

ARGUS CEZAR DA ROCHA NETO

Efeito de ácidos fenólicos e sais inorgânicos no controle do bolor azul (*Penicillium expansum*) e mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em frutos de maçã

Projeto de monografia apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientador: Prof. Dr. Robson Marcelo Di Piero

**Florianópolis
2011**

Efeito de ácidos fenólicos e sais inorgânicos no controle do bolor azul (*Penicillium expansum*) e mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em frutos de maçã

ARGUS CEZAR DA ROCHA NETO

Monografia apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.

ROBSON MARCELO DI PIERO

Prof. Dr., Depto. de Fitotecnia/CCA/UFSC - Orientador

ROSETE PESCADOR

Profa. Dra., Depto. de Fitotecnia/CCA/UFSC

MARCIEL JOÃO STADNIK

Prof. Dr., Depto. de Fitotecnia/CCA/UFSC

Florianópolis
2011

IDENTIFICAÇÃO DO ESTÁGIO

Estagiário: Argus Cezar da Rocha Neto

E-mail: neto.acrn@gmail.com

Supervisor e orientador: Robson Marcelo Di Piero

Área de estágio: Fitotecnia / Fitopatologia

Período de estágio: Março a Maio de 2011

Carga horária: 450 horas

Endereço: Laboratório de Fitopatologia CCA/UFSC
Rodovia Admar Gonzaga, 1346. Cx. Postal 476
CEP 88040 – 900 – Florianópolis/SC
Telefone: 55 – 48 – 3721 5423

Home Page: <http://www.cca.ufsc.br/labfitop>

“O êxito não é resultado do acaso, nem do destino; é a operação da providência de Deus, a recompensa da fé e discricção, da virtude e do esforço perseverante.”

(Ellen G. White)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar presente em todos os dias da minha vida. Por me dar forças, saúde, amigos e sabedoria nos momentos mais difíceis. E, principalmente, por guiar os meus caminhos.

À Universidade Federal de Santa Catarina, especialmente ao Centro de Ciências Agrárias e aos professores do curso de Agronomia, pelos ensinamentos.

À COOPERSERRA pela disponibilização dos frutos de maçã utilizados.

Ao professor Dr. Robson Marcelo Di Piero, que esteve sempre presente e disponível para me auxiliar no desenvolvimento das atividades e por todo conhecimento compartilhado.

Aos membros da banca examinadora, Professora Dra. Rosete Pescador e Professor Dr. Marciel J. Stadnik, pela participação e sugestões incorporadas ao texto final.

Aos colegas do laboratório de Fitopatologia pelo auxílio, amizade, pelas dúvidas sanadas e pela alegria contagiante.

Aos meus pais, Argus e Mariza, pelo amor incondicional, pelo incentivo, pela paciência, pelos ensinamentos e cuidados. Por me apoiarem em tudo e me aconselharem da melhor forma possível.

A minha irmã, Talita, pelos momentos de descontração e pelo amor e carinho dado.

A toda minha família e amigos por toda alegria, carinho e entusiasmo.

Ao Allam, Rafael, Henrique, Jéssica e Marjorie o meu especial agradecimento.

Aos meus amigos de graduação, vocês foram essenciais nessa caminhada. Principalmente vocês, Cleomar, Júlio, Gabriella V., Gabriela B. e Suzeli obrigado por tudo.

SUMÁRIO

RESUMO	1
LISTA DE FIGURAS	2
LISTA DE SIGLAS	5
1. INTRODUÇÃO/JUSTIFICATIVA	6
2. OBJETIVOS	9
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
3.1. A cultura da macieira.....	10
3.1.2. Aspectos econômicos	12
3.1.3. Colheita e pós-colheita	12
3.2. Fungos fitopatogênicos.....	14
3.2.1. <i>Penicillium expansum</i>	14
3.2.2. <i>Botrytis cinerea</i>	15
3.3. Produtos alternativos e suas aplicações	17
3.3.1. Compostos fenólicos	18
3.3.2. Sais inorgânicos.....	20
4. MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1. Obtenção dos isolados	21
4.2. Obtenção dos produtos	21
4.3. Obtenção dos frutos	21
4.4. Esquema geral dos bioensaios para verificar a influência dos produtos sobre a germinação de esporos de <i>B. cinerea</i> e <i>P. expansum</i>	22
4.5. Esquema geral dos ensaios para verificar o efeito protetor, curativo e erradicante dos produtos naturais contra a podridão de <i>P. expansum</i>	23
4.6. Análise estatística	25
5. RESULTADOS	26
5.1. Efeito de ácidos fenólicos sobre a germinação dos fungos <i>Botrytis cinerea</i> e <i>Penicillium expansum</i>	26
5.2. Efeito de sais inorgânicos sobre a germinação dos fungos <i>Botrytis cinerea</i> e <i>Penicillium expansum</i>	29
5.3. Efeito protetor, curativo e erradicante de ácidos fenólicos sobre a podridão causada pelo fungo <i>Penicillium expansum</i>	33

5.4. Efeito protetor, curativo e erradicante de sais inorgânicos sobre o controle da podridão causada pelo fungo <i>Penicillium expansum</i>	35
6. DISCUSSÃO	37
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
9. ANEXO	43

RESUMO

Santa Catarina é destaque no cenário nacional como o principal produtor de maçãs. Estima-se colher, em 2011, um total de 580 mil toneladas de maçã. Devido a esse grande volume, há necessidade de que os frutos permaneçam estocados por um longo período de tempo (cerca de 5 meses), em câmaras frias ou sob atmosfera controlada, para manter suas qualidades físicas e químicas, permanecendo atrativos ao consumidor final. No entanto, ao passo que se aumenta o tempo de permanência de armazenamento, aumentam-se os níveis de incidência de podridões pós-colheita, destacando-se as provocadas por *Penicillium expansum* e *Botrytis cinerea*. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de substâncias naturais sobre o desenvolvimento *in vitro* destes patógenos e no seu controle frente às podridões ocasionadas nos frutos. Foram testados ácidos fenólicos (cinâmico, ferúlico, gálico, salicílico e vanílico) a 1, 2,5 e 5 mM, sais inorgânicos (bicarbonato de sódio, carbonato de potássio e cloreto de cálcio) a 0,75%, 1,5% e 3%. Em todos os experimentos, o delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com 4 repetições. A parcela experimental foi representada por uma gota em lâmina escavada (bioensaios *in vitro*) ou 4 frutos no interior de uma bandeja plástica (bioensaios *in vivo*). Dentre os ácido fenólicos, os ácidos cinâmico e salicílico inibiram completamente a germinação dos fungos nas doses 2,5 e 5 mM, mas somente o ácido salicílico controlou a doença causada por *P. expansum* quando aplicado misturado à suspensão de esporos. Dentre os sais inorgânicos, bicarbonato de sódio e carbonato de potássio inibiram quase em 100% a germinação dos fungos, nas doses de 1,5% e 3%, no entanto, foi o cloreto de cálcio quem apresentou um melhor resultado no controle das podridões dos frutos. Desta forma sais inorgânicos e ácidos fenólicos apresentam potencial para utilização nos processos de pós-colheita, através da imersão de frutos em solução.

Palavras chaves: Ácidos fenólicos, sais inorgânicos, *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea*, pós-colheita.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Sintomas e sinais relacionados a *Penicillium expansum* (A); Conidióforo e conídios de *Penicillium expansum* (B). Fontes: (A) O pesquisador. (B) Disponível em <<http://www.mycobank.org/MycoTaxo.aspx?Link=T&Rec=159382> acesso em: 03 de junho 2011.....15
- Figura 2.** Sintomas e sinais de *Botrytis cinerea* (A); Conidióforo e conídios de *Botrytis cinerea* (B). Fontes: (A) O pesquisador; (B) Disponível em <http://www.aphotofungi.com/ascomycetes_botrytis_cinerea_grey_mould.html> acesso em: 03 de junho 2011.....17
- Figura 3.** Porcentagem de germinação e comprimento do tubo germinativo do fungo *P. expansum* na presença de compostos fenólicos a 1 mM. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. CV germinação (%): 9,4; CV comprimento tubo (%): 16,0.....26
- Figura 4.** Porcentagem de germinação e comprimento do tubo germinativo do fungo *P. expansum* na presença de compostos fenólicos a 2,5 mM. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. CV germinação (%): 6,2; CV comprimento tubo (%): 8,4.....27
- Figura 5.** Porcentagem de germinação e comprimento do tubo germinativo do fungo *P. expansum* na presença de compostos fenólicos a 5 mM. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. CV germinação (%): 11,5; CV comprimento tubo (%): 11,3.....27
- Figura 6.** Porcentagem de germinação e comprimento do tubo germinativo do fungo *B. cinerea* na presença de compostos fenólicos a 1 e 5 mM. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. CV germinação: 7,0; CV(%) comprimento: 7,9.....28
- Figura 7.** Porcentagem de germinação dos fungos *B. cinerea* e *P. expansum* na presença de compostos fenólicos e solventes orgânicos. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. CV (%) germinação *B. cinerea*: 2,9; CV(%) germinação *P. expansum*: 5,9.....28
- Figura 8.** Comprimento do tubo germinativo dos fungos *B. cinerea* e *P. expansum* na presença de compostos fenólicos e solventes orgânicos. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. CV (%) germinação *B. cinerea*: 16,8; CV(%) germinação *P. expansum*: 20,0.....29

Figura 9. Porcentagem de germinação de esporos de <i>P. expansum</i> na presença de diferentes doses de sais inorgânicos. Houve efeito de doses e de tratamento pelo F-teste, ao nível de significância 5%. R ² significativo, pelo teste-t, ao nível de 5% de significância. CV(%): 8,20.....	30
Figura 10. Porcentagem de germinação de esporos (A) e comprimento do tubo germinativo (B) de <i>P. expansum</i> na presença de diferentes doses de sais inorgânicos. Houve efeito de doses e de tratamento pelo F-teste, ao nível de significância 5%. R ² significativo, pelo teste-t, ao nível de 5% de significância. CV germinação: 15,5; CV(%) comprimento: 9,0.....	31
Figura 11. Porcentagem de germinação de esporos (A) e comprimento do tubo germinativo (B) de <i>B. cinerea</i> na presença de diferentes doses de sais inorgânicos. Houve efeito de doses e de tratamento pelo F-teste, ao nível de significância 5%, exceto para o cloreto de cálcio sobre a germinação. R ² significativo, pelo teste-t, ao nível de 5% de significância. CV germinação: 9,8; CV(%) comprimento: 12,0.....	32
Figura 12. Porcentagem de germinação de esporos (A) e comprimento do tubo germinativo (B) de <i>B. cinerea</i> na presença de diferentes doses de sais inorgânicos. Houve efeito de doses e de tratamento pelo F-teste, ao nível de significância 5%. R ² significativo, pelo teste-t, ao nível de 5% de significância. CV germinação: 10,2; CV(%) comprimento: 4,9.....	32
Figura 13. Severidade da podridão de <i>P. expansum</i> (1×10^5 esporos/mL) em frutos de maçã tratados com ácidos fenólicos, a 10 mM, de forma preventiva. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. CV(%): 18,3.....	33
Figura 14. Severidade da podridão de <i>P. expansum</i> (1×10^5 esporos/mL) em frutos de maçã tratados com ácidos fenólicos, a 5 mM, de forma curativa. Teste F não significativo a 5%. CV (%): 7,1.....	34
Figura 15. Severidade da podridão de <i>P. expansum</i> (1×10^5 esporos/mL) em frutos de maçã tratados com ácidos fenólicos, a 2,5 mM, de forma erradicante. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. CV(%): 18,0.....	34
Figura 16. Severidade da podridão de <i>P. expansum</i> (1×10^5 esporos/mL) em frutos de maçã tratados com sais inorgânicos de forma preventiva. Houve efeito de doses apenas para o carbonato de potássio pelo F-teste, ao nível de significância 5%. R ² significativo, pelo teste-t, ao nível de 5% de significância. CV (%): 17,76.....	35

Figura 17. Severidade da podridão de *P. expansum* (1×10^5 esporos/mL) em frutos de maçã tratados com sais inorgânicos de forma erradicante. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de separação de medias de Tukey 5%. CV (%): 12,5.36

Figura 18. Severidade da podridão de *P. expansum* (1×10^5 esporos/mL) em frutos de maçã tratados com sais inorgânicos de forma curativa. Teste F não significativo a 5%. CV (%): 4,8.36

LISTA DE SIGLAS

AACPD	Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença
ABPM	Associação Brasileira dos Produtores de Maçã
AGROFIT	Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários
BDA	Batata-Dextrose-Ágar
CEPA	Centro de socio-economia e planejamento agrícola
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EPAGRI	Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina
FAO	Food and Agriculture Organization
FAL	Fenilalanina amônia-liase
FDA	Food and Drug Administration
IBRAF	Instituto Brasileiro de Frutas
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mM	Milimolar
PPM	Partes Por Milhão
SINDAG	Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola

1. INTRODUÇÃO/JUSTIFICATIVA

A macieira (*Malus domestica*) é uma planta originária da Ásia, mais precisamente entre a região do Cáucaso e a região leste da China. Seus frutos são apreciados desde a antiguidade, sendo costumeiramente retratados como o fruto da árvore do bem e do mal. Nos anos seguintes ao de 800 d.c, a nobreza e o clero impulsionaram o cultivo e comercialização da cultura, através da redução de impostos e por meio de decretos. Dessa forma, cada vez mais pomares de macieira foram implantados, iniciando um processo de melhoramento genético da cultura. Atualmente, no mercado mundial, essa cultura têm uma grande importância, atingindo 60 milhões de toneladas produzidas em aproximadamente 6 milhões de hectares cultivados, sendo crescente o seu volume vendido aos principais centros consumidores mundiais. Neste mercado de produção de frutos, dos noventa países produtores, vinte se destacam, sendo responsáveis por cerca de 85% da produção mundial. O Brasil é o 11º nesta lista (FAO, 2008).

O manuseio de frutos, sem os devidos cuidados, desde a sua colheita no campo ao processo de armazenamento, quase sempre resultará no esmagamento interno dos tecidos, promovendo danos fisiológicos anormais ou rachaduras e rupturas da epiderme, provocando perda de água, aumentando a taxa de desarranjo do processo fisiológico normal e propiciando a penetração de organismos causadores de doenças, contribuindo para perda de valor ou mesmo para perda dos frutos a serem comercializados (RESENDE & MACHADO, 2000). Estima-se que as perdas no processo de pós-colheita de maçãs sejam superiores a 20%, variando de acordo com o ano e a variedade em questão (MARTINS et al., 2007). Como o fruto é muito valorizado pelo seu aspecto estético, a proteção fitossanitária da macieira possui um papel fundamental no rendimento desta cultura (STADNIK et al., 2009). Dentre os aspectos estéticos, destacam-se os fatores de coloração da epiderme, tamanho e formato do fruto, firmeza e textura de polpa, além dos teores de sólidos solúveis e ácidos (EPAGRI, 2002). Para a manutenção de todas estas características desejáveis, deve-se começar no campo a adoção de medidas de controle de doenças de pós-colheita, desde um correto manuseio dos frutos à aplicação de produtos que melhorem a vida útil do fruto, como o cálcio.

Os principais fungos no processo de pós-colheita dos frutos são *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, e *Rhizopus stolonifer* (SANHUEZA, 2011). *P. expansum* é um fungo muito agressivo, sendo responsável, em alguns casos,

por mais de 80% das perdas em podridões de frutos de clima temperado em pós-colheita. *B. cinerea* é um patógeno cosmopolita, que além de causar grandes danos à cultura da macieira, causa grandes prejuízos em culturas como uva e morango. Mesmo em condições de refrigeração, sistema comumente adotado para a armazenagem dos frutos, estes fungos permanecem ativos (BONETI et al., 1999).

No Brasil anualmente são utilizados cerca de 700 mil toneladas de produtos químicos formulados em espécies vegetais (SINDAG, 2009). Na macieira, por se tratar de uma cultura perene, e assim ser uma atividade de longo prazo, há uma constante aplicação de químicos. Estima-se que, em média, são feitas 24 aplicações de agrotóxicos entre uma colheita e outra, gerando um custo anual na casa de 53 milhões somente em pulverizações, no âmbito nacional (GLOBO RURAL, 2004). Estas aplicações, por sua vez, além de aumentarem os custos de produção, podem causar grandes impactos ao meio ambiente, danos aos seres vivos, favorecer a seleção de raças mais resistentes aos mecanismos de ação, além de rotularem a maçã como um “fruto envenenado”.

De acordo com Janisiewicz (1996), Campanhola & Bettiol (2003), Sanhueza et al. (2003), Yu & Zheng (2006) e Stadnik et al. (2009) a produção de alimentos livres de resíduos tóxicos têm aumentado durante estes últimos anos, inclusive com a restrição à utilização de produtos químicos no processo de pós-colheita de frutos para consumo *in natura*. Desta forma, inúmeras pesquisas têm sido realizadas para obtenção de formas alternativas no controle de fitopatógenos tais como a indução de resistência de plantas e a utilização de produtos naturais com efeitos antimicrobianos.

A utilização de plantas, seja pela medicina popular para o bem-estar humano, seja para o controle de insetos ou doenças que acometem as plantas, é datada de centenas de anos. Estudos sobre as diferentes composições químicas de plantas, assim como as atividades antimicrobianas de seus extratos e óleos essenciais, são relatados em diversos países, destacando-se o Brasil. No entanto, o país de maior vocação agrícola, possuidor do maior número de espécies vegetais do catálogo florístico do mundo, tem sido chamado internacionalmente a responder pelo descaso com que tem tratado o ambiente, levando à formação de conceitos e opiniões perigosas à soberania nacional, como a internacionalização da Amazônia (MAIRESSE, 2005).

No meio ambiente, as plantas estão sempre cercadas de inúmeros inimigos e competidores que constituem um sistema complexo denominado de ecossistema. Como os vegetais não podem evitar seus inimigos e competidores movendo-se de um local

para outro, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa próprios, diferentes dos animais. Estes mecanismos de defesa englobam, além das alterações morfológicas (barreiras físicas e químicas), a produção de substâncias de defesa contra herbívoros, microorganismos patogênicos e vírus, conhecidas como metabólitos secundários. Diversos trabalhos têm comprovado este potencial, seja pela ação fungicida ou bactericida direta, seja pela indução de resistência na planta (SCHWAN-ESTRADA et al., 1997; DEMPSEY, SILVA, KLESSIG, 1998; COWAN, 1999; BALBI-PEÑA et al., 2006).

Atualmente são conhecidos cerca de 170 mil metabólitos secundários, sendo sintetizados constitutivamente em órgãos e em estádios específicos de desenvolvimento ou pela indução a partir do ataque de herbívoros ou de patógenos (GERSHENZON et al., 2000). Os compostos fenólicos fazem parte de um das principais classes de metabólitos secundários das plantas, utilizados na defesa contra estresses bióticos e abióticos (TAIZ & ZEIGER, 2004). O ácido salicílico, por exemplo, ao ser utilizado por Shabana *et al.*, (2008), no controle da mancha-parda do arroz, a uma concentração de 9mM, inibiu completamente o crescimento do patógeno *in vitro*, demonstrando o potencial efeito antifúngico da utilização exógena de compostos.

Além destes, a utilização de sais inorgânicos torna-se uma alternativa, tendo-se destacado por possuir um pequeno efeito tóxico ao homem e ao ambiente, além de serem baratos e amplamente utilizados na alimentação e aceitos pelos consumidores. Franco & Bettioli (2002) comprovaram os efeitos fungicidas do carbonato de potássio (1%) e do bicarbonato de sódio (3%), por inibir a germinação de conídios do fungo *P. digitatum* em 100%. Do mesmo modo, Nigro et al. (2006) demonstraram que o tratamento de uvas de mesa cv. Itália com bicarbonato de sódio e com cloreto de cálcio, por pulverização, diminuiu a podridão causada por *B. cinerea* em torno de 37% e 50%, respectivamente.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar formas alternativas aos fungicidas para o controle de podridões pós-colheita causadas por *P. expansum* e *B. cinerea*, através do tratamento dos frutos de maçã com compostos fenólicos e sais inorgânicos.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a eficiência dos produtos naturais (ácidos fenólicos e sais minerais) no controle das doenças da macieira (*Malus domestica*) em pós-colheita.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar o efeito das concentrações dos ácidos fenólicos cinâmico, ferúlico, gálico, salicílico e vanílico na germinação de *B. cinerea* e *P. expansum*;
- Verificar o efeito das concentrações dos sais inorgânicos bicarbonato de sódio, carbonato de potássio e cloreto de cálcio na germinação de *B. cinerea* e *P. expansum*;
- Avaliar o efeito protetor, curativo e erradicante dos ácidos cinâmico, ferúlico, gálico, salicílico e vanílico no controle das podridões de *B. cinerea* e *P. expansum* em frutos de maçã;
- Avaliar o efeito protetor, curativo e erradicante de bicarbonato de sódio, carbonato de potássio e cloreto de cálcio no controle das podridões de *B. cinerea* e *P. expansum* em frutos de maçã;
- Contribuir na geração de formas sustentáveis de combate às podridões de pós-colheita na produção de maçãs.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. A cultura da macieira

3.1.1. Aspectos botânicos e fisiológicos

A evolução da macieira iniciou por volta de 25 milhões de anos, tendo o seu centro de origem na região entre o Cáucaso, cadeia de montanhas da Ásia com altitudes de 2000 m, e o leste da China. Os gregos possivelmente cultivaram a macieira, no entanto, é no Império Romano que a cultura foi muito difundida. Atualmente existem mais de 7 mil variedades de macieiras, mas apenas cerca de 40 delas possuem importância econômica (BLEICHER, 2002).

A macieira, *Malus domestica*, é uma planta da família Rosaceae, a qual possui aproximadamente 100 gêneros e mais de 2000 espécies espalhadas por todo o mundo. A macieira pertence à subfamília Pomoideae, que se caracteriza por possuir um receptáculo profundo em forma de taça, cujas paredes inferiores se unem aos carpelos que, por sua vez, unem-se entre si, contendo geralmente dois óvulos. Seu fruto é um pomo, constituído por um receptáculo carnudo e desenvolvido, envolvendo os ovários cujo endocarpo é coriáceo, contendo uma única semente. As plantas são árvores lenhosas, de clima temperado, com folhas simples, alternadas e caducas, de flores hermafroditas brancas ou rosas (LUCHI, 2002).

Para o cultivo da macieira diversos fatores devem ser levados em consideração, tais como temperatura, pluviosidade, umidade relativa, vento, insolação, tipos de solo, topografia, entre outros. Dentre os elementos climáticos, a temperatura é o mais importante, influenciando não apenas o período de dormência da planta, mas também durante a fase de crescimento vegetativo. Tanto as temperaturas de inverno, como as da primavera e do verão são importantes, uma vez que podem influir diretamente no desenvolvimento da cultura. Temperaturas entre 18°C e 23°C durante a fase vegetativa são indispensáveis para que as plantas reiniciem um novo ciclo, com brotação e floração normais. Quando não há frio suficiente, a quebra de dormência das plantas, visando diminuir a concentração dos inibidores de crescimento e garantir uma frutificação mais uniforme, poderá ser feita valendo-se de métodos culturais, como a aplicação de produtos químicos (PETRI, 2002a).

Dentre as principais cultivares produzidas no Brasil e no mundo, destacam-se a Fuji e a Gala. A Gala é uma das cultivares que mais vem crescendo em popularidade no

mundo, devido a sua qualidade gustativa e boa aparência de seus frutos. A Gala tem sua origem na Nova Zelândia, adaptando-se bem a regiões com altitudes acima de 1.300 m, sendo necessária quebra de dormência artificial em regiões de menor altitude. É uma cultivar precoce, iniciando a colheita no final da segunda quinzena de janeiro e a segunda quinzena de fevereiro. É uma cultivar que pouco sofre alternância de produção sendo, no entanto, desuniforme quanto à maturação dos frutos. Seus frutos são de coloração vermelho-rajado sob fundo amarelo, liso e brilhante, de tamanho médio a pequeno, de formato cônico e polpa crocante e succulenta. Frutos sombreados, contudo, se tornam pouco coloridos. É muito suscetível à sarna (*V. inaequalis*) e ao oídio (*P. leucotricha*). Em câmara fria, os frutos podem ser conservados por até três meses sem perder seu sabor e textura, ao passo que em condições de atmosfera controlada, este prazo se estende por até cinco meses (CAMILO; DENARDI, 2002).

A cultivar Fuji está listada entre as quatro novas cultivares de macieira mais promissoras no contexto mundial, devido às suas excelentes qualidades organolépticas e sua alta produtividade, sendo responsável por mais de 38% das vendas no mercado. Esta cultivar surgiu no Japão, sendo introduzida no Brasil em 1967. É uma planta vigorosa, muito produtiva, tardia quando comparada à precocidade da Gala, exigente em frio hibernal, necessitando de quebra de dormência artificial em altitudes inferiores a 1.300m. Seus frutos são de tamanho médio a grande, redondo a oblongo, sendo mais achatados e menores em regiões de altitudes inferiores a 1.300m. A epiderme é fina, de coloração rosa-pálida, com cor de fundo amarelada quando próximo ao ponto de maturação. A polpa é aromática, firme, crocante e succulenta. É suscetível à sarna (*V. inaequalis*) e à podridão amarga (*G. cingulata*), sendo mais resistente ao oídio do que a cultivar Gala. Pode ser conservada em câmaras frias por um período de até seis meses e sob condições de atmosfera controlada por até doze meses (CAMILO; DENARDI, 2002).

As taxas de crescimento, forma e tamanho dos frutos, tempo e homogeneidade de maturação variam de acordo com a cultivar a ser plantada e o local em que será estabelecido o pomar. O fruto, em seu desenvolvimento fisiológico, passa primeiramente por um aumento da taxa metabólica e respiração devido ao intenso processo de divisão celular. Posteriormente, há uma diferenciação dos tecidos, havendo um aumento no tamanho total das células, proporcionando um crescimento dos frutos. Em seguida, há maturação fisiológica e, ao final, ocorre a maturação comercial do fruto, com a oxidação de ácidos orgânicos e hidrólise do amido, juntamente com a

modificação da coloração da epiderme e produção de antocianinas e carotenóides, variando de acordo com cada cultivar e as condições a que estão sujeitas (LUCHI, 2002). Frutos climatéricos, como a maçã, que sofrem um rápido aumento da taxa respiratória e síntese de etileno depois de sua maturação fisiológica, quando armazenados a temperatura ambiente, apresentam uma alta atividade respiratória, produzindo grandes quantidades de etileno que, relacionados a outros fatores, aceleram o amadurecimento dos frutos (KADER, 1992).

3.1.2. Aspectos econômicos

A concentração da produção nacional de maçãs está na região Sul do Brasil, principalmente nos locais que se assemelham às regiões do centro de origem da cultura. Santa Catarina é o principal estado produtor de maçãs, onde, em 2011, se estima colher um total aproximado de 580 mil toneladas do fruto, em uma área de aproximadamente 20.190 hectares (CEPA, 2010). No cenário nacional, prevê-se colher em 2011, mesmo com uma queda de 16% em relação ao total nacional de 2010, 1 milhão e 50 mil toneladas do fruto (ABPM, 2011).

Apesar de o país estar entre os destaques do cenário internacional da produção de frutos, exportando em 2008 cerca de 110 toneladas de maçã (IBRAF, 2009) para os mais diversos países consumidores, como Holanda, França, Alemanha, Portugal, Dinamarca e Rússia, houve um incremento no volume de importação de maçãs em cerca de 25% entre 2009 e 2010 (IBRAF, 2011), o que culminou em uma crise generalizada no setor, devido à grande oferta frente à demanda, fazendo os preços despencarem.

3.1.3. Colheita e pós-colheita

A determinação da época de colheita deve ser feita baseando-se nas condições de campo, na aparência visual dos frutos, nos preços de mercado encontrados e também nos custos e qualidade dos transportes envolvidos (SHEWFELT & PRUSSIA, 2009).

O processo de colheita inicia, primordialmente, de acordo com as características físico-químicas, determinadas por parâmetros mensuráveis como teor de sólidos solúveis totais, índice de iodo-amido e coloração do fundo da película. O mercado de maçã para consumo *in natura* é altamente competitivo, aceitando-se apenas frutos com qualidade superior, não havendo espaço para frutas de categorias inferiores. Deste

modo, é imprescindível que durante todo o processo existam cuidados que assegurem a qualidade do fruto. No Brasil, muitas perdas são verificadas desde a colheita até a comercialização, devido ao mau manuseio ou à falta de cuidados no manejo da fruta colhida, durante o processamento, armazenamento e transporte (PETRI et al., 2002b).

Antes de serem armazenados, os frutos passam por um criterioso processo de classificação, que ocorre de acordo com as normas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), de modo a facilitar o processo de distribuição e comercialização, levando-se em consideração a coloração da casca, a forma e o tamanho dos frutos. Separando-os por estas características, estes são agrupados em quatro classes distintas, entre tipos 1 a 4, sendo acondicionados em caixas de tamanho padronizado pela instrução normativa N°50, de setembro de 2002 do MAPA.

Em virtude dos seus aspectos fisiológicos, grande parte das frutas, vegetais e flores são altamente perecíveis. Estes aspectos qualitativos são adquiridos antes da colheita, pelas condições de crescimento, regime nutricional e potencial genético da variedade em particular. No entanto, estas características podem ser mantidas por um determinado tempo, desde que existam condições adequadas para isso (PALIYATH et al., 2008). De modo a mantê-las, os frutos são acondicionados, ocasionalmente, em câmaras de atmosfera controlada, onde além do controle de temperatura e umidade, há um controle dos níveis dos gases carbônico e etileno. Estas condições são conseguidas utilizando-se compostos absorventes, como pastilhas de KOH (40%), ou mesmo pela diluição do O₂ presente pela adição de N₂ (SHEWFELT & PRUSSIA, 2009; BRACKMANN & WACLAWOVSKY, 1999), retardando o processo de senescência pela diminuição do metabolismo do fruto sem alterar suas qualidades.

Outro método importante de acondicionamento consiste apenas no armazenamento dos frutos sob baixas temperaturas e umidade apropriada, retardando o desenvolvimento de patógenos responsáveis por perdas no processo de pós-colheita. No entanto, mesmo nas áreas de produção onde se têm as principais tecnologias, os frutos estão sujeitos ao ataque dos patógenos (SANZANI et al., 2008). O ataque inicial de doenças que se desenvolvem no pós-colheita ocorre geralmente ligado a uma injúria mecânica, podendo ocorrer também no ponto de separação peduncular ou aberturas naturais, como os estômatos e lenticelas. Há uma infecção inicial por um ou vários patógenos, potencializada por infecções secundárias. Em geral, infecções pós-colheita de frutos são mais comumente causadas por fungos (RESENDE & MACHADO, 2000). Deste processo, há uma perda quantitativa e qualitativa dos frutos de maçã, tendo em

vista que este torna o fruto menos atrativo aos consumidores e serve como fonte de inóculo para novas infecções em frutos sadios.

O fungo causador do bolor azul em maçãs, apesar de ser extremamente agressivo e não seletivo, necessita de pequenos ferimentos na epiderme do fruto para que possa infectá-lo. Este fungo foi responsável por cerca de 90% das perdas em podridão pós-colheita de maçãs antes do advento das câmaras frias com atmosfera controlada (BLUM et al., 2004). Além deste, os frutos de maçã estão sujeitos ao aparecimento de outras podridões, como o mofo cinzento, que apesar de não ser tão agressivo como o bolor azul, não necessita de ferimentos para infectar o hospedeiro, fazendo-o diretamente sob a epiderme.

3.2. Fungos fitopatogênicos

3.2.1. *Penicillium expansum*

O gênero *Penicillium* pertence à ordem Eurotiales da subdivisão Ascomycotina, sendo muito comum na fase de pós-colheita, causando bolor azul, no caso da maçã, e verde nos citrus, podendo produzir micotoxinas nos órgãos atacados, como a patulina, um composto polar produzido por *P. expansum*. (FILHO et al, 1995; SANZANI et al., 2008). Em um estudo recente feito na Itália, frutos de maçã colhidos nos sistemas convencionais e orgânicos apresentaram altos níveis de patulina, sendo maiores do que aqueles tolerados pelo organismo humano (SANZANI et al., 2008).

P. expansum é um fungo cosmopolita, não específico, atacando culturas como maçã e peras. Nos países produtores de maçã, esta é a doença mais importante na perda da qualidade e quantidade de frutos armazenados (JANISIEWICZ, 1999).

Não existem variedades resistentes, sendo todos os frutos de maçã suscetíveis ao ataque do patógeno. A podridão mole causada é aquosa, de coloração castanho-clara, podendo a cor variar de uma fruta a outra. O tecido afetado separa-se facilmente das partes sadias. Por ser incapaz de atravessar a cutícula dos frutos, a penetração ocorre a partir de ferimentos ou de aberturas naturais. Cada fruto contaminado apresenta inóculo capaz de infectar de 12 a 15 novos frutos sadios (KIMATI et al., 1997; MONDINO et al., 2009).

Quando a umidade relativa é alta, a podridão se desenvolve rapidamente, com uma grande produção de conídios na superfície da lesão. Os conídios são extremamente

resistentes a secas, podendo sobreviver na superfície de caixas de colheita, nas câmaras de armazenamento e outros equipamentos (KIMATI et al., 1997). No entanto, a germinação dos esporos de *P. expansum* encontra seu ótimo em temperaturas entre 21° a 25°C, sob umidade relativa superior a 80%.

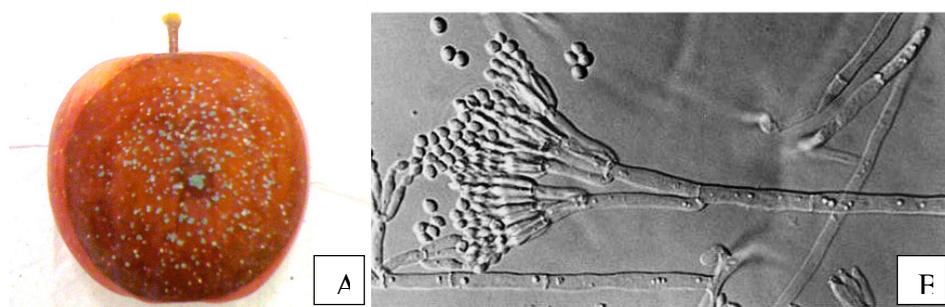


Figura 1. Sintomas e sinais relacionados a *Penicillium expansum* (A); Conidióforo e conídios de *Penicillium expansum* (B). Fontes: (A) O pesquisador. (B) Disponível em <<http://www.mycobank.org/MycoTaxo.aspx?Link=T&Rec=159382> acesso em: 03 de junho 2011.

Preconizam-se, como medidas de controle da doença, métodos culturais como a desinfestação das caixas de colheita com hipoclorito de sódio a 100 ppm de cloro ativo e dos locais de armazenamento com pastilhas de thiabendazole. Além disto, é importante que se tomem cuidados durante todo o processo, de forma a não se causar danos mecânicos nos frutos e evitando a contaminação cruzada, fazendo-se limpezas periódicas dos locais. Recomenda-se ainda que se evite colher os frutos em condições favoráveis de infecção (MONDINO et al., 2009; KIMATI et al., 1997).

Tratamentos pós-colheita podem ser realizados com fungicidas registrados como os benzimidazóis, iprodione e imazalil devendo a água utilizada no tratamento estar isenta de partículas de argila e matéria orgânica (KIMATI et al., 1997). No entanto, o tratamento químico em pós-colheita de frutos vem cada vez mais sendo substituído no Brasil por outras formas igualmente eficientes e, no entanto, sustentáveis de controle, atendendo às demandas sociais por produtos menos agressivos ao meio ambiente.

3.2.2. *Botrytis cinerea*

Classificado na ordem Helotiales da subdivisão Ascomycotina, este fungo é considerado um dos maiores patógenos de pós-colheita no mundo, causando o mofo cinzento em diversas plantas (FILHO et al., 1995).

Segundo Beever & Weeds (2007), o ciclo de vida do *Botrytis* compreende várias fases: uma fase somática (vegetativa), um sistema micelial que produz esporos assexuais (estritamente macro conídios), escleródios e micro conídios. Os escleródios normalmente germinam produzindo micélios ou conídios, mas depois de pré-condições e fertilização apropriadas, eles podem germinar formando apotécios (fase teleomórfica, *Botryotinia*), contendo ascósporos resultantes da meiose. Por conveniência e pelo desconhecimento das fases teleomórficas de todas as espécies de *Botrytis*, utiliza-se o gênero *Botrytis* para incluir tanto a fase anamórfica (*Botrytis*) como a teleomórfica (*Botryotinia*).

Estes são patógenos de plantas medicinais, olerícolas, ornamentais, em culturas de pomar a campo ou durante seu armazenamento. Esforços consideráveis têm sido aplicados para proteger os produtos contra *Botrytis* antes e após a colheita. Inicialmente, acreditava-se que este patógeno ocorria apenas em locais de clima temperado, devido às pesquisas feitas nestas regiões e por costumeiramente ser encontrado nos vinhedos. Atualmente sabe-se que este não se limita apenas a esta região, ocorrendo onde seus hospedeiros estejam crescendo, variando das regiões tropicais às subtropicais até áreas mais frias. Nos diferentes patossistemas, a infecção ocorre na presença de um filme de água sobre um tecido suscetível da planta, uma vez que seus conídios só germinam em altas umidades (ELAD et al., 2007).

Todas as variedades de maçã são suscetíveis ao aparecimento da doença. A infecção normalmente ocorre por ferimentos produzidos durante o processo de colheita e armazenamento. No entanto, este pode invadir os pedúnculos ou a zona do cálice do fruto. A podridão causada é de cor castanha e de textura firme, podendo ser observada sobre ela tufo de esporos de cor cinza, não sendo possível fazer separação do tecido sadio em relação ao tecido afetado.



Figura 2. Sintomas e sinais de *Botrytis cinerea* (A); Conidióforo e conídios de *Botrytis cinerea* (B).
Fontes: (A) O pesquisador; (B) Disponível em <http://www.aphotofungi.com/ascomycetes_botrytis_cinerea_grey_mould.html> acesso em: 03 de junho 2011.

Para o controle do mofo cinzento, recomenda-se a adoção de medidas de caráter sanitário, como eliminar frutos contaminados, evitar danos durante os tratos culturais, fazer a colheita em dias de menor umidade relativa, reduzindo a temperatura da fruta colhida o mais rápido possível (MONDINO et al., 2009).

Não existem muitos produtos químicos indicados para o controle da podridão, no entanto, fungicidas à base de iprodione e benzimidazóis são utilizados apresentando bons resultados (AGROFIT, 2003).

3.3. Produtos alternativos e suas aplicações

A crescente conscientização mundial sobre os riscos do uso extremo de agrotóxicos tem motivado a descoberta de novos sistemas de produção mais sustentáveis, diminuindo ou até mesmo extinguindo a utilização dos produtos químicos. A produção orgânica ou mesmo o manejo integrado de frutas vêm sendo alternativas a este cenário. Impulsionados principalmente pela demanda exterior, os produtores nacionais vêm mudando paulatinamente os sistemas de produção, colocando de lado o uso indiscriminado de químicos em prol de seu uso consciente.

Desta forma, não apenas o meio ambiente e o consumidor são beneficiados, mas o próprio produtor, uma vez que há uma diminuição dos custos de produção, seus produtos podem ser vendidos a um preço diferenciado dos demais e há uma diminuição dos riscos à sua saúde.

Certo é que, além desta demanda social e crescente conscientização, o modelo trazido pela revolução verde, com o uso indiscriminado de produtos químicos, começou a selecionar populações de patógenos cada vez mais resistentes a determinados princípios ativos. Com isso, a agricultura convencional se viu diante de um problema solucionável a partir da descoberta de novos princípios ativos, encontrados em produtos derivados da própria natureza.

3.3.1. Compostos fenólicos

Os vegetais produzem uma grande quantidade de compostos orgânicos que muitas vezes parecem não ter uma função direta em seu crescimento e no seu desenvolvimento. Estas substâncias são conhecidas como metabólitos secundários ou produtos secundários, não apresentando ação direta em processos como fotossíntese, respiração, transporte de solutos, na síntese de carboidratos, proteínas e lipídios (TAIZ & ZEIGER, 2004). São conhecidos atualmente cerca de 170 mil metabólitos secundários, sendo estes sintetizados constitutivamente em órgãos ou em estádios específicos de desenvolvimento, ou tendo sua produção induzida por ataque de herbívoros ou patógenos (GERSHENZON et al., 2000).

As principais classes de metabólitos secundários produzidos nas plantas, utilizados como forma de defesa contra estresses bióticos e abióticos são os terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (TAIZ & ZEIGER, 2004). Os compostos fenólicos sintetizados nas plantas apresentam efeitos protetores contra exposição aos altos níveis de radiação solar, infecção por bactérias ou fungos. Em adição, os compostos fenólicos também são importantes para a estrutura celular, na sinalização e pigmentação (SHETTY et al., 2008).

Os compostos fenólicos são biossintetizados por meio de diferentes rotas. Duas delas são rotas metabólicas básicas: a rota do ácido chiquímico e a rota do ácido malônico. Esta última, embora seja uma importante rota para produção de metabólitos secundários em fungos e bactérias, é menos expressiva em se tratando de plantas superiores. A rota do ácido chiquímico, presente em plantas, fungos e bactérias, não é encontrada em animais, os quais não podem sintetizar três aminoácidos aromáticos – fenilalanina, tirosina e triptofano, importantes na sua dieta (TAIZ & ZEIGER, 2004). A classe mais abundante dos compostos fenólicos deriva da fenilalanina, por meio da eliminação de uma molécula de amônia para formação do ácido cinâmico, sendo esta reação catalisada pela enzima fenilalanina amônia-liase (FAL). Talvez por isso esta enzima seja a mais estudada no metabolismo secundário das plantas (BODE & MÜLLER, 2003). A regulação da atividade da FAL é muito complexa, uma vez que existem diversos genes que codificam esta enzima, sendo em alguns casos encontrados apenas em tecidos específicos ou apenas sob certas condições ambientais (LOGEMANN et al., 1995).

Estes compostos possuem um ou mais grupos hidroxila ligados a um anel aromático, podendo ter diversos grupos substituintes, como carboxilas, metoxilas, estruturas cíclicas não aromáticas, entre outros. Dentro das diversas classes de compostos fenólicos existentes nos vegetais superiores, encontram-se os compostos não flavonóides como os ácidos gálico, protocatéico, cumárico, caféico e ferúlico. Em outra classe estão os compostos flavonóides, como as flavononas, proantocianinas e antocianidinas (FARAH & DONANGELO, 2006).

Segundo Shetty (2008), há evidências que sugerem que a ingestão de compostos fenólicos via frutas e vegetais está relacionada à redução dos riscos de se ter doenças crônicas, como diabetes, doenças cardiovasculares e câncer. Um estudo feito com as frutas mais consumidas indicou que a maçã é aquela que apresenta o segundo maior valor total de compostos fenólicos e a primeira em termos de compostos fenólicos solúveis. Os compostos fenólicos atuam também como antioxidantes eficazes, através da eliminação de radicais livres pela capacidade que tem em doar os grupamentos hidroxila posicionado ao redor do anel aromático (BIANCHI & ANTUNES, 1999).

São conhecidos alguns efeitos fungicidas de compostos fenólicos. YU & ZHENG (2006); ALMEIDA (2007) e SANZANI et al. (2008), relataram a eficiência dos ácidos salicílico, caféico, ferúlico, cinâmico e giberélico contra fitopatógenos, atuando além do efeito fungicida direto, como indutores de resistência. O ácido salicílico reduziu o crescimento micelial em 64% e a germinação do fungo *Monilinia fructicola* em 60%, a uma concentração de 2 mM (Yao & Tian, 2005). Fato também relatado por Iqbal, (2010), sobre *Penicillium sp.*, o qual observou o efeito fungicida do ácido salicílico com redução de 60% e 100% na germinação de esporos quando utilizado a 2 e 6 mM, respectivamente. Avaliando os efeitos do ácido salicílico sobre a qualidade dos frutos de maçã armazenados sob refrigeração, Kazemi et al, (2011), demonstraram que a imersão dos frutos em AS a 1,5 e 3 mM preservou importantes características como firmeza de polpa, sólidos solúveis totais e ainda proporcionou maior peso e aumento na atividade de peroxidases. Faltam, no entanto, mais estudos sobre os potenciais efeitos e as vias bioquímicas em que os diferentes ácidos fenólicos atuam.

3.3.2. Sais inorgânicos

Os sais minerais são substâncias inorgânicas, incapazes de serem produzidas pelos seres vivos, e encontrados em larga escala na natureza. Os elementos minerais são retirados do ar, da água e do solo e desempenharão funções determinadas dentro da planta (MALAVOLTA, 1967). O cálcio, por exemplo, é um elemento mineral de grande importância, participando como constituinte da lamela média das paredes celulares, como co-fator para algumas enzimas envolvidas na hidrólise de fosfolípidos e como mensageiro secundário na regulação metabólica (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Não apenas às plantas os elementos minerais são necessários. Todos os seres vivos devem ingerir uma quantidade diária adequada de sais minerais, correndo o risco de, ao não fazê-lo, causar um desequilíbrio nos processos biológicos. O cálcio é um elemento mineral fundamental também ao corpo humano, envolvido em importantes e diversos processos metabólicos como a coagulação sanguínea, excitabilidade muscular, transmissão de impulsos nervosos, ativação enzimática, entre outros (CASTILHO et al., 2009).

Por exercerem diversos papéis bioquímicos e apresentarem potencial efeito antifúngico, os sais inorgânicos vêm sendo estudados no campo agrônomo como forma de substituir-se a utilização de fungicidas. Pesquisas como a de Nigro *et al.* (2006), onde se observou que o tratamento de uvas de mesa cv. Itália com bicarbonato de sódio e com cloreto de cálcio, por pulverização, diminuiu a podridão causada por *B. cinerea* em torno de 37% e 50%, respectivamente, servem de estímulo às novas pesquisas com sais. Gabler & Smilanick (2001) confirmaram efeitos semelhantes para *B. cinerea*, aplicando bicarbonato de sódio, a 3%, em uvas Thompson, obtendo reduções de 50% da podridão ocasionada quando pulverizado. Além disto, outros diversos trabalhos têm reconhecido a potencial atividade antimicrobiana dos sais inorgânicos, tais como os observados por BROWN et al., (1996); HERVIEUX et al., (2002); DROBY et al., (2003) e CONWAY et al., (2007).

Somado a todos estes fatores e ainda, pelo baixo custo dos produtos, facilidade de aquisição, ampla aceitação pelos consumidores, com baixo impacto ambiental em concentrações efetivas, estes aparecem como boas alternativas ao controle de podridões.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Obtenção dos isolados

Os fitopatógenos *P. expansum* e *B. cinerea* foram isolados de frutos de maçã infectados e cedidos pela pesquisadora Dra. Rosa Maria Valdebenito Sanhueza e armazenados na coleção do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal de Santa Catarina. Os isolados foram crescidos em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e mantidos a 25°C, sob luz fluorescente.

P. expansum foi repicado periodicamente. As suspensões de esporos (1×10^5 ou 1×10^4 esporos/mL) foram obtidas de culturas com duas semanas de idade, utilizando-se água destilada estéril (testes *in vivo*) ou suco de maçã 4%, filtrado e estéril (testes *in vitro*).

B. cinerea foi repicado periodicamente. As suspensões de esporos (1×10^5 ou 1×10^4 esporos/mL) foram obtidas de culturas com quatro semanas de idade, utilizando-se água destilada estéril.

4.2. Obtenção dos produtos

Os ácidos fenólicos (cinâmico [$C_9H_8O_2$], ferúlico [$C_{10}H_{10}O_4$], gálico [$C_7H_6O_5$], salicílico [$C_7H_6O_3$] e vanílico [$C_8H_8O_4$]) foram adquiridos juntos à empresa Sigma, e utilizados em diferentes concentrações, em diferentes experimentos. Para a dissolução dos ácidos ferúlico e salicílico, utilizou-se etanol a 0,75%. Para a dissolução do ácido cinâmico, utilizou-se acetona a 0,75%. Os demais ácidos foram dissolvidos utilizando-se água destilada.

Os sais inorgânicos (bicarbonato de sódio, carbonato de potássio e cloreto de cálcio) utilizados foram adquiridos junto às empresas Cromato e Vetec, e dissolvidos em água destilada.

4.3. Obtenção dos frutos

Os frutos de maçã (*Malus domestica* Borkh cv. Fuji) foram cedidos pela Cooperativa COOPERSERRA do estado de Santa Catarina, e mantidos em câmara fria a 4°C até sua utilização. Antes dos testes, os frutos passaram por um processo de

desinfestação, sendo imersos em solução com cloro ativo 0,5% por 2 minutos, lavados em água corrente e secos ao ar.

4.4. Esquema geral dos bioensaios para verificar a influência dos produtos sobre a germinação de esporos de *B. cinerea* e *P. expansum*

De modo a se verificar os efeitos de diferentes compostos orgânicos e inorgânicos sobre a germinação de fungos de pós-colheita, realizou-se uma série de testes *in vitro*. Estes foram feitos utilizando-se lâminas escavadas, adicionando-se 20 µL de suspensão de esporos de *Penicillium expansum* ou *Botrytis cinerea* (1×10^5 esporos/mL), a 25 µL de um tratamento presente em cada cavidade da lâmina. Após a preparação das lâminas, estas foram dispostas no interior de placas de Petri e incubadas durante um período de 24 horas, com fotoperíodo de 12 horas de luz a uma temperatura de $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ sob alta umidade relativa. Foram feitas ao menos 4 repetições por tratamento nos diferentes experimentos. Em cada repetição, representada por uma cavidade da lâmina escavada, foram avaliados 100 esporos quanto à percentagem de germinação, e 20 esporos quanto ao comprimento do tubo germinativo, com auxílio de microscópio óptico e ocular micrométrica.

4.4.1. Efeito de ácidos fenólicos sobre a germinação dos fungos

Foram realizados quatro bioensaios *in vitro* utilizando-se ácidos fenólicos. No primeiro, foram testados os ácidos cinâmico, ferúlico, gálico, salicílico e vanílico nas concentrações de 1 mM e 5 mM sobre a germinação do fungo *Penicillium expansum*. Como testemunha, utilizou-se água destilada e etanol 0,5%. Em um segundo, experimento foram avaliados os mesmos ácidos, nas mesmas concentrações, sobre a germinação de *B. cinerea*. Posteriormente, avaliou-se o efeito dos ácidos cinâmico e salicílico, a uma concentração de 5 mM, contra os fungos *B. cinerea* e *P. expansum*, comparando-os com o efeito do etanol (0,75%) e da acetona (0,75%). Por fim, avaliou-se o efeito dos ácidos fenólicos a 2,5 mM sobre *P. expansum*.

4.4.2. Efeito de sais inorgânicos sobre a germinação dos fungos

Realizaram-se três bioensaios *in vitro* utilizando-se sais minerais. No primeiro foram testados bicarbonato de sódio, carbonato de potássio e cloreto de cálcio nas concentrações de 0,75%, 1,5% e 3% sobre a germinação do fungo *Penicillium expansum*, utilizando-se água destilada como testemunha.

Em um segundo experimento, avaliaram-se os mesmos sais, nas mesmas concentrações, sobre a germinação do fungo *Botrytis cinerea*.

Em um terceiro momento, para se confirmar os resultados encontrados, foram testados os mesmos sais, nas mesmas concentrações, contra ambos os fungos *B. cinerea* e *P. expansum*.

4.5. Esquema geral dos ensaios para verificar o efeito protetor, curativo e erradicante dos produtos naturais contra a podridão de *P. expansum*

Após a desinfestação dos frutos, estes foram distribuídos em bandejas plásticas com dimensões (mm) de 400x270x133, colocando-se quatro frutos por bandeja. Com auxílio de uma agulha padronizada, apresentando 5 mm de comprimento e 1 mm de diâmetro, foram feitos dois ferimentos na região equatorial de cada fruto. Foram realizadas 4 repetições para cada tratamento, e a parcela experimental foi constituída por uma bandeja contendo 4 frutos.

Nos ensaios de proteção, os frutos foram inicialmente tratados através da imersão em solução contendo um tratamento por 3 minutos. Posteriormente, após a secagem, realizou-se a inoculação dos frutos através da imersão dos frutos em suspensão de esporos (1×10^5 esporos/mL) de *P. expansum* por 2 minutos. As bandejas contendo os frutos tratados e inoculados foram incubadas a $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ durante todo o período experimental, sendo mantidas em escuro.

Os ensaios curativos foram feitos com os frutos primeiramente sendo inoculados e depois recebendo os tratamentos. A inoculação foi através da imersão dos frutos em suspensão de esporos (1×10^5 esporos/mL) de *P. expansum*. Após a secagem, os frutos foram tratados por imersão, fechando-se as bandejas e incubando-as a $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ durante todo o período experimental, sob condições de escuro.

Nos ensaios de erradicação, os frutos foram imersos em misturas de um determinado tratamento com a suspensão de esporos (1×10^4 esporos/mL) de *P.*

expansum por 2 minutos. As bandejas contendo os frutos tratados e inoculados foram incubadas nos moldes dos ensaios protetores ou curativos.

Para avaliar a severidade da podridão, mediu-se o diâmetro horizontal e vertical das lesões dos frutos, utilizando-se uma régua com precisão de milímetros. As medidas foram tomadas a cada 4 dias, iniciando-se a avaliação quando os frutos apresentaram os primeiros sintomas da doença (3º dia após a inoculação). A partir do valor médio do diâmetro das lesões ao longo do tempo, em cada bandeja, construiu-se a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) para cada repetição, conforme Shaner & Finney apud De Capdeville (2002): $AACPD = \sum [(y_i + y_{i+1})/2 \times (t_{i+1} - t_i)]$, onde y_i representa o diâmetro médio da lesão no tempo t_i , em dias, e y_{i+1} é o diâmetro da lesão no tempo t_{i+1} .

4.5.1. Efeito protetor, curativo e erradicante dos ácidos fenólicos contra a podridão causada por *P. expansum*

Foram realizados três bioensaios *in vivo* para se testar o efeito dos ácidos fenólicos contra *P. expansum*. Em um primeiro momento, testaram-se os ácidos fenólicos cinâmico, ferúlico, gálico, salicílico e vanílico na concentração de 10 mM contra o fungo *P. expansum*, de modo preventivo. Utilizou-se água destilada como testemunha e a imersão como forma de tratamento e inoculação. Para se avaliar o efeito erradicante, os mesmos ácidos fenólicos foram testados na concentração de 2,5 mM, contra o fungo *P. expansum*, valendo-se da metodologia da mistura entre tratamento e suspensão de esporos para a aplicação. Por fim, para se avaliar o efeito curativo, testou-se estes ácidos fenólicos a uma concentração de 5 mM contra o fungo *Penicillium expansum*. Utilizou-se água destilada como testemunha, sendo os frutos inoculados e tratados através da imersão dos frutos.

4.5.2. Efeito protetor, curativo e erradicante dos sais inorgânicos contra a podridão causada por *P. expansum*

Foram realizados três bioensaios *in vivo* para se testar os diferentes efeitos dos sais inorgânicos contra *P. expansum*. Em um primeiro momento foram testados os sais inorgânicos bicarbonato de sódio, carbonato de potássio e cloreto de cálcio nas concentrações 0,75%, 1,5% e 3% contra o fungo *Penicillium expansum*, preventivamente. Utilizou-se água destilada como testemunha e a imersão como forma de tratamento e inoculação. Para avaliar o efeito erradicante, posteriormente, soluções dos sais nas concentrações de 1,5% e 3% foram misturadas com a suspensão de esporos de *P. expansum* (1×10^4 esporos/mL). Finalmente, para se avaliar o efeito curativo, utilizaram-se os mesmos sais inorgânicos nas concentrações de 0,75%, 1,5% e 3%, contra o fungo *Penicillium expansum*. Valeu-se de água destilada como testemunha e da forma de imersão para a inoculação e o tratamento dos frutos.

4.6. Análise estatística

Com auxílio do software Statística 6.0, os dados foram submetidos ao teste de Levene para verificar a homogeneidade das variâncias dos tratamentos. Em caso positivo, realizou-se a análise de variância e o respectivo F-teste (5%).

Na avaliação dos testes qualitativos, quando o F-teste foi significativo, fez-se o teste de separação de médias de Tukey ao nível 5% de significância.

Para verificação do efeito de doses dos sais inorgânicos, aplicou-se a análise de regressão linear pelo software Sisvar 5.0 (DEX/UFLA), observando o modelo que melhor se ajustava aos resultados, com base nos valores do teste-t ao nível de significância de 5%.

Os gráficos foram construídos com o auxílio do software Microsoft® Excel 2007.

5. RESULTADOS

5.1. Efeito de ácidos fenólicos sobre a germinação dos fungos *Botrytis cinerea* e *Penicillium expansum*

Utilizando-se os ácido fenólicos a 1 mM, o ácido cinâmico e o ácido salicílico reduziram significativamente a germinação de esporos de *P. expansum*, e provocaram um retardamento na elongação do tubo germinativo dos poucos esporos germinados (Figura 3). Os demais ácidos utilizados apresentaram efeitos fungicidas, diminuindo a germinação dos fungos mesmo que de forma menos significativa e retardando consideravelmente o crescimento do tubo germinativo (Figura 3).

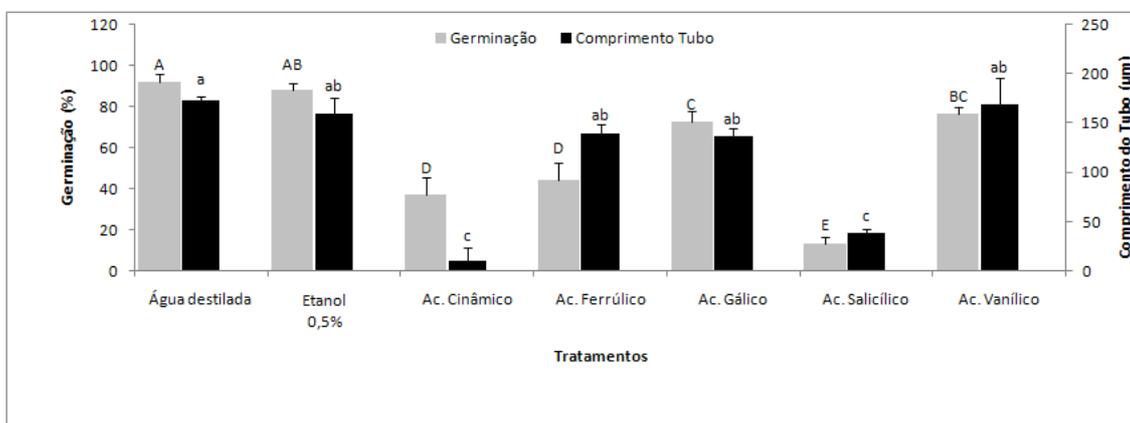


Figura 3. Porcentagem de germinação e comprimento do tubo germinativo do fungo *P. expansum* na presença de compostos fenólicos a 1 mM. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. CV germinação (%): 9,4; CV comprimento tubo (%): 16,0.

Quando utilizados a 2,5 mM, foi observado o mesmo padrão de inibição para todos os ácidos fenólicos utilizados, o quais retardaram, em alguns casos, o crescimento do tubo germinativo, sendo que o ácido cinâmico e o ácido salicílico inibiram completamente a germinação de *P. expansum* (Figura 4).

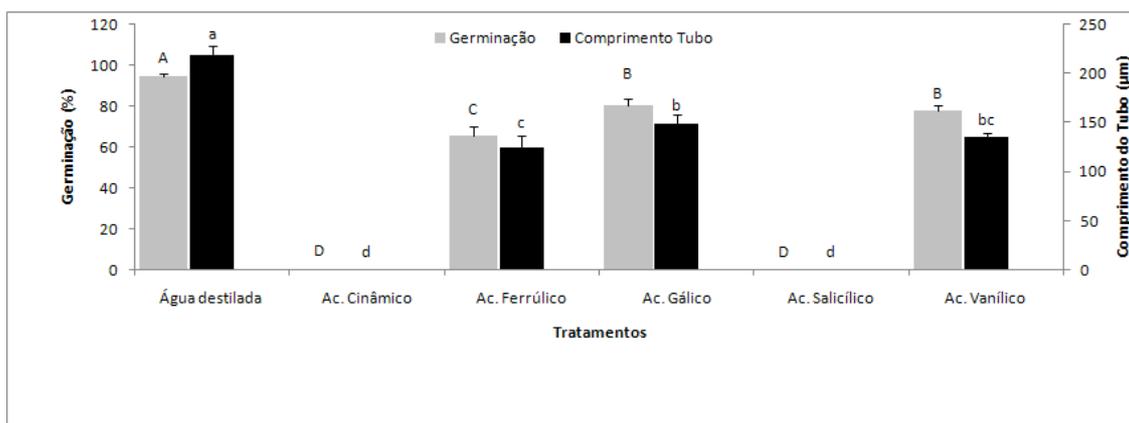


Figura 4. Porcentagem de germinação e comprimento do tubo germinativo do fungo *P. expansum* na presença de compostos fenólicos a 2,5 mM. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. CV germinação (%): 6,2; CV comprimento tubo (%): 8,4.

Novamente os compostos fenólicos que apresentaram melhores resultados, quando testados na concentração de 5 mM, foram os ácidos cinâmico e salicílico, inibindo completamente a germinação dos esporos do fungo *Penicillium expansum*. Em relação aos demais ácidos utilizados, o ácido vanílico e o ácido ferúlico apresentaram resultados satisfatórios, inibindo a germinação em torno de 20% e 40%, respectivamente (Figura 5).

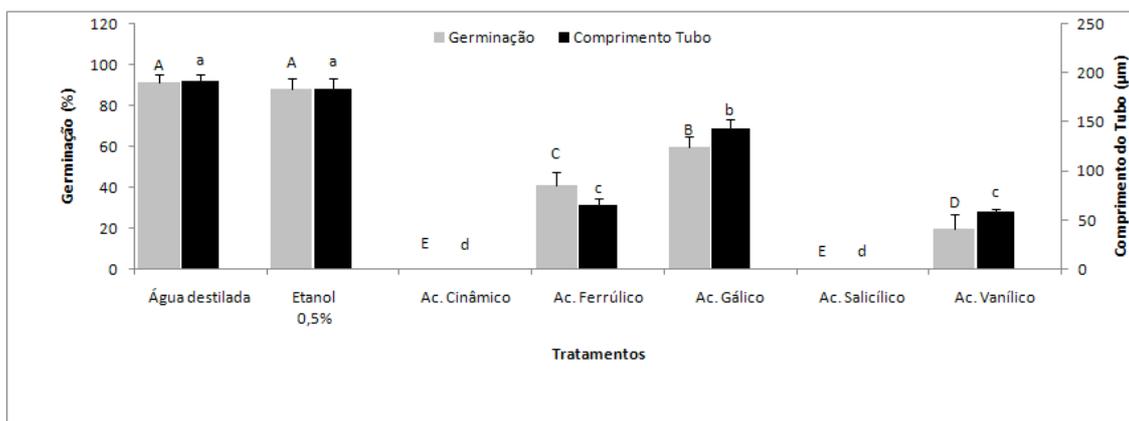


Figura 5. Porcentagem de germinação e comprimento do tubo germinativo do fungo *P. expansum* na presença de compostos fenólicos a 5 mM. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. CV germinação (%): 11,5; CV comprimento tubo (%): 11,3.

Do mesmo modo que ocorreu para *P. expansum*, os compostos fenólicos que mais inibiram a germinação do fungo *B. cinerea* foram os ácidos cinâmico, ferúlico e salicílico a 5 mM, proporcionando reduções superiores a 90% (Figura 6). O ácido

vanílico não teve efeito significativo sobre a germinação, mas reduziu consideravelmente o comprimento do tubo germinativo do fungo, quando utilizado na maior concentração (Figura 6).

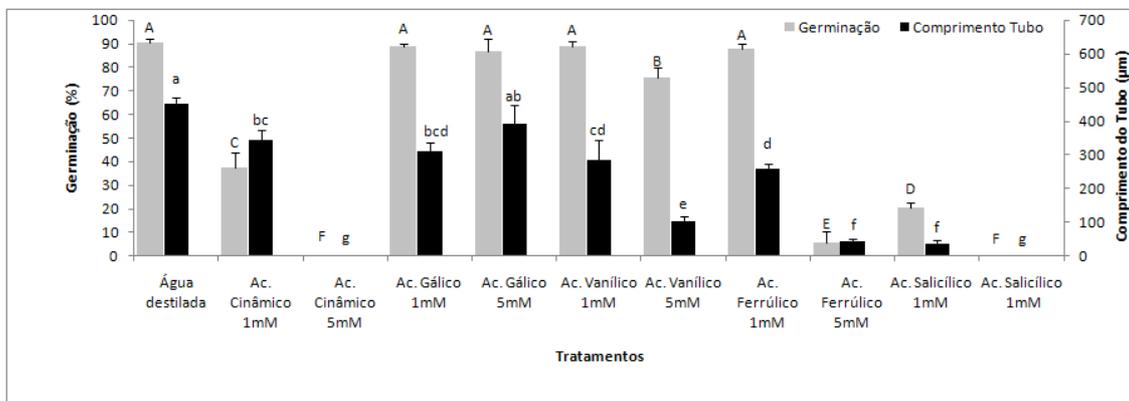


Figura 6. Porcentagem de germinação e comprimento do tubo germinativo do fungo *B. cinerea* na presença de compostos fenólicos a 1 e 5 mM. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. CV germinação: 7,0; CV(%) comprimento: 7,9.

Por fim, constatou-se, de maneira geral, que o efeito dos solventes orgânicos, etanol e acetona quando utilizados a 0,75%, sobre os fungos *B. cinerea* e *P. expansum*, foi muito pequeno quando comparado com o efeito dos ácidos cinâmico e salicílico tanto na germinação desses fungos (Figura 7) como no comprimento dos tubos germinativos (Figura 8).

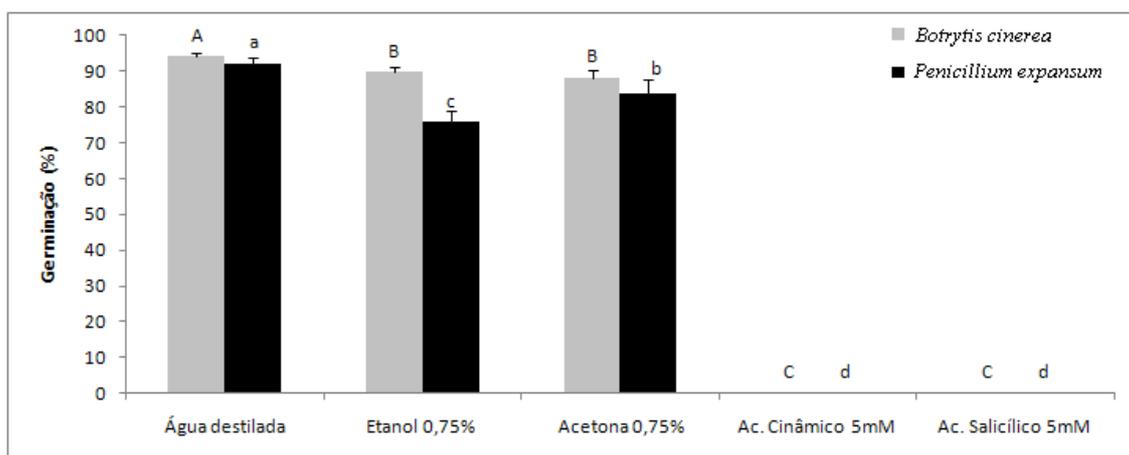


Figura 7. Porcentagem de germinação dos fungos *B. cinerea* e *P. expansum* na presença de compostos fenólicos e solventes orgânicos. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. CV (%) germinação *B. cinerea*: 2,9; CV(%) germinação *P. expansum*: 5,9.

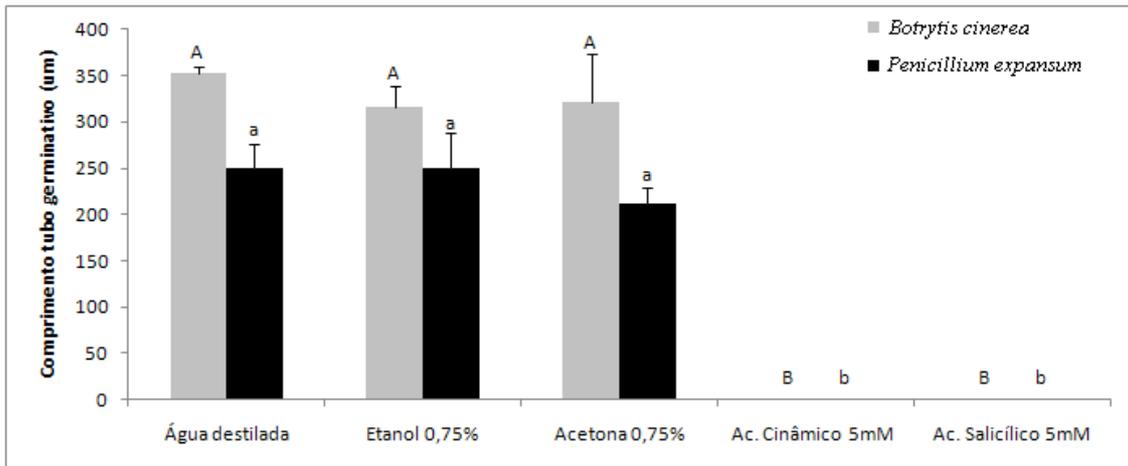


Figura 8. Comprimento do tubo germinativo dos fungos *B. cinerea* e *P. expansum* na presença de compostos fenólicos e solventes orgânicos. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. CV (%) germinação *B. cinerea*: 16,8; CV(%) germinação *P. expansum*: 20,0

5.2. Efeito de sais inorgânicos sobre a germinação dos fungos *Botrytis cinerea* e *Penicillium expansum*

No primeiro experimento realizado com sais inorgânicos, foram testados os sais bicarbonato de sódio, carbonato de potássio e cloreto de cálcio, a 0,75%, 1,5% e 3% sobre a germinação de *Penicillium expansum*. Os tratamentos com bicarbonato de sódio foram aqueles que apresentaram maiores efeitos inibitórios, chegando a reduzir em quase 100% a germinação quando aplicado em doses elevadas. Em relação ao carbonato de potássio, pode-se observar que, a exemplo do bicarbonato de sódio, quanto maior a dose aplicada maior sua atuação sobre o fungo, diferindo do cloreto de cálcio que pouco afetou a germinação do fungo (Figura 9).

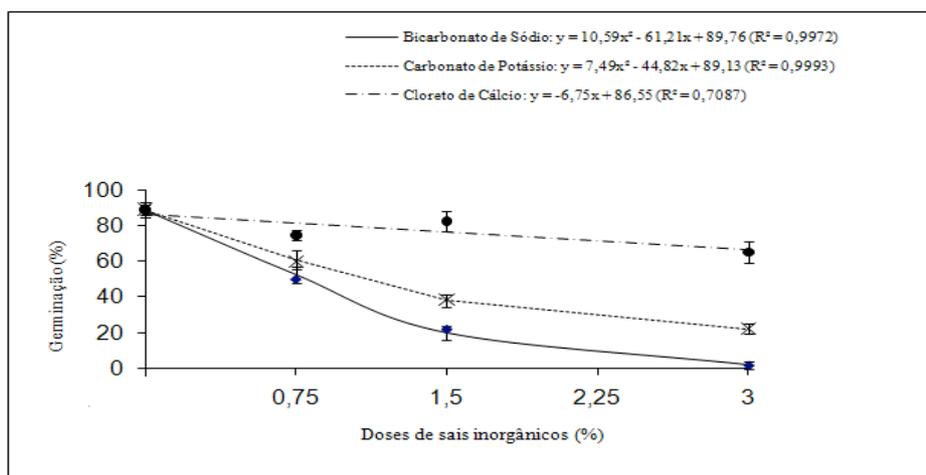


Figura 9. Porcentagem de germinação de esporos de *P. expansum* na presença de diferentes doses de sais inorgânicos. Houve efeito de doses e de tratamento pelo F-teste, ao nível de significância 5%. R^2 significativo, pelo teste-t, ao nível de 5% de significância. CV(%): 8,20.

Repetindo-se esse experimento, foram encontradas as mesmas tendências gerais para todos os sais, ou seja, o bicarbonato de sódio quando aplicado em altas concentrações reduziu em quase 100% a germinação de *P. expansum*. O mesmo ocorreu para o sal carbonato de potássio, diferindo da aplicação de cloreto de cálcio, onde a redução de germinação do fungo não foi muito expressiva (Figura 10A).

Houve ainda, mediante aplicação dos sais bicarbonato de sódio e carbonato de potássio, uma diminuição no comprimento do tubo germinativo dos esporos remanescentes. Com aplicação do cloreto de cálcio, há um retardamento no crescimento do tubo germinativo de forma menos expressiva, sendo que a concentração 0,75%, dentre as concentrações utilizadas, foi a que mais reduziu o comprimento do tubo germinativo (Figura 10B).

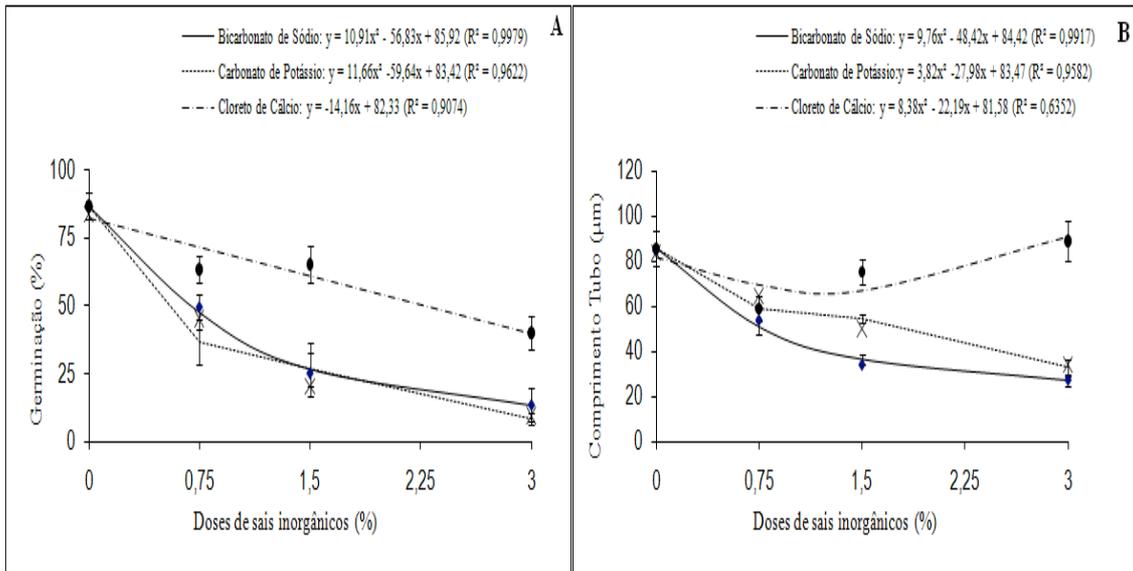


Figura 10. Porcentagem de germinação de esporos (A) e comprimento do tubo germinativo (B) de *P. expansum* na presença de diferentes doses de sais inorgânicos. Houve efeito de doses e de tratamento pelo F-teste, ao nível de significância 5%. R^2 significativo, pelo teste-t, ao nível de 5% de significância. CV germinação: 15,5; CV(%) comprimento: 9,0.

Notou-se que, de modo similar ao encontrado para *P. expansum*, os sais minerais também exerceram efeitos fungicidas sobre o fungo *B. cinerea*, principalmente o bicarbonato de sódio a 3% e o carbonato de potássio a 1,5% e 3%. O cloreto de cálcio, no entanto, não apresentou resultados estatisticamente relevantes (Figura 11A).

Os tratamentos que mais inibiram a germinação do fungo foram aqueles que menos restringiram o desenvolvimento do tubo germinativo, principalmente quando aplicados em baixas concentrações. Nota-se que, mesmo não possuindo um efeito sobre a germinação, o cloreto de cálcio diminuiu o desenvolvimento do tubo germinativo de *B. cinerea* em relação à testemunha (Figura 11B).

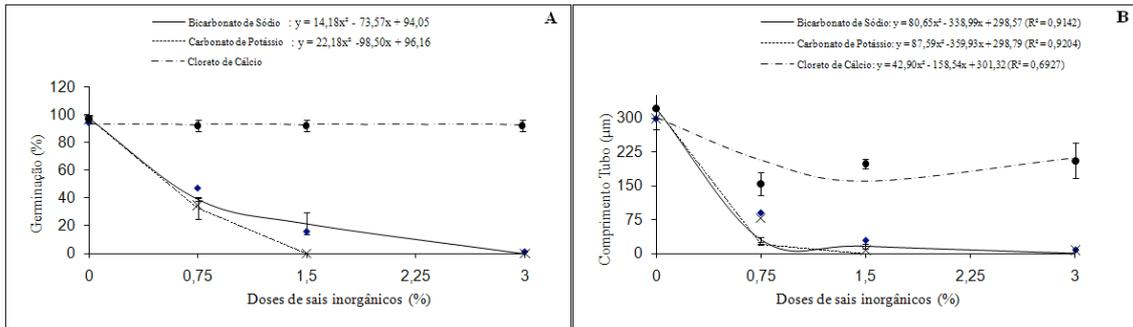


Figura 11. Porcentagem de germinação de esporos (A) e comprimento do tubo germinativo (B) de *B. cinerea* na presença de diferentes doses de sais inorgânicos. Houve efeito de doses e de tratamento pelo F-teste, ao nível de significância 5%, exceto para o cloreto de cálcio sobre a germinação. R^2 significativo, pelo teste-t, ao nível de 5% de significância. CV germinação: 9,8; CV(%) comprimento: 12,0.

Repetindo-se o experimento, encontraram-se as mesmas tendências gerais de inibição da germinação de esporos do fungo *B. cinerea*, ou seja, aumentando-se as concentrações de bicarbonato de sódio e carbonato de potássio, houve uma inibição da germinação em quase 100% (Figura 12A). Novamente, o cloreto de cálcio foi o sal que pouco reduziu a germinação do fungo (Figura 12A).

O mesmo se observou em relação ao desenvolvimento do tubo germinativo do fungo, ou seja, quanto maior a dose aplicada dos sais bicarbonato de sódio e carbonato de potássio, menor o comprimento do tubo germinativo (Figura 12B).

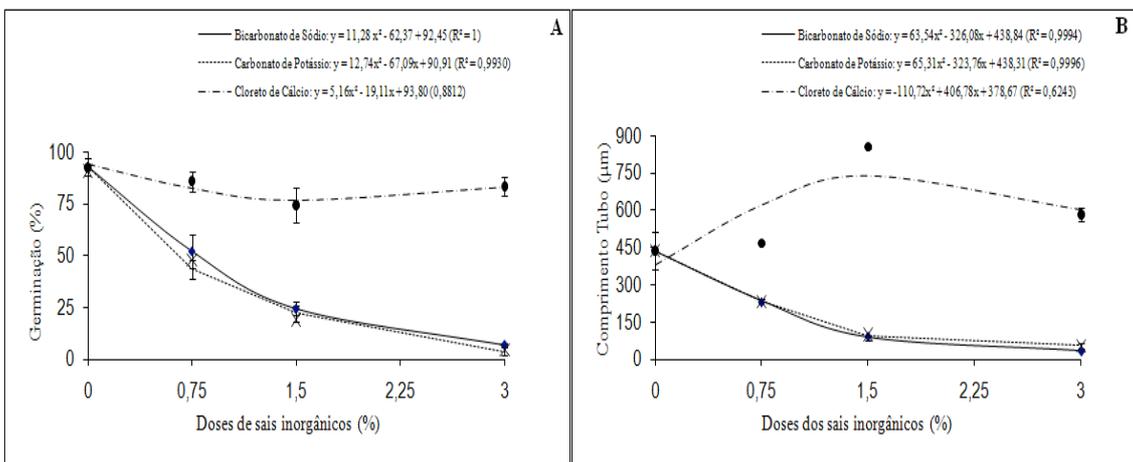


Figura 12. Porcentagem de germinação de esporos (A) e comprimento do tubo germinativo (B) de *B. cinerea* na presença de diferentes doses de sais inorgânicos. Houve efeito de doses e de tratamento pelo F-teste, ao nível de significância 5%. R^2 significativo, pelo teste-t, ao nível de 5% de significância. CV germinação: 10,2; CV(%) comprimento: 4,9.

5.3. Efeito protetor, curativo e erradicante de ácidos fenólicos sobre a podridão causada pelo fungo *Penicillium expansum*

Em um primeiro momento, testou-se a eficiência dos ácidos cinâmico, ferúlico, gálico, salicílico e vanílico a 10 mM contra o fungo *P. expansum*, sendo observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos aplicados e a testemunha. Pode-se observar, que os ácidos cinâmico, gálico e salicílico aumentaram significativamente a severidade da podridão. Este fato pode estar relacionado à alta dose utilizada destes ácidos, deixando os frutos mais suscetíveis ao ataque do patógeno (Figura 13).

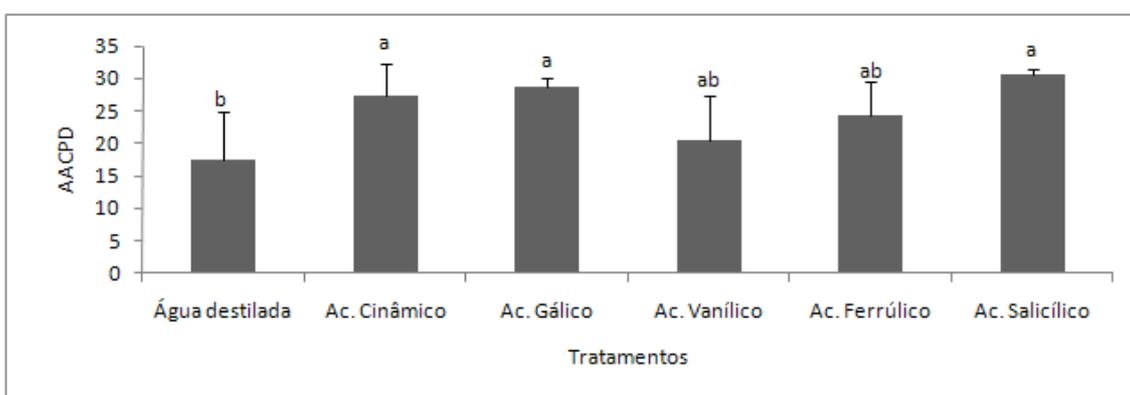


Figura 13. Severidade da podridão de *P. expansum* (1×10^5 esporos/mL) em frutos de maçã tratados com ácidos fenólicos, a 10 mM, de forma preventiva. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. CV(%): 18,3.

Também não se observou controle frente ao desenvolvimento do fungo quando os frutos foram tratados curativamente com os ácidos fenólicos a 5 mM, por imersão (Figura 14). No entanto, pode-se observar que, mesmo não havendo controle, os mesmos não aumentaram significativamente a severidade da podridão (Figura 14).

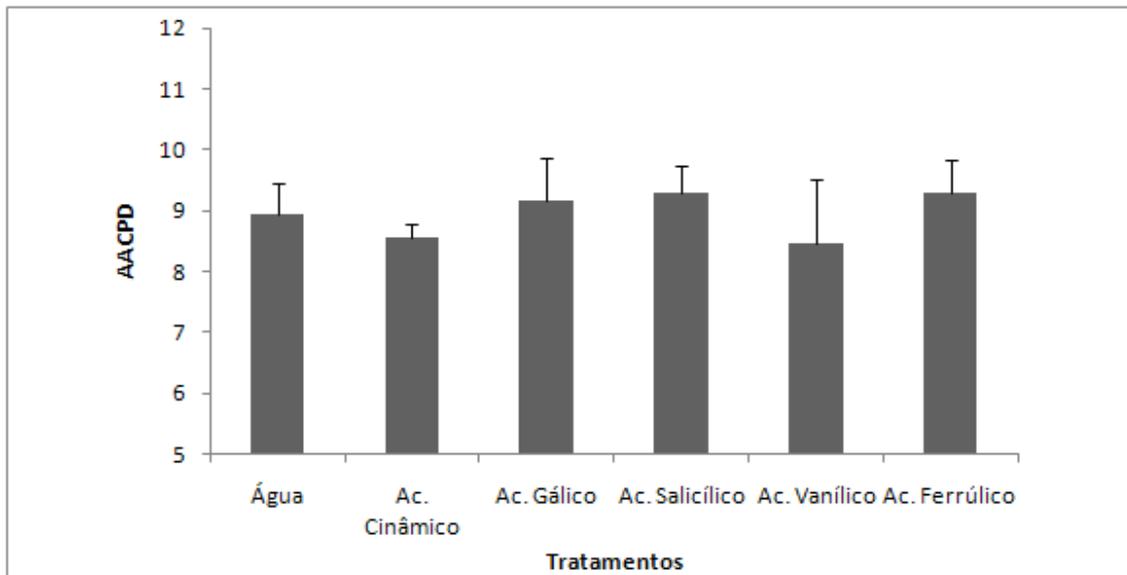


Figura 14. Severidade da podridão de *P. expansum* (1×10^5 esporos/mL) em frutos de maçã tratados com ácidos fenólicos, a 5 mM, de forma curativa. Teste F não significativo a 5%. CV (%): 7,1.

Finalmente, quando se testou o efeito erradicante dos ácidos fenólicos a uma concentração de 2,5 mM, houve redução significativa da incidência e da severidade da podridão de *P. expansum* em frutos tratados com ácido salicílico. Os demais ácidos não apresentaram efeito erradicante (Figura 15).

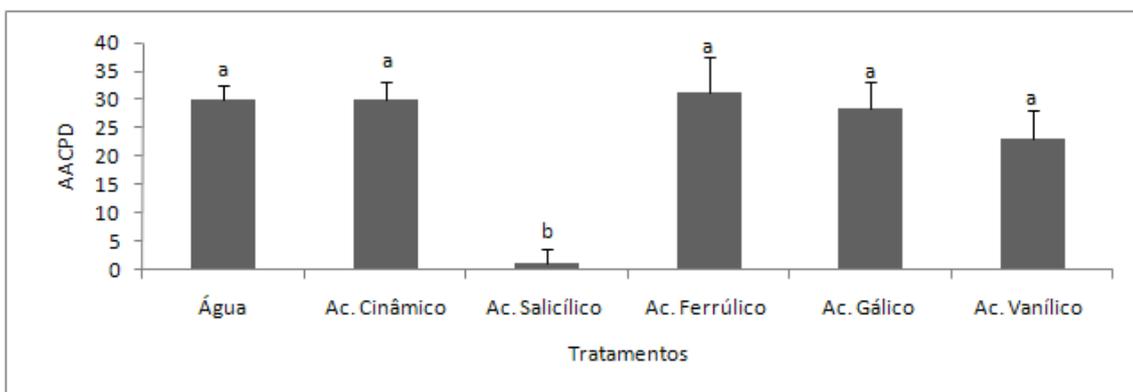


Figura 15. Severidade da podridão de *P. expansum* (1×10^5 esporos/mL) em frutos de maçã tratados com ácidos fenólicos, a 2,5 mM, de forma erradicante. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%. CV(%): 18,0.

5.4. Efeito protetor, curativo e erradicante de sais inorgânicos sobre o controle da podridão causada pelo fungo *Penicillium expansum*

Em um primeiro momento, testaram-se os sais bicarbonato de sódio, carbonato de potássio e cloreto de cálcio, nas concentrações de 0,75%, 1,5% e 3%, contra o fungo *P. expansum*, preventivamente. Neste caso, a severidade da podridão em frutos tratados com bicarbonato de sódio ou cloreto de cálcio não diferiu significativamente da severidade da testemunha. No entanto, houve efeito significativo de doses para o carbonato de potássio: a 0,75% e 1,5%, o sal reduziu a doença, mas a 3% houve o aumento da severidade da podridão (Figura 16).

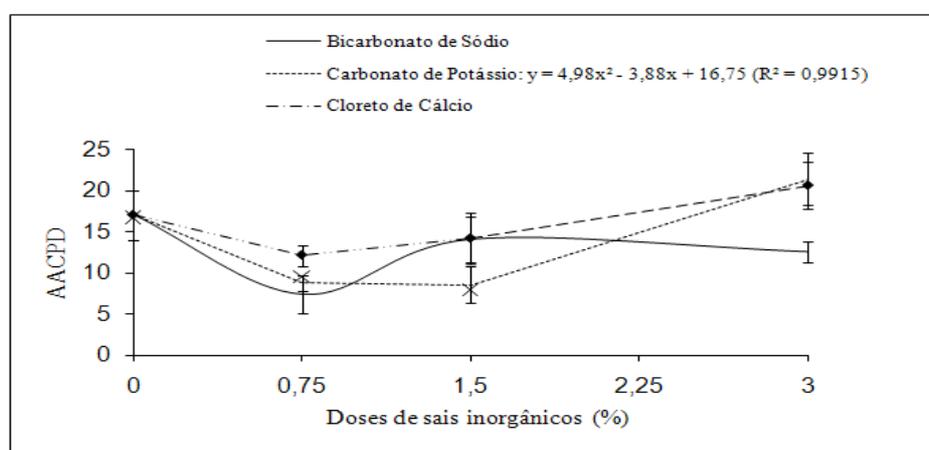


Figura 16. Severidade da podridão de *P. expansum* (1×10^5 esporos/mL) em frutos de maçã tratados com sais inorgânicos de forma preventiva. Houve efeito de doses apenas para o carbonato de potássio pelo F-teste, ao nível de significância 5%. R^2 significativo, pelo teste-t, ao nível de 5% de significância. CV (%): 17,76.

Quando os sais foram misturados ao inóculo de *P. expansum* para o tratamento dos frutos, observou-se que o cloreto de cálcio a 1,5% reduziu em cerca de 25% a severidade da doença causada pelo fungo *P. expansum*, não diferindo, entretanto, estatisticamente da testemunha (Figura 17).

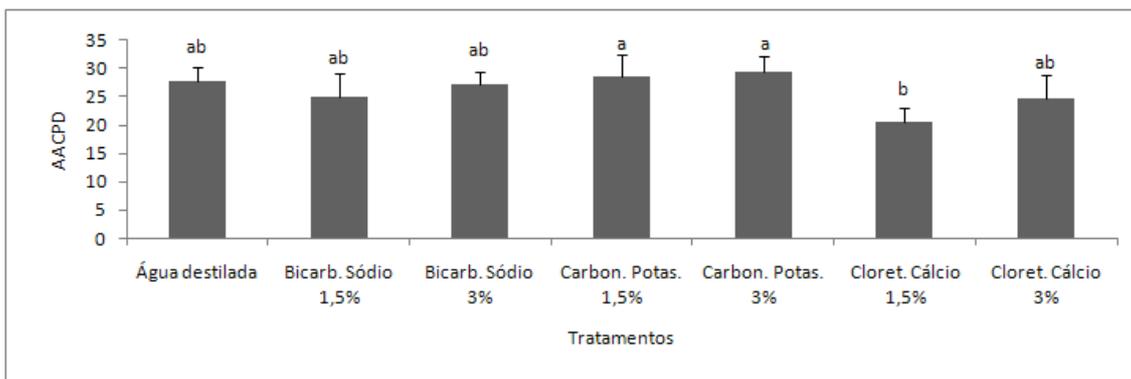


Figura 17. Severidade da podridão de *P. expansum* (1×10^5 esporos/mL) em frutos de maçã tratados com sais inorgânicos de forma erradicante. Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de separação de médias de Tukey 5%. CV (%): 12,5.

Por fim, testou-se o efeito curativo dos sais bicarbonato de sódio, carbonato de potássio e cloreto de cálcio sobre a podridão de *P. expansum*. Não se encontrou, no entanto, diferenças estatísticas entre os tratamentos empregados e a testemunha utilizada (Figura 18).

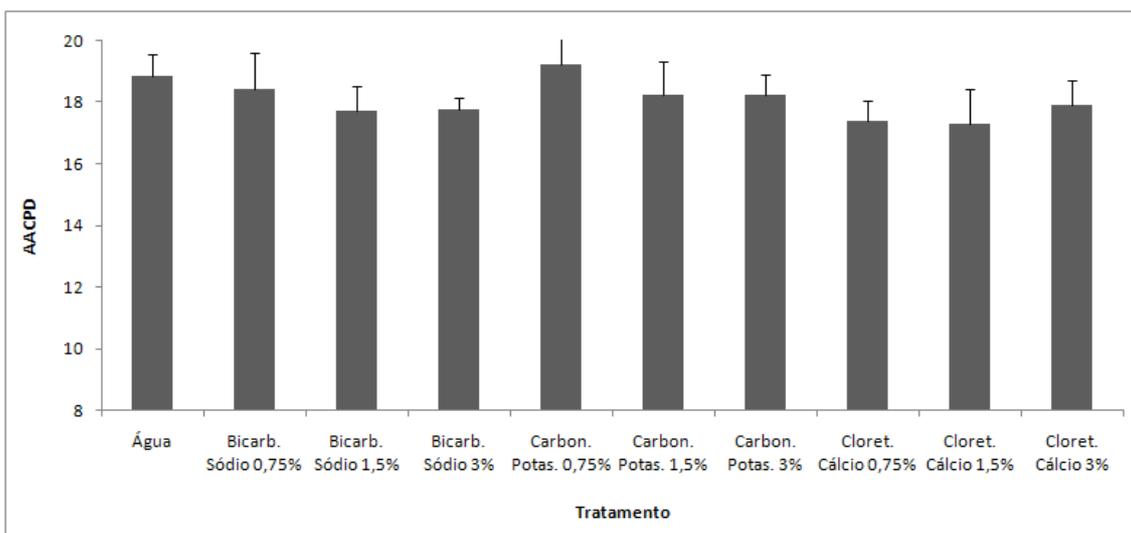


Figura 18. Severidade da podridão de *P. expansum* (1×10^5 esporos/mL) em frutos de maçã tratados com sais inorgânicos de forma curativa. Teste F não significativo a 5%. CV (%): 4,8.

6. DISCUSSÃO

As plantas produzem uma grande quantidade de compostos secundários, sendo encontrado em vários deles o grupamento fenol, caracterizando os compostos fenólicos. Extratos obtidos de plantas, contendo estas substâncias, têm demonstrado eficiência no controle de fitopatógenos. Estes compostos possuem tanto ação direta sobre microorganismos, inibindo o crescimento e desenvolvimento dos mesmos, como indireta, ativando mecanismos de defesa vegetal (SCHWAN-ESTRADA, 2002).

No presente trabalho, os ácidos fenólicos cinâmico, ferúlico, salicílico e vanílico reduziram significativamente a germinação dos fungos *B. cinerea* e *P. expansum* quando realizados ensaios *in vitro*. O ácido salicílico foi o que apresentou o maior efeito antifúngico, inibindo a germinação de esporos de *P. expansum* em cerca de 100% quando utilizado a partir da concentração de 1 mM. Da mesma forma, o ácido salicílico inibiu a germinação de *B. cinerea*, em torno de 80% a 1 mM e 100% a 5 mM.

Por outro lado, quando utilizados de forma preventiva, visando à proteção dos frutos de maçã, através da indução de resistência ou mesmo do efeito fungicida direto, os frutos tratados com os ácidos cinâmico, gálico e salicílico apresentaram maior severidade do bolor azul, diferindo significativamente da testemunha, o que indica um maior desenvolvimento do fungo *P. expansum* naqueles ferimentos. Isso pode estar relacionado ao fato da alta dose empregada nesse teste (10 mM), uma vez que, mesmo sabendo-se que os ácidos fenólicos atuam na inibição de certos processos oxidativos, isso não significa que eles sempre protegerão as células e os tecidos de todo os tipos de danos oxidativos, podendo atuar, em certas condições, como agentes pró-oxidativos, degenerando as células mais rapidamente (DECKER, 1997).

Dessa forma, nos testes subseqüentes com frutos, os ácidos fenólicos foram utilizados em concentrações menores para se evitar qualquer tipo de fitotoxidez. A 2,5 mM, o ácido salicílico apresentou forte efeito erradicante sobre *Penicillium expansum*, confirmando, de certo modo, os resultados encontrados nos ensaios *in vitro*. Frutos de maçã tratados com uma mistura de ácido salicílico e esporos de *P. expansum* apresentaram redução da severidade da podridão em mais de 90%, não havendo sintomas de fitotoxidez.

Os demais ácidos fenólicos não apresentaram efeito erradicante, incluindo-se o ácido cinâmico, o qual, a exemplo do ácido salicílico, apresentou elevada atividade antifúngica *in vitro* a 2,5 mM. Com isso, a ação direta sobre o fitopatógeno pode não ser

o único mecanismo de ação do ácido salicílico contra a podridão de *P. expansum* nos testes erradicantes.

Kazemi et al. (2011) mostraram que a aplicação de ácido salicílico aumentou significativamente a produção de enzimas superóxido dismutase e peroxidases em frutos de maçã, diminuindo a oxidação do ácido ascórbico, responsável por capturar e neutralizar espécies reativas de oxigênio, mantendo características físicas do fruto como firmeza de polpa e menor perda de peso. Esses tipos de ação poderiam auxiliar na redução de podridões promovida pelo ácido salicílico, a exemplo do ocorrido com o bolor azul.

Yu & Zheng (2006), trabalhando com o ácido salicílico e leveduras contra o fungo *P. expansum*, mostraram que o ácido salicílico possui efeito fungicida *in vitro* quando aplicado em uma concentração maior que 100 ppm (aproximadamente 0,6 mM). No entanto, quando aplicado preventivamente nos frutos de maçã, o mesmo efeito não foi observado, o que está em concordância com os resultados encontrados no presente trabalho. Por outro lado, constatou-se que o ácido salicílico, quando combinado com a levedura *Cryptococcus laurentii*, aumentou a atividade de enzimas de defesa dos frutos, tal como peroxidases, fenilalanina amônia-liase e lipoxigenases, indicando que o ácido salicílico contribuiu significativamente para aumentar o controle exercido por *C. laurentii* (YU & ZHENG, 2006). Os autores acreditam que, quando *C. laurentii* é misturado a uma concentração adequada de ácido salicílico (1 mM), há uma rápida e forte indução destas reações defensivas, sendo que *C. laurentii* agiria como um patógeno em contato com o fruto e o ácido salicílico como um catalisador.

MO et al. (2008), tratando frutos do conde com ácido salicílico a 0,8 mM, observaram diminuição nas taxas de respiração dos frutos, bem como a produção de etileno, agindo como um antioxidante, podendo, desta forma, retardar o amadurecimento do fruto de maçã (climatérico), aumentando seu tempo de prateleira, além de sustentar a firmeza dos tecidos epidérmicos e de polpa por mais tempo, evitando a deterioração e entrada de patógenos. Outros trabalhos relatam que o tratamento com ácido salicílico, a partir da aspersão, pode reduzir o apodrecimento de frutos de banana, nectarina, peras, kiwi e maçã (BAXBER et al., 2001; YAN & SHEN, 1998 apud MO et al., 2008; REGLINSKI et al., 1997), além de diminuir as injúrias causadas pelo frio em tomate e pepino armazenados sob baixa temperatura (HAN et al., 2002 apud MO et al., 2008).

Estes resultados podem estar relacionados ao fato de que o ácido salicílico, por ser um composto fenólico presente na maioria das plantas, apresentando ação reguladora de crescimento, atividade antioxidante, participando do fechamento estomático e da permeabilidade das membranas, poderia atuar, de algum modo, também na indução de resistência (ARFAN, 2009). Atuando como indutor de resistência contra doenças foliares, o ácido salicílico em sua forma ativa, é responsável na via de acionamento de genes que codificam para um aumento no número de proteínas relacionadas à patogênese. Em sua forma conjugada (glicosídeo do ácido salicílico), no entanto, ele é inativo, constituindo-se em fonte de reserva para suprir futuras demandas nos mecanismos de resistência contra novas infecções que possam surgir (Klessing, 1994 apud Vieira & Valle, 2006). Isso ficou comprovado em um experimento feito por Vieira & Valle (2006) que, ao aplicar um produto à base de ácido salicílico em mudas de cacau suscetíveis à vassoura de bruxa (*Moniliophthora perniciosa*) 30 dias antes da inoculação, encontraram redução de 50% na intensidade da doença. Este fato também foi comprovado em plantas de feijão que, mediante aspersão de ácido salicílico 0,01 M nas plântulas (estádio V2), exibiram maior atividade da beta- 1,3 glucanases e quitinases, o que resultou em menor severidade da doença causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (CAMPOS *et al.*, 2009).

Sanzani *et al.* (2008) pesquisaram o efeito de sete compostos fenólicos, entre eles o ácido ferúlico, a 5 mM, sobre o fungo *P. expansum* e sobre a podridão de frutos por ele ocasionada. Observaram que a maioria dos tratamentos empregados não teve efeito sobre a germinação do fungo, sendo que apenas a quercetina apresentou uma redução significativa na germinação do fungo. No entanto, mesmo não reduzindo a germinação do fungo *in vitro* e a incidência e severidade da podridão *in vivo*, o ácido ferúlico reduziu o acúmulo de patulina nos frutos de maçã.

Essa lacuna aparente entre o crescimento e acúmulo de patulina pode ser atribuída à influência desses compostos fenólicos na via de biossíntese da toxina ou no metabolismo secundário do fungo, ao invés do primário (SANZANI *et al.*, 2008). Outra explicação pode estar ligada ao fato de que, mesmo as concentrações testadas serem suficientes para a redução dos níveis de patulina, não foram suficientes para a redução do desenvolvimento do patógeno. Mossini *et al.*, (2004) encontraram resultados similares quando testaram o extrato de folhas de neem, que possui uma grande quantidade de compostos fenólicos, especialmente quercetina, contra o fungo *P. expansum*.

Utilizando os ácidos cinâmico, ferúlico, gálico, salicílico e vanílico curativamente, no entanto, não foram observadas diferenças significativas na AACPD dos tratamentos em relação à testemunha, indicando que o tratamento não surtiu efeito quando o processo infeccioso já fora iniciado. Isto pode ser relacionado ao fato que diferentes níveis de controle podem estar ligados aos diferentes mecanismos bioquímicos que influenciam o tecido da maçã à decadência (SPOTTIS et al., 1999).

Por sua vez, os sais minerais também apresentaram efeito antimicrobiano sobre *P. expansum* e *B. cinerea*. O bicarbonato de sódio e o carbonato de potássio, quando utilizados na dose de 3%, inibiram em cerca de 90% a germinação de *P. expansum* e *B. cinerea*, sendo pequeno o efeito demonstrado pelo cloreto de cálcio na germinação de *P. expansum* e nulo na germinação de *B. cinerea*, em bioensaios feitos *in vitro*.

Ao se fazer experimentos *in vivo*, quando os tratamentos foram aplicados de forma curativa e erradicante, não se percebeu diferença estatística entre eles, uma vez que possivelmente não houve tempo suficiente para que o bicarbonato de sódio e o carbonato de potássio atuassem sobre o patógeno, seja pela ação direta ou pela pressão osmótica.

Neste trabalho, quando utilizadas preventivamente, as maiores doses dos sais cloreto de cálcio e carbonato de potássio ocasionaram aumento na severidade da doença. Isto pode estar relacionado a um estresse causado pelas concentrações salinas utilizadas, o que ocorreria por osmose ou pela toxicidade dos íons presentes na solução, gerando espécies reativas ao oxigênio provocando a peroxidação lipídica, a degradação de proteínas e até mutação de DNA (ALSCHER et al., 1997; MITTLER, 2002).

Quando os tratamentos foram feitos de forma preventiva, houve pequenas, porém estatisticamente irrelevantes diferenças no controle da podridão de *P. expansum*, destacando-se a utilização do bicarbonato de sódio e carbonato de potássio a 0,75%. Isso pode estar relacionado ao fato de resquícios salinos estarem presentes nos frutos tratados preventivamente, desempenhando atividade antifúngica, atrasando o processo de infecção. No teste erradicante, esses sais permaneceram pouco tempo em contato com os esporos fúngicos, o que resultou em baixo nível de controle da podridão, apesar da elevada atividade antifúngica dos mesmos.

Já o cloreto de cálcio, apesar de não apresentar atividade direta sobre os fungos, proporcionou uma diminuição na severidade média da podridão de *P. expansum* em frutos de maçã, no teste erradicante, embora não estatisticamente significativa. Houve um decréscimo de 25% na AACPD observada quando se tratou as maçãs com uma

mistura de esporos e cloreto de cálcio a 1,5%. Berton *et al.* (1992) e Brackmann *et al.* (1996) relatam que é marcante o efeito proporcionado pelo cálcio nos tecidos vegetais, aumentando sua resistência ao ataque de patógenos por manter uma maior firmeza, o que poderia explicar esses resultados.

Quando a saturação dos níveis de cálcio é insuficiente, ocorrem mudanças no estado físico das membranas celulares, resultando na perda de íons, diminuindo a firmeza da polpa e, conseqüentemente, aumentando a suscetibilidade ao ataque de patógenos (MONSELISE & GOREN, 1987).

Resultados similares foram observados por Nigro *et al.* (2006), os quais demonstraram que o tratamento de uvas de mesa cv. Itália com cloreto de cálcio, por pulverização, diminuiu a podridão causada por *B. cinerea* em torno de 50%, respectivamente. O cloreto de cálcio foi utilizado também por Brackmann *et al.* (2001) na água de lavagem de frutos de maçã cultivares Fuji e Gala, reduzindo a incidência de podridões nestes frutos de 20 a 50%, dependendo do teor de cloreto de cálcio na solução.

Uma vez que não se realizaram análises bioquímicas para se determinar os mecanismos pelos quais os ácidos fenólicos e sais inorgânicos estão atuando no fruto, assume-se que, por serem em grande parte mais eficientes no controle *in vitro* do que no controle *in vivo*, seus efeitos se dão possivelmente pelo controle direto dos patógenos, podendo também estar relacionados a um potencial aumento dos mecanismos de defesa presentes nos frutos, produzindo proteínas específicas de defesa, compostos antifúngicos ou incrementando os meios físicos, como barreiras ao processo de invasão dos patógenos.

Dentre os produtos testados, o ácido salicílico se mostrou o mais promissor para a utilização no controle do bolor azul em pós-colheita, quando aplicado na água de lavagem dos frutos.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Brasil, por ser um país de dimensões continentais e por possuir um clima adequado ao cultivo de uma grande quantidade de frutas, verduras e grãos, sendo considerado por isto, como o celeiro do mundo, vê-se na obrigação de contribuir para o desenvolvimento de medidas sustentáveis ao cultivo agrícola. Destas medidas, a utilização de formas alternativas ao combate de moléstias é, sem dúvida, uma das principais vertentes, contribuindo não apenas para melhorias de curto prazo, mas também em longo prazo.

Devido aos diversos fatores que podem afetar a eficiência dos produtos, incluindo as formulações empregadas, a frequência de aplicação, a cultivar utilizada e às diferentes respostas dos patógenos aos tratamentos, estudos são necessários para esclarecer os mecanismos de ação envolvidos, e assim poder aperfeiçoar a eficácia dos produtos no controle das doenças.

Para o controle do bolor azul, apenas o ácido salicílico demonstrou que pode reduzir a severidade da doença nos frutos inoculados artificialmente sendo seu resultado, possivelmente estar relacionado a um efeito direto sobre o patógeno, demonstrado pelo bioensaio *in vitro*.

Para o mofo cinzento, os ácidos cinâmico e salicílico, assim como os sais bicarbonato de sódio e carbonato de potássio demonstraram efeitos fungicidas, no entanto, outros ensaios devem ser realizados de modo a se confirmar os efeitos obtidos pelos bioensaios feitos *in vitro*.

A partir do trabalho desenvolvido, foi possível se ter um maior esclarecimento da diversidade de compostos existentes para o controle de doenças de pós-colheita, suas aplicações e formas de atuação. Além disso, este trabalho permitiu relacionar os conceitos aprendidos ao longo da graduação e colocar em prática um pouco do que fora aprendido.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPM – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE MAÇÃ. Projeções confirmaram queda da safra de maçã. **Jornal A Coluna**. 2011. Disponível em: <<http://nocaminhodeparis.blogspot.com/2011/05/projecoes-confirmam-queda-da-safra-de.html>>. Acesso em: 01 de Junho de 2011.

ALMEIDA, A. A. P.. **Atividade antimicrobiana de extratos e de compostos fenólicos e nitrogenados do café: avaliação *in vitro* e em modelo alimentar**. 2007. 137 f. Dissertação (Doutorado). Programa de pós-graduação em Ciência de Alimentos. Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Brasil.

ALSCHER, R. G., DONAHUE, J., CRAMER, L. L. Reactive oxygen species and antioxidantes: relationships in green cells. **Plant Physiology**. v.100, p. 224 – 233, 1997.

ARFAN, M. Exogenous application of salicylic acid through rooting médium modulates ion accumulation and antioxidant activity in spring wheat under salt stress. **International Journal of Agriculture & Biology**. v. 11, p. 437 – 442, 2009.

BALBI-PEÑA, M. I. *et al.* Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de curcuma longa e curcumina - II. Avaliação *in vivo*. **Fitopatologia Brasileira**. v. 31, n. 4, p. 401-404, 2006.

BAXBER, G. J. *et al.* Salicylic acid in soups prepared from organically and non-organically grown vegetables. **European Journal of Nutrition**. v. 40, p. 289 – 292, 2001.

BEEVER, R. E. & WEEDS, P. L. Taxonomy and genetic variation of *Botrytis* and *Botryotinia*. In: SPRINGER. **Botrytis: Biology, Pathology and Control**. 2007. 411p.

BERTON, O., SCHROEDER, A., BLEICHER, J. Controle de podridões em pêssegos através de tratamentos em pré e pós-colheita. **Agropecuária catarinense**. v. 3, n. 5, p. 4 – 5, 1992.

BLEICHER, J. História da macieira. In: EPAGRI. **A cultura da macieira**. Florianópolis: EPAGRI, 2002.

BLUM, L.E.B; AMARANTE, C.V.T.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; GUIMARÃES, L.S.; DEZANET, A.; HACK NETO, P. *Cryptococcus laurentii* aplicado em pós-colheita reduz podridões em maçãs. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 4, p. 433-436, 2004.

BODE, H. B. & MÜLLER, R. Possibility of bacterial recruitment of plant genes associated with the biosynthesis of secondary metabolites. **Plant Physiology**. v. 132, p. 1153 – 1161, 2003.

BONETI, J.I. da S. et al. **Manual de identificação de doenças e pragas da macieira**. Florianópolis: Epagri, 1999. 149p.

BRACKMANN, A., CERETTA, M., VIZZOTTO, M. O uso de cloreto de cálcio e da cal para o tratamento pós-colheita de podridões em maçãs. **Revista brasileira de fruticultura**. v. 23, n. 2, p. 298 – 301, 2001.

BRACKMANN, A., MAZARO, S. M., CECCHINI, R. Pré-resfriamento e tratamento químico pós-colheita de maçãs cvs. Golden delicious e Fuji. **Ciência rural**. v. 2, n. 26, p. 185 – 189, 1996.

BROWNM, G. S. *et al.* The effect of copper and calcium foliar sprays on cherry and apple fruit quality. **Scientia Horticulturae**. v. 67, p. 219 – 227, 1996.

CAMILO, A.P.; DENARDI, F. Cultivares: descrição e comportamento no sul do Brasil. In: EPAGRI. **A cultura da macieira**. Florianópolis: EPAGRI, 2002.

CAMPANHOLA, C. & BETTIOL, W. **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio ambiente. 279p. 2003.

CAMPOS, A. D. *et al.* Indução de resistência sistêmica à antracnose em feijoeiro-comum pela raça delta avirulenta de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.44, n.1, p. 15 – 21, 2009.

CASTILHO, A. C., MAGNONI, D., CUKIER, C. **Cálcio e Magnésio**. 2009. Disponível em: <
http://www.portalnutralite.com.br/pdf/Calcio_e_Magnésio_IMEN.pdf>. Acesso em: 02 de Junho de 2011.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2.ed. Lavras: UFLA, 2005. 785p.

CONWAY, W. S., *et al.* Controlo f blue moldo f Apple by combining controlled atmosphere na antagonist mixture, and sodium bicarbonate. **Postharvest Biology and Technology**. v. 45, p. 326 – 332, 2007.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 12, n. 6, p. 564-582, 1999.

DE CAPDEVILLE, G. *et al.* Alternative disease control agents induce resistance to blue mold in harvest ‘Red Delicious’ apple fruit. **Phytopathology**. v. 92, p. 900-908, 2002.

DECKER, E.A. Phenolics: prooxidants or antioxidants. **Nutrition Reviews**. v.55, n.11, p. 396-407, 1997.

DEMPSEY, D., SILVA, H., KLESSIG, D. F. Engineering disease and pest resistance in plants. **Trends Microbiology**, v. 6, p. 54-61, 1998.

DROBY, S. *et al.* Effects of combining hot water, sodium bicarbonate and biocontrol on postharvest decay of citrus fruit. **The Journal of Horticulture Science and Biotechnology**. v. 77, p. 441 – 445, 2003.

EPAGRI – EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA. **A Cultura da Macieira**. Florianópolis: EPAGRI, 2002. 743p.

ELAD, Y. *et al.* *Botrytis spp.* And diseases they cause in agricultural systems – an introduction. In: SPRINGER. **Botrytis: Biology, Pathology and Control**. 2007. 411p.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION'S. **Maçã – Quantidade Produzida: Total e dos principais países (traduzido)**. Disponível em: <www.fao.org> Acesso em: 25 de Maio de 2011.

FARAH, A., DONANGELO, C.M. Phenolic compounds in coffee. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. v. 18, n.1, p.23 – 36, 2006.

FILHO, A. B., KIMATI, H., AMORIM, L. **Manual de fitopatologia**. 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. 919p.

FRANCO, D. A. S., BETTIOL, W. Efeito de produtos alternativos para o controle do bolor verde (*Penicillium digitatum*) em pós-colheita de citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 24, n. 2, 2002.

GABLER, F. M. & SMILANICK, J. L. Postharvest control of table grape gray mold on detached berries with carbonate and bicarbonate salts and disinfectants. **American Journal for Enology and Viticulture**. v. 52, p. 12 – 20, 2001.

GERSHENZON, J., McCONKEY, M. E., CROTEAU, R. B. Regulation of monoterpenes accumulation in leaves of peppermint. **Plant Physiology**. v.122, p. 205 – 214, 2000.

GLOBO RURAL. Quanto menos melhor. **Revista Globo Rural**. 29 de Maio de 2004. Disponível em < <http://www.agrisustentavel.com/san/menos.htm>>. Acesso em: 23 de Maio de 2011.

HAN, T., LI, L. P., FENG, S. Q. Effect of exogenous salicylic acid on physiological parameters of cucumber and tomato fruits stored at chilling injury temperature. In: MO,

Y. *et al.* Enhanced preservation effects of sugar apple fruits by salicylic acid treatment during post-harvest storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 88, p. 2693 – 2699, 2008.

HERVIEUX, V., YAGANZA, E. S., ARUL J., TWEDDELL, R. J. Effect of organic and inorganic salts on the development of *Helminthosporium solani*, the causal agent of potato silver scurf. **Plant Disease**. n. 86, p. 1014 – 1018, 2002.

IBRAF – INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. **Comparativo das exportações brasileiras de frutas frescas 2008-2007**. 2009. Disponível em: < <http://www.ibraf.org.br/estatisticas/Exporta%C3%A7%C3%A3o/ComparativoExportacoesBrasileiras2008-2007.pdf>>. Acesso em: 02 de Junho de 2011.

IBRAF – INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. **Comparativo das importações brasileiras de frutas frescas 2010-2009**. 2011. Disponível em: < <http://www.ibraf.org.br/estatisticas/Importa%C3%A7%C3%A3o/Comparativo%20das%20Importa%C3%A7%C3%B5es%20Brasileiras%20de%20Frutas%20Frescas%202010-2009.pdf>>. Acesso em: 02 de Junho de 2011.

ICEPA – INSTITUTO DE PLANEJAMENTO E ECONOMIA AGRÍCOLA DE SANTA CATARINA. **Situação da safra da maçã. 2011**. Disponível em: < <http://cepa.epagri.sc.gov.br/>>. Acesso em: 31 de Maio de 2011.

IPPOLITO, A. *et al.* Control of postharvest rots of sweet cherries by pre- and postharvest applications of *Aureobasidium pullulans* in combination with calcium chloride or sodium bicarbonate. **Postharvest Biology and Technology**. v. 36, p. 245 – 252, 2005.

IQBAL, Z. **Innovative Approaches to control postharvest diseases in fruits**. 2010. 64 f. Dissertação (Relatório de pesquisa – Pós-Doutorado). Curtin University of Technology, WA, Austrália.

JANISIEWICZ, W. J. Ecological diversity, niche overlap, and co-existence of antagonist used in developing mixtures for biocontrol of postharvest diseases of apples. **Phytopathology**, v.86, p.473-479, 1996.

JANISIEWICZ, W. J. Blue mold – fruit disease focus. **Tree fruit research and education center**. Davis College of Agriculture, Natural Resources and Design. 1999. Disponível em: <
http://www.caf.wvu.edu/kearneysville/disease_month/bluemold0199.html>. Acesso em: 11 de Maio de 2011.

KAZEMI, M., ARAN, M., ZAMANI, S. Effect of salicylic acid treatments on quality characteristics of apple fruits during storage. **American Journal of Plant Physiology**. v. 2, p. 113 – 119, 2011.

KIMATI, H. *et al.* **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. v.2, 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. 774p.

LOGEMANN, E., PAMISKE, M., HAHLBROCK, K. Modes of expression and common structural features of the complete phenylalanine ammonia-lyase gene family in parsley. 1999. In: MAIRESSE, L. A. S. **Avaliação da bioatividade de extrato de species vegetais, enquanto excipientes de aleloquímicos**. 2005. 340 f. Dissertação (Doutorado). Programa de pós-graduação em Agronomia, area de Concentração em Produção Vegetal. Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

LUCHI, V.L. **Botânica e fisiologia**. In: EPAGRI. **A cultura da macieira**. Florianópolis: EPAGRI, 2002.

MAIRESSE, L. A. S. **Avaliação da bioatividade de extrato de species vegetais, enquanto excipientes de aleloquímicos**. 2005. 340 f. Dissertação (Doutorado). Programa de pós-graduação em Agronomia, area de Concentração em Produção Vegetal. Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola**. 2º ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1967. 606p.

MAPA – MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Agrofit**. 2003.

MAPA – MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Instrução Normativa**. nº 50, 2002. Disponível em: <http://www.engetecno.com.br/port/legislacao/fv_maca.htm>. Acesso em: 02 de Junho de 2011.

MARTINS, C. R. *et al.* Fisiopatias e fitopatias em pós-colheita de maçãs produzidas em diferentes sistemas de produção nas safras de 2002 e 2003. **Revista Brasileira de Agroecologia**. v.2, n.1, p. 1438 – 1441, 2007.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plants Science**. v. 7, p. 405 – 410, 2002.

MO, Y. *et al.* Enhanced preservation effects of sugar apple fruits by salicylic acid treatment during post-harvest storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 88, p. 2693 – 2699, 2008.

MONDINO, P. *et al.* **Manual de identificação de doenças da maçã em pós-colheita**. Montevideo: CYTED, 2009. 67p.

MONSELISE, S. P. & GOREN, R. Pre-harvest growing conditions and temperature zone fruits. **Hortscience**. n. 22, p. 1185 – 1189, 1987.

MOSSINI, S.A.G. *et al.* Inhibition of patulin production by *Penicillium expansum* cultured with Neem (*Azadirachta indica*) Leaf Extracts. **Journal of Basic Microbiology**. v.44, p. 106 – 113, 2004.

NIGRO, F. *et al.* Control of table grape storage rots by pré-harvest applications of salts. **Postharvest Biology and Technology**. v. 42, p. 142 – 149, 2006.

PALIYATH, G., MURR, D. P., HANDA, A. K., LURIE, S. **Postharvest biology and technology of fruits, vegetables and flowers**. Iowa, USA. 2008. 497p.

PETRI, J.L.; PALLADINI, L.A.; POLA, A.C. Dormência e indução de brotação da macieira. In: EPAGRI. **A cultura da macieira**. Florianópolis: EPAGRI, 2002a.

PETRI, J.L.; LEITE, G.B.; CESA, J.D. Padronização e classificação da maçã. In: EPAGRI. **A cultura da macieira**. Florianópolis: EPAGRI, 2002b.

REGLINSKI, T. *et al.* Induced resistance against *Sclerotinia sclerotiorum* in kiwifruit leaves. **Plant Pathology**. v. 46, p. 716 – 721, 1997.

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

SANCHEZ-ROJO, S. *et al.* Salicylic acid protects potato plants from phytoplasma-associated stress and improves tuber photosynthate assimilation. **American Journal of Potato Research**. v.88, p. 175 – 183, 2010.

SANHUEZA, R. M. V. Manejo de doenças de pós-colheita em maçãs. **Jornal da Associação Gaucha dos Produtores de Maçã**. ed. 200, Janeiro de 2011. Disponível em <<http://www.agapomi.com.br/jornal.php?noticia=159>>. Acesso em: 23 de Maio de 2011.

SANHUEZA, R. M. V., CATTANIO, M. E. Controle biológico de *Penicillium expansum* em pós-colheita de maçãs ‘Fuji’. **Summa Phytopathologica**. v.29, n.2, 2003.

SANZANI, S. M., *et al.* Control of *Penicillium expansum* and patulin accumulation on apples by quercetin and umbelliferone. **European Food Research and Technology**. n.228, p. 381 – 389, 2008.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Potencial de extratos e óleos essenciais de vegetais como indutores de resistência plantas medicinais. In: Pascholati, S. F. **Reunião brasileira sobre indução de resistência em plantas contra fitopatógenos**. v. 1, p. 27-28, 2002.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. *et al.* Efeito do extrato bruto de plantas medicinais na indução de fitoalexinas em soja e sorgo. **Fitopatologia brasileira**. v. 22, p. 346, 1997.

SHABANA, Y.M. *et al.* Control of brown spot pathogen of rice (*Bipolaris oryzae*) using some phenolic antioxidants. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 39, n. 3, 2008.

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

SHEWFELT, R. & PRUSSIA, S. E. Challenges in postharvest handling. In: Food Science and Technology. **Postharvest Handling**. 2009. 594p.

SINDAG – SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA DEFESA AGRÍCOLA. **Setor de defensivos agrícolas no Brasil**. 2010. Disponível em: < http://www.sindag.com.br/dados_mercado.php>. Acesso em: 01 de mai. 2011.

SPOTTS, R. A., CERVANTES, L. A., MIELKE, E. A. Variability in postharvest decay among apple cultivars. **Plant disease**. v. 83, p. 1051 – 1054, 1999.

STADNIK, M. J., *et al.* **Manejo Integrado de Doenças da Macieira**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2009. 229p.

TAIZ, L & ZEIGER, F. **Fisiologia Vegetal**. 3^oed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

VIEIRA, D. R. & VALLE, R. R. Indução de resistência sistêmica para o controle da vassoura-de-bruxa *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer em cacauzeiros (*Theobroma cacao*) dos clones ICS 1 e CCN 51. **15^a Conferência Internacional de Pesquisas em Cacau**. São José, Costa Rica, 2006.

YAN, T. & SHEN, Q. G. Effects of salicylic acid on fruit ripening. In: MO, Y. *et al.* Enhanced preservation effects of sugar apple fruits by salicylic acid treatment during

post-harvest storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 88, p. 2693 – 2699, 2008.

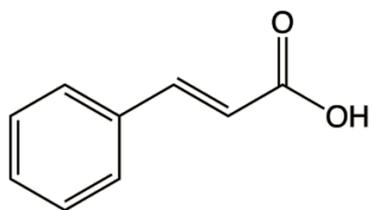
YAO, H. & SHIPING, T. Effects of pré- and post-harvest application of salicylic acid or methyl jasmonate on inducing disease resistance of sweet cherry fruit in storage. **Postharvest Biology and Technology**. v. 35, p. 253 – 262, 2005.

YU, T. & ZHENG, X. D. Salicylic acid enhances biocontrol efficacy of the antagonist *Cryptococcus laurentii* in Apple fruit. **Journal of Plant Growth Regulation**. v.25, p. 166 – 174, 2006.

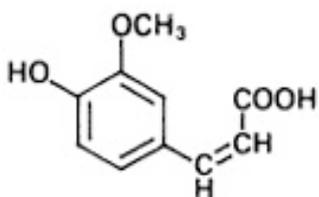
WHITE, E. G. **Parábolas de Jesus**. p. 408.

9. ANEXO

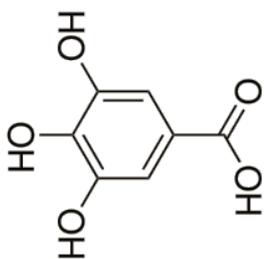
Estrutura molecular dos ácidos fenólicos.



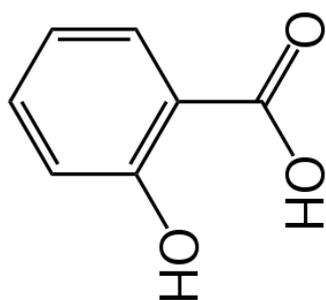
Ácido cinâmico.



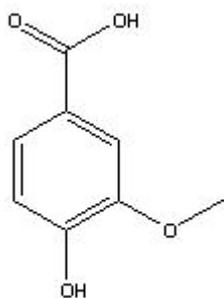
Ácido ferúlico.



Ácido gálico.



Ácido salicílico.



Ácido vanílico.