 10.1007/978-0-387-92207-2. Disponível em: [https://www.scirp.org/\(S\(czeh2tfqyw2orz553k1w0r45\)\)/journal/paperinformation.aspx?paperid=84342](https://www.scirp.org/(S(czeh2tfqyw2orz553k1w0r45))/journal/paperinformation.aspx?paperid=84342). Acesso em: 14 out. 2019.  
PRATES, Mariana Ferreira Oliveira; ASCHERI, Diego Palmiro Ramirez. Efeito da cobertura de amido de fruta-de-lobo e sorbitol e do tempo de armazenamento na conservação pós-colheita de frutos de morango. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, 29.1, 2011. Disponível em:

<https://revistas.ufpr.br/alimentos/article/viewFile/22746/16534>. Acesso em: 16 out. 2019.

RINALDI, M. M. Perdas pós-colheita devem ser consideradas. Artigos técnicos. Embrapa Cerrados. **Grupo Cultivar**. Disponível em: <https://www.grupocultivar.com.br/artigos/perdas-pos-colheita-devem-ser-consideradas>. Acesso em: 31 out. 2018.

ROSA M. M.; TAU-K-TORNISIELO, S. M.; RAMPAZZO, P. E.; CECCATO-ANTONINI, S. R. Evaluation of the biological control by the yeast *Torulaspota globosa* against *Colletotrichum sublineolum* in sorghum. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, n. 8, p. 1491-1502, 2010. DOI: 10.1007/s11274-010-0324-8. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/225890969\\_Evaluation\\_of\\_the\\_biological\\_control\\_by\\_the\\_yeast\\_Torulaspota\\_globosa\\_against\\_Colletotrichum\\_sublineolum\\_in\\_sorghum](https://www.researchgate.net/publication/225890969_Evaluation_of_the_biological_control_by_the_yeast_Torulaspota_globosa_against_Colletotrichum_sublineolum_in_sorghum). Acesso em: 31 out. 2018.

ROZWALKA, L. C.; LIMA, M. L. R. Z. C.; MIO, L. L. M.; NAKASHIMA, T. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p.301-307, 2008. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782008000200001&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000200001&lng=en&nrm=iso). Acesso em: 30 out. 2018.

SALOMÃO, B. D. C. M.; MASSAGUER, P. R.; ARAGÃO, G. M. F. Isolamento e seleção de fungos filamentosos termorresistentes em etapas do processo produtivo de néctar de maçã. **Food Science and Technology**. Campinas, v. 28, p.116-121. 2008. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/32242/1/S0101-20612008000100017.pdf>. Acesso em: 30 out. 2018.

SANHUEZA, R. M. V. Maçã: pós-colheita. In: **Podridões de maçãs frigorificadas**. RS, Brazil: Embrapa Uva e Vinho, 2004, 35-44. Disponível em: [https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/4PodridoesMacasFrigorificadasPoscolheita\\_000fid24vvy02wyiv80z4s473os8yusr.pdf](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/4PodridoesMacasFrigorificadasPoscolheita_000fid24vvy02wyiv80z4s473os8yusr.pdf). Acesso em: 20 jul. 2019.

SANJO aposta na qualidade para elevar ganhos com colheita da maçã em 2010. **Revista Globo Rural**. 2010. Disponível em: [http://revistagloborural.globo.com/EditoraGlobo/componentes/article/edg\\_article\\_print/0,3916,1709962-1935-1,00.html](http://revistagloborural.globo.com/EditoraGlobo/componentes/article/edg_article_print/0,3916,1709962-1935-1,00.html). Acesso em: 11 nov. 2018.

SANTOS, A.; MARQUINA, D. Killer toxin of *Pichia membranifaciens* and its possible use as a biocontrol agent against grey mould disease of grapevine. **Microbiology**, v. 150, n. 8, p. 2527-2534, 2004. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15289549>. Acesso em: 11 nov. 2018.

SANTOS, A.; SÁNCHEZ, A.; MARQUINA, D. Yeasts as biological agents to control *Botrytis cinerea*. **Microbiological Research**, v. 159, n. 4, p. 331-338., 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2004.07.001>. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0944501304000667?token=699C20116FC>

7AE397C19CD5FDAF3B8D8EE32BC0CFB5492D520B966BEEB50293BE96CE4F2D4DD9254C40E181EC077EF15. Acesso em: 11 nov. 2018.

SCHMITT, M. J.; BREINIG, F. The viral killer system in yeast: from molecular biology to application. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 26, p. 257-276, 2002. Disponível em: <https://academic.oup.com/femsre/article/26/3/257/497293>. Acesso em: 11 nov. 2018.

SCHWARZ, A. Relative humidity in cool stores: measurement, control and influence of discreet factors. **Acta Horticulturae**, v.2, n.368, p.687-692, 1994. Disponível em: [https://www.actahort.org/books/368/368\\_82.htm](https://www.actahort.org/books/368/368_82.htm). Acesso em: 10 jan. 2020.

SCOGNAMIGLIO, H. **Brasil é o terceiro maior produtor de frutas do mundo**. Assessoria de Comunicação e Imprensa da FAAC, 11 dezembro 2017. Disponível em: <https://acifaacunesp.com/2017/09/17/brasil-e-o-terceiro-maior-produtor-de-frutas-do-mundo/>. Acesso em: 31 out. 2018.

SIGRIST, José Maria Monteiro; BLEINROTH, Ernesto Walter; MORETTI, Celso Luís. Manuseio pós-colheita de frutas e hortaliças. *In*: CORTEZ, Luís Augusto Barbosa; HONÓRIO, Sylvio Luís; MORETTI, Celso Luís. **Resfriamento de frutas e hortaliças**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. cap. 5, p.83-93.

SILVA, E. O.; PINTO, P. M.; JACOMINO, A. P.; SILVA, L. T. **Processamento mínimo de produtos hortifrutícolas**. Documentos 139, Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical, 2011. Disponível em: <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/Doc139.pdf>. Acesso em: 18 out. 2019.

SIMER, P.; CALEGARI, R. P.; MACHADO-LUNKES, A.; HASHIMOTO, E. H.; COELHO, A. R. Biocontrole de fungos filamentosos por *Hansenula wingei* visando aplicação na pós-colheita de frutos. **Revista Magistra**, v. 25, n. especial, p. 1-5, 2013.

SMILANICK, J. L.; AIYABEI, J.; GABLER, F. M.; DOCTOR, J.; SORENSON, D.; MACKEY, B. Quantification of the toxicity of aqueous chlorine to spores of *Penicillium digitatum* and *Geotrichum citri-aurantii*. **Plant Disease**, v. 86, n. 5, p. 509-514, 2002. Disponível em: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS.2002.86.5.509>. Acesso em: 18 out. 2018.

SOARES, N. F. F.; SILVA, D. F. P.; CAMILLOTO, G. P.; OLIVEIRA, C. P.; PINHEIRO, N. M.; MEDEIROS, E. A. A. Antimicrobial edible coating in post-harvest conservation of guava / Uso de revestimento comestível e conservação pós-colheita de Goiaba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 1, p. 281-289, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbf/v33nspe1/a35v33nspe1.pdf>. Acesso em: 17 out. 2019.

TAQARORT, N.; Echairi, A.; Chaussod, R.; Nouaim, R.; Boubaker, H.; Benaoumar, A. A.; Boudyach, E. Screening and identification of epiphytic yeasts with potential for biological control of green mold of citrus fruits. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 12, p. 3031-3038, 2008. Disponível em:



[https://www.researchgate.net/publication/216627843\\_Screening\\_and\\_identification\\_of\\_epiphyticYeasts\\_with\\_potential\\_for\\_biological\\_control\\_of\\_green\\_mold\\_of\\_citrus\\_fruits](https://www.researchgate.net/publication/216627843_Screening_and_identification_of_epiphyticYeasts_with_potential_for_biological_control_of_green_mold_of_citrus_fruits). Acesso em: 19 out. 2019.

Tannous, J., Atoui, A., El Khoury, A., Francis, Z., Oswald, I. P., Puel, O., Lteif, R. A study on the physicochemical parameters for *Penicillium expansum* growth and patulin production: effect of temperature, pH, and water activity. **Food science & nutrition**, v.4, p. 611-622, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4930504/> . Acesso em: 03 Jan. 2020.

VALDEBENITO-SANHUEZA R. M. **Produção Integrada de maçãs no Brasil: Importância da cultura**. Embrapa Uva e Vinho. Jan. 2003. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Maca/ProducaoIntegradaMaca/index.htm>. Acesso em: 05 nov. 2018.

ZHAO, Y.; TU, K.; SHAO, X.; JING, W.; SU, Z. Effects of the yeast *Pichia guilliermondii* against *Rhizopus nigricans* on tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 49, n.1, p. 113-120, 2008. Disponível em: <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/726736>. Acesso em: 05 nov. 2018.