

## Desempenho de Óleos Essenciais de Manjerição e Melaleuca, com Potencial Controle da Antracnose na Pós-colheita da Banana Prata.

### Performance of Essential Oils of Basil and Melaleuca, with Potential Control of Anthracnose in the Postharvest of Banana Prata

Rafael Souza Coimbra e SILVA<sup>1</sup>; Leandro Camargo NEVES<sup>2</sup>; Antonio Alves de MELO FILHO<sup>3</sup>; Daniel Augusto SCHURT<sup>4</sup>; Priscila Mayara Rocha LEÃO<sup>5</sup>

<sup>1</sup> M.Sc, Federal University of Roraima, Agricultural Research Center, Postgraduate Program in Agronomy (POSAGRO). BR 174 Road Km 12, 69310-270 Boa Vista, RR, Brazil. rafaelcoimbra91@hotmail.com

<sup>2</sup> Associate professor, Ph.D, Federal University of Roraima, Agricultural Research Center, Postgraduate Program in Agronomy (POSAGRO). BR 174 Road Km 12, 69310-270 Boa Vista, RR, Brazil. rapelbtu@hotmail.com (Corresponding author)

<sup>3</sup> Associate professor, Ph.D, Federal University of Roraima, Agricultural Research Center, Chemical Department. Av. Cap. Ene Garcês, 2413 – Aeroporto, 69310-000 Boa Vista, RR, Brazil. antonioalvesufr@gmail.com

<sup>4</sup> Researcher, Embrapa Roraima, Ph.D, Rodovia BR 174 Km 8 sn, RR, 69301-970, Boa Vista, RR, Brazil. daniel.schurt@embrapa.com

<sup>5</sup> M.Sc, Federal University of Roraima, Agricultural Research Center, Postgraduate Program in Agronomy (POSAGRO). BR 174 Road Km 12, 69310-270 Boa Vista, RR, Brazil. pricila.mayara@hotmail.com

Recebido em: 04-03-2022; Aceito em: 05-05-2023

#### Resumo

Buscou-se identificar e avaliar a ação dos óleos essenciais de manjerição e melaleuca visando ao controle da antracnose (*Colletotrichum musae*) durante a pós-colheita de banana cultivar 'Prata'. A extração dos óleos foi realizada por hidrodestilação. Realizou-se também análises cromatográficas para observar a constituição e quantidade de cada componente bem como o estudo in vitro, no qual analisou-se a inibição e o índice de velocidade do crescimento micelial do fungo. In vivo, os frutos foram inoculados com o patógeno de modo a saber o grau de severidade da doença. Realizou-se também a caracterização da qualidade sensorial dos frutos. Ao final, identificou-se vinte e seis constituintes químicos no manjerição e treze na melaleuca. In vitro, ocorreu inibição total do fungo nas doses 7,5 µL.mL<sup>-1</sup> de manjerição e, a partir de 4,5 µL.mL<sup>-1</sup> com o óleo de melaleuca. In vivo, o óleo de manjerição proporcionou a redução na severidade e retardo da incidência em quatro dias. Com o óleo de melaleuca observou-se resultados positivos somente na severidade. Quanto aos efeitos dos óleos sobre a qualidade dos frutos, observou-se influência dos mesmos com o avanço do amadurecimento. Os tratamentos com os óleos promoveram elevados valores de firmeza, acidez e menores incrementos na coloração e perda de massa fresca dos frutos, ocasionando a diminuição na velocidade do amadurecimento dos frutos em comparação à testemunha. Assim, constatou-se os efeitos antifúngicos dos óleos essenciais no controle da antracnose na pós-colheita dos frutos, assim como a adequada manutenção da qualidade dos frutos durante o armazenamento em condições não controladas de temperatura e umidade.

**Palavras-chave adicionais:** *Musa spp.*; *Colletotrichum musae*; *Ocimum basilicum*; *Melaleuca quinquenervia*; Prata.

#### Abstract

This work aimed to identify and evaluate the performances of the essential oils of basil and melaleuca in the control of anthracnose (*Colletotrichum musae*) in the postharvest of banana cultivar 'Prata'. The extraction of oils was performed by hydrodistillation technique. Chromatographic analyzes were also carried out to observe the constitution and amount of each component, as well as the in vitro study, in which the inhibition and the speed index of the mycelial growth of the fungus were analyzed. In vivo, the fruits were inoculated with the pathogen in order to know the degree of action of the disease. The characterization of the sensory quality of the fruits was also carried out. At the end, twenty-six chemical constituents were observed in basil and thirteen in melaleuca. In vitro, there was total inhibition of the fungus at doses of 7.5 µL.mL<sup>-1</sup> of basil oil and, from 4.5 µL.mL<sup>-1</sup>, with melaleuca oil. In vivo, basil oil provided a reduction in severity and a delay in incidence in four days. With melaleuca oil, positive results were observed only in severity. As for the effects of oils on fruit

quality, their influence was observed with the advancement of ripening. The treatments with the oils promoted high values of firmness, acidity and smaller increments in the color and loss of fresh mass of the fruits, causing a decrease in the speed of ripening of the fruits compared to the control. Thus, the antifungal effects of essential oils in the control of anthracnose in the postharvest of the fruits were verified, as well as the adequate maintenance of the quality of the fruits during storage under uncontrolled conditions of temperature and humidity.

**Additional keywords:** *Musa spp.*; *Colletotrichum musae*; *Ocimum basilicum*; *Melaleuca quinquenervia*; Prata

## Introdução

A banana (*Musa ssp.*) é um dos frutos mais apreciados no mundo. Seu consumo se dá nas formas *in natura*, assada, cozida, frita e em diversas combinações de pratos e em alimentos industrializados. O Brasil se sobressai como 5º maior produtor mundial de bananas (FAO, 2021). Em Roraima, extremo norte do País, a bananicultura é realizada em todos os municípios, com grande destaque aos municípios de Caroebe-RR e Iracema-RR, os quais garantem abastecimento de 55% dos mercados de Boa Vista-RR e até mesmo escoando parte de sua produção à Manaus, capital do estado do Amazonas (IBGE, 2021).

Embora a bananicultura nacional seja realizada em grande escala, a participação brasileira no mercado externo é prejudicada devido às perdas substanciais durante a fase de pós-colheita, as quais podem corresponder a 60% da produção (Pinho et al., 2010). Nesse sentido, nas regiões brasileiras em que há produção expressiva de frutos como o Nordeste, a presença de microrganismos, em destaque antracnose causada pelo *Colletotrichum musae*, acarreta danos gradativos, prejuízos financeiros, além de reduzir a vida útil de prateleira edificar acessos a novos mercados. Vale destacar que o *C. musae* pode se manifestar na banana assim como em outras espécies, como o caju (*Anacardium occidentale* L.), manga (*Mangifera indica* L.), mamão (*Carica papaya* L.), maracujá (*Passiflora edulis* F.) e em outros (Benato, 1999).

O patógeno *Colletotrichum musae* é responsável por uma das mais severas doenças existentes, sendo considerado a principal doença após-colheita de muitos frutos, em especial a banana (Terao et al., 2013). Isso, por justamente desenvolver elevados índices de infecção e dispersão na mesma área entre variedades distintas ou não. Logo, necessita de atenção e cuidados constantes devido aos problemas fitossanitários desencadeados (Coelho et al., 2010).

No processo de controle de doenças na bananicultura, estudos voltados à manutenção da qualidade do produto final por meio do uso de óleos vegetais, extraídos de espécies abundantes e possivelmente cultiváveis, vêm se intensificando como método alternativo, ecológico e economicamente correto, quando comparado ao controle químico tradicional. Nesse sentido, o uso de óleos essenciais se evidencia como nova tendência contra ação de patógenos, como o *C. musae*, dado que se busca a formulação de compostos futuramente utilizados na supressão de microrganismos danosos (Lima et al., 2014). Assim, a utilização de óleos essenciais visando ao controle de doenças pós-colheita está cada vez mais sendo estudada devido os mesmos apresentarem expressivas composições químicas antimicrobiana e

fungistática (Veloso et al., 2014; Falci et al., 2015), que se manifestam em unicidade conforme condições edafoclimáticas e em sinergismo com a genética das plantas presentes na região.

Assim, com o intuito de verificar a performance e atuação desses óleos essenciais no controle da antracnose em banana Prata, o presente estudo foi desenvolvido a partir da utilização do manjeriço (*O. basilicum*) e da melaleuca (*M. quinquenervia*) como matérias-primas, na pós-colheita da banana 'Prata', objetivando além do controle fitossanitário, também a manutenção da qualidade dos frutos durante o armazenamento em condições não controladas de temperatura e umidade.

## Material e métodos

### OBTENÇÃO DO ISOLADO DE *Colletotrichum musae*

Isolados fúngicos utilizados foram obtidos a partir de frutos de banana cv "Prata", colhidos em propriedade particular localizada no município de Iracema-RR, apresentando sintomas característicos da antracnose. Os frutos foram encaminhados ao Laboratório de Fitopatologia da EMBRAPA-Roraima, onde foram alocadas em câmara úmida em temperatura ambiente ( $32 \pm 3$  °C e  $87 \pm 2\%$  de U.R.), para estimular a esporulação do fungo.

Dos frutos com sintomas de antracnose foram feitos o isolamento direto em placa contendo omeio BDA (batata – dextrose – ágar), e depois incubadas a 25 °C e ao fotoperíodo de 12 horas durante seis dias. As placas foram retiradas da incubação, ocasião em que foram feitas lâminas para observar as estruturas do fungo no microscópio óptico de luz. Para avaliar a patogenicidade do isolado, microfermentos foram feitos com auxílio de uma agulha em frutos sadios nestes ferimentos foi aplicado uma suspensão de  $2,5 \times 10^5$  conídios por ml de solução. Posteriormente, os frutos foram colocados em câmara úmida até os aparecimentos dos sintomas e sinais.

Culturas monospóricas foram obtidas conforme a metodologia descrita por Ho e Ko (1997) os isolados foram incorporados à coleção de fungos da Embrapa Roraima. Na análise morfológica do isolado, adotou-se os procedimentos utilizados por Sutton (1992) e Than et al. (2008), caracterizando o tamanho e o formato dos conídios. Para a caracterização molecular dos isolados, utilizou-se os isolados monospóricos do fungo.

As análises filogenéticas foram realizadas com base nos genes TUB e CAM com as sequências de dois isolados obtidos (EMBRAPA 01, EMBRAPA 02) e do gene TUB para o isolado (EMBRAPA 03) e mais 56 linhagens de isolados de referência do complexo de espécies *Colletotrichum gloeosporioides*. As sequências foram depositadas

no GenBank. A linhagem tipo de *Colletotrichum boninense* foi usado como grupo externo. Assequências de TUB e CAM foram alinhadas individualmente com a ferramenta MAFFT no software UGENE (Okonechnikov et al., 2012) e submetidas a concatenação manual. A análise de máxima verossimilhança (ML) foi realizada usando 1000 replicatas na plataforma IQTREE (Minh et al., 2020). A topologia da árvore foi visualizada pela plataforma iTOL e editada manualmente usando o software de edição CorelDraw versão 2020.

## ANÁLISES DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE MANJERICÃO E MELALEUCA

### Obtenção e avaliação cromatográfica dos óleos essenciais

As partes vegetais escolhidas para extração dos óleos essenciais no experimento foram as folhas, coletadas no município de Boa Vista-RR, sendo que o manjeriço (*O. basilicum*), em estágio fenológico jovem, foi adquirido em propriedade de cultivo de hortaliças, localizada no bairro Nova Cidade (2°46'35,9"N 60°44'38,7"W). A melaleuca (*M. quinquenervia*) foi obtida no campus Paricarana, da Universidade Federal de Roraima (UFRR), em plantas se encontravam em estágio fenológico de reprodução (2°49'58,9"N 60°41'48,2"W).

Para a extração dos óleos essenciais, o método adotado foi a hidrodestilação (arraste a vapor d'água), no qual foi utilizado um aparelho extrator tipo Clevenger Bicondensador, modelo SPELL GLASS 001SG, com circuito fechado de água, acoplado a um balão volumétrico, utilizando manta de aquecimento, por duas horas de atividade. A extração foi realizada no laboratório de Química Ambiental – UFRR. Em seguida, em um balão volumétrico com capacidade de doze litros, juntamente com as folhas, foram adicionados seis litros de água deionizada, como solvente. Uma manta aquecedora foi usada (100 °C) para aquecer o balão pelo período de duas horas ininterruptas. Após a separação das fases, o óleo foi retirado e acondicionado em frasco de vidro âmbar, previamente seco (Moura & Yogui, 2012), pesado sendo posteriormente armazenado em freezer (-4 °C) abrigado da luz (Almeida et al., 2017).

### Perfis cromatográficos dos óleos essenciais

Após a obtenção dos óleos essenciais das duas espécies vegetais foi realizada a análise para identificação dos constituintes voláteis dos óleos. Para tanto, foi utilizado equipamento de cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massas (CGEM-QP2010 ULTRA - Shimadzu); equipado com uma coluna – Supelcowax-10 30 m x 0,2 mm x 0,2 µm (Supelco); a temperatura da coluna estando em 50 °C (3 min),

subindo 3 °C.min<sup>-1</sup>, até atingir 220 °C, sendo injetado 1 µL de amostras dos óleos essenciais diluídas a 1% em clorofórmio, com o injetor a temperatura inicial de 220 °C, com razão em modo Split (1:50), interface CG-EM a 250 °C, detector MS (Impacto eletrônico a 70 eV) a 250 °C, a vazão do gás de arraste (Hélio) foi de 3,0 mL.min<sup>-1</sup>. O cromatograma da composição química dos óleos essenciais obtidos foi analisado em comparação aos do acervo da biblioteca espectral (NIST11), utilizando como base o Software GCMS Solution (Shimadzu).

### Teores dos constituintes

A quantificação dos componentes dos óleos obtidos foi realizada por meio da cromatografia gasosa de alta resolução, utilizando como equipamento: cromatógrafo a gás HP 7820A (Agilent); CG-DIC: cromatografia gasosa com detector por ionização de chama, equipado com uma coluna Supelcowax-10 30 m x 0,2 mm x 0,2 µm (Supelco), com temperatura de 50 °C (3 min), 3 °C.min<sup>-1</sup>, até 220 °C. Foi injetado 1 µL de amostras dos óleos essenciais, diluídas a 2% em acetato de etila, com temperatura inicial de 250 °C em razão Split (1:30). O detector por Ionização em chama (DIC) utilizado apresentava-se a temperatura de 250 °C e o gás de arraste foi H<sub>2</sub>, a 5 mL.min<sup>-1</sup>. Software de aquisição de dados: OPENLAB (Agilent).

### TESTES IN VITRO

#### Atividade antifúngica dos óleos essenciais no controle de *Colletotrichum musae* *in vitro*

O meio de cultura batata-dextrose-agar (BDA), juntamente ao polissorbato – Tween 20 a 0,01%, foi esterilizado por 20 minutos a 120 °C em autoclave. Após este processo de esterilização, o BDA fundente, aproximadamente a 45 °C, foi vertido em placas esterilizadas de Petri de noventa milímetros de diâmetro. Com auxílio de pipeta automática, em câmara de fluxo laminar, foram adicionadas em meio de cultura as doses estabelecidas dos óleos de manjeriço e melaleuca. Após a solidificação do meio de cultura foi realizada a transferência de colônias de 5 mm de diâmetro, retiradas da cultura pura, conservadas há 6 dias, para o centro de placas contendo o meio BDA. As placas foram incubadas em BOD à temperatura de 27±1 °C e fotoperíodo de 12 horas. Foram utilizadas 5 placas por repetição. As avaliações sobre o crescimento micelial do fungo foram realizadas a cada 24 horas, até que a colônia de um dos tratamentos atingisse a borda da placa. Na avaliação de crescimento, foram realizadas quatro medições, com auxílio de um paquímetro (mm), em quatro sentidos do disco de micélio na placa de Petri, levando-se em consideração o diâmetro do mesmo. Os valores médios desses dados foram usados para

determinar a porcentagem de inibição do crescimento e o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM). Para variável porcentagem de inibição do crescimento micelial, foi calculada usando a seguinte fórmula: % inibição =  $100 - (E/C \times 100)$ . Onde: E significa média do crescimento micelial de cada tratamento; C se traduz em média do crescimento micelial da testemunha controle (Lindsey & Standen, 2004). O cálculo do índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) foi determinado conforme formulação, sendo:  $IVCM = \sum (D-Da)/N$ . Em que: D corresponde ao diâmetro médio atual da colônia; Da indica o diâmetro médio da colônia no dia anterior; e, N, representa o número de dias após a repicagem.

#### TESTES *IN VIVO*

Inoculação de *C. Musae* e avaliação dos óleos essenciais no controle *in vivo*. Os frutos, de banana cv. "Prata" foram obtidos em um plantio comercial de uma propriedade particular, localizada no município de Iracema - RR, a 120 km de Boa Vista-RR com latitude: 2°09'35,8" N, longitude: 61°03'04,5" W, altitude: 90 m. O solo característico é Latossolo amarelo, clima local é classificado de acordo com Köppen do tipo Aw, tropical chuvoso, com o período chuvoso nos meses de abril e setembro e período seco de outubro a março, precipitação média anual de 1.667 mm, 70% de umidade relativa e 27,4 °C temperatura média anual (Araújo et al., 2001).

Os cachos de banana foram colhidos de plantas em terceiro ciclo de produção que apresentaram calibre do dedo central da penúltima penca média de 32 a 34 mm, no índice de maturação 2 (Von Loesecke, 1950). Após a colheita, os frutos foram despencados, desprezando-se as primeiras e últimas pencas. Em seguida, as bananas foram imersas em tanque com detergente neutro (1%) e sulfato de alumínio (500 g/m<sup>3</sup>). Em seguida, os frutos foram enxaguados em água corrente e secos ao ar livre. Após os processos de limpeza, os frutos foram transportados para o laboratório onde realizou-se a seleção dos frutos, buscando uniformizá-los quanto a cor, massa, comprimento e diâmetro. Descartou-se frutos com danos mecânicos, má formação e/ou deteriorados, além dos cortes das pencas em buquês com três dedos.

Em seguida, os frutos foram sanitizados por meio de lavagem com água potável e imersão em solução aquosa de hipoclorito de sódio à 100 ppm de cloro residual livre (CRL), durante 20 min e posterior enxague com água corrente. Após a higienização, foram expostos em bancadas para secagem em temperatura ambiente (29 °C ± 2 °C e UR de 70 ± 5% de U.R.) Após, os frutos foram depositados em bandejas de plástico, previamente sanitizadas, com solução de hipoclorito de sódio (200 mg. L<sup>-1</sup>) e

levados à sala de armazenamento com temperatura média de 28 °C ± 2 °C e UR de 59 ± 3% de U.R.

A partir da inoculação do patógeno (por pulverização de suspensão de conídios) a capacidade antifúngica dos óleos foi determinada por meio da ação curativa, realizada por meio da pulverização da suspensão de conídios do fungo que foram obtidos de colônias de 8 dias a partir de bananas naturalmente infectadas. No Laboratório de Fitopatologia, a suspensão com os conídios de *C. musae* foi preparada na concentração de 2,5 x 10<sup>5</sup> conídios.mL<sup>-1</sup> de água destilada, com o uso de pulverizador manual. Os frutos inoculados foram mantidos em câmara úmida por 24 horas.

Os buquês de frutos inoculados receberam via pulverização, com pulverizador manual - Brudden®, os tratamentos com as doses pré- estabelecidas dos óleos essenciais avaliados. Depois da aplicação do óleo a sala se manteve fechada sob temperatura 28 °C ± 2 °C e UR de 59 ± 3% de U.R., durante 10 dias.

Os experimentos com os óleos de manjerição e de melaleuca, realizados simultaneamente, foram conduzidos em delineamentos inteiramente casualizado (DIC), em esquema de parcelas subdivididas proveniente de seis doses de óleo essencial (parcelas: 0 µL.mL<sup>-1</sup>; 1,5 µL.mL<sup>-1</sup>; 3,0 µL.mL<sup>-1</sup>; 4,5 µL.mL<sup>-1</sup>; 6,0 µL.mL<sup>-1</sup> e 7,5 µL.mL<sup>-1</sup>) avaliadas em cinco dias de observação (subparcelas). Cada tratamento foi submetido a cinco repetições, sendo que cada unidade experimental foi constituída de um buquê com três frutos aderidos.

Assim, para cada dia de avaliação, foram retiradas 24 bandejas da sala de armazenamento, considerando um total de 120 bandejas para cada óleo testado. As avaliações da incidência e severidade da doença foram determinadas conforme a presença de sintomas característico da doença, que seguiu até os frutos atingirem o estágio de maturação 7, que corresponde, segundo escala proposta por Von Loesecke (1950), frutos com a casca totalmente de cor amarela (PBMH & PIF, 2006).

Desta forma, analisou-se a incidência pelo número de frutos infectados pelo fungo por repetição, mediante equação: Incidência de sintomas (%) = (Número de frutos infectados/Número total de frutos por repetição) × 100 (Xing et al., 2010). Para a severidade foram retiradas fotos de todas as faces dos frutos (ainda unidos no buquê) com uma câmera profissional das bananas a cada dia de avaliação, onde as imagens foram tratadas e quantificada a área das lesões (somando as áreas de todas as faces fotografadas) com o aplicativo QUANT versão (2002), resultando na porcentagem de severidade de cada tratamento.

#### ANÁLISES DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DOS FRUTOS

a) As avaliações da coloração foram determinadas sobre a casca do fruto, na região equatorial, com duas leituras em lados opostos, com o auxílio do colorímetro Konica Minolta, modelo CR- 400, a realização do registro dos valores em sistema CIELCh ( $L^*$ ,  $C^*$  e  $h$ ). A coordenada luminosidade ( $L^*$ ), varia de zero (preto) a 100 (branco);  $C^*$ , cromaticidade, expressa a intensidade da cor, varia entre zero (cores neutras ou cinzas), a 60 (cores vívidas); e o ângulo hue ( $h^\circ$ ) que assume valor  $0^\circ$  para cor vermelha,  $90^\circ$  para amarelo,  $180^\circ$  para verde e  $270^\circ$  para azul (Mendonça et al., 2003);

b) A perda da massa fresca (PMF), essa foi obtida por meio da pesagem dos frutos, até o final do experimento, em balança modelo BL-3200AS-BI de precisão de 0,01 g. Sendo, posteriormente, calculada a porcentagem diferencial entre a massa inicial dos buquês no armazenamento e a massa seguinte. Utilizou-se a seguinte fórmula:  $PM (\%) = [(P_i - P_j) \cdot 100] / P_i - 1$ . Onde: PM = perda de massa em porcentagem (%);  $P_i$  = massa inicial do fruto em grama (g);  $P_j$  = massa do fruto no período subsequente a  $P_i$  visto em grama (g);

c) A firmeza da polpa, foi utilizado um penetrômetro de mão (marca INSTRUTHERM - PTR300), com ponta de 8 mm de diâmetro, adaptada a um suporte com alavanca de bancada, marca Ferrari. As avaliações foram tomadas na região equatorial da polpa do fruto. Os resultados foram expressos em Newton (N);

d) Para a determinação da umidade, uma amostra dos frutos ( $5 \pm 0,8g$ ) foi aquecida em estufa de secagem com circulação forçada, a  $105^\circ C$ , até massa constante, sendo o teor de umidade determinado em base úmida, por diferença de massa (AOAC, 2012);

e) Para determinação da escala de maturação foi avaliado, a cada dois dias, segundo a escala de maturação de Von Loesecke (CEAGESP, 2006), onde: 1= Totalmente verde; 2 = Verde com traços amarelos; 3= Mais verde do que amarelo; 4= Mais amarelo do que verde; 5= Amarelo com ponta verde; 6 = Amarelo; 7 = Amarelo com áreas marrons;

f) Os sólidos solúveis (SS) foi obtido por refratometria com a polpa da banana macerada e homogeneizada, utilizando gaze para a obtenção da composição líquida, sendo determinada em refratômetro digital Atago ( $0 - 53\% \text{ }^\circ\text{Brix}$ ), modelo PR-32 e dados expressos em  $^\circ\text{Brix}$  (AOAC, 2012);

g) A acidez total, realizada em análises por titulação com solução de NaOH a 0,1 N, utilizou o indicador fenolftaleína. Os resultados de ácido málico foram expressos em % (AOAC, 2012); e,

h) O potencial hidrogeniônico (pH) foi obtido por potenciometria onde, 10 g do fruto foram diluídos em 100 ml de água destilada e homogeneizados em liquidificador (AOAC, 2012).

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Quanto ao planejamento estatístico do experimento, o mesmo foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), esquema fatorial  $2 \times 7$ , proveniente do uso dos dois óleos essenciais (manjerição e melaleuca) em sete dosagens sendo:  $0 \mu\text{L.mL}^{-1}$  (sem o óleo essencial);  $1,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ;  $3,0 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ;  $4,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ;  $6,0 \mu\text{L.mL}^{-1}$  e  $7,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ . Foram utilizadas cinco repetições por tratamento, sendo que cada unidade experimental constituída de um buquê com três frutos aderidos. O IVCM do fungo, em cada tratamento, foi determinado em quatro períodos de avaliação para o manjerição (1, 2, 3 e 4 dias após a inoculação) e em seis dias para a melaleuca (1, 2, 3, 4, 5 e 6 dias após a inoculação), mediante esquema de parcelas subdivididas.

Após, verificada a distribuição normal dos resíduos (Kolmogorov-Smirnov), os mesmos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as comparações múltiplas das médias dos tratamentos foram realizadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Todos os dados foram processados pelo software R. As análises foram realizadas utilizando o pacote agricolae (Mendiburu, 2019) do software R versão 3.5.3 (R Core Team, 2019). Salienta-se que o desdobramento da interação foi realizado apenas entre os óleos essenciais e as doses  $1,5$ ;  $3,0$ ;  $4,5$ ;  $6,0$  e  $7,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ . O Tween 20 ea dose  $0 \mu\text{L.mL}^{-1}$  foram comparadas apenas dentro de cada óleo essencial (Tabela 3). Os resultados provenientes da avaliação ao longo do tempo foram submetidos à análise de variância e, havendo significância, procedeu-se a análise de regressão, para determinação do comportamento dos tratamentos ao longo dos períodos de avaliação, também com o auxílio o software estatístico R.

## Resultados e discussão

### AVALIAÇÃO DA PATOGENICIDADE E IDENTIFICAÇÃO DOS ISOLADOS FUNGICOS

Para os três isolados fúngicos, todos foram patogênicos para frutos da banana cv. "Prata". Os sintomas apareceram após 5 dias da inoculação e ossinais após 7 dias. As análises no microscópio óptico de luz, foi possível identificar como *Colletotrichum*

*spp.* Com as análises filogenéticas confirmou que os três isolados pertencem a espécie *Colletotrichum musae*. As sequências foram depositadas no GenBank (acessos: OQ658396, OQ658397, OQ658398, OQ658399, OQ658400). Os isolados agruparam com os isolados de referência de *Colletotrichum musae* (CBS 116870, BTL25, BTL31, BTL32) em um clado com alto suporte (Bayesian posterior probability = 0.99) (Figura 1).

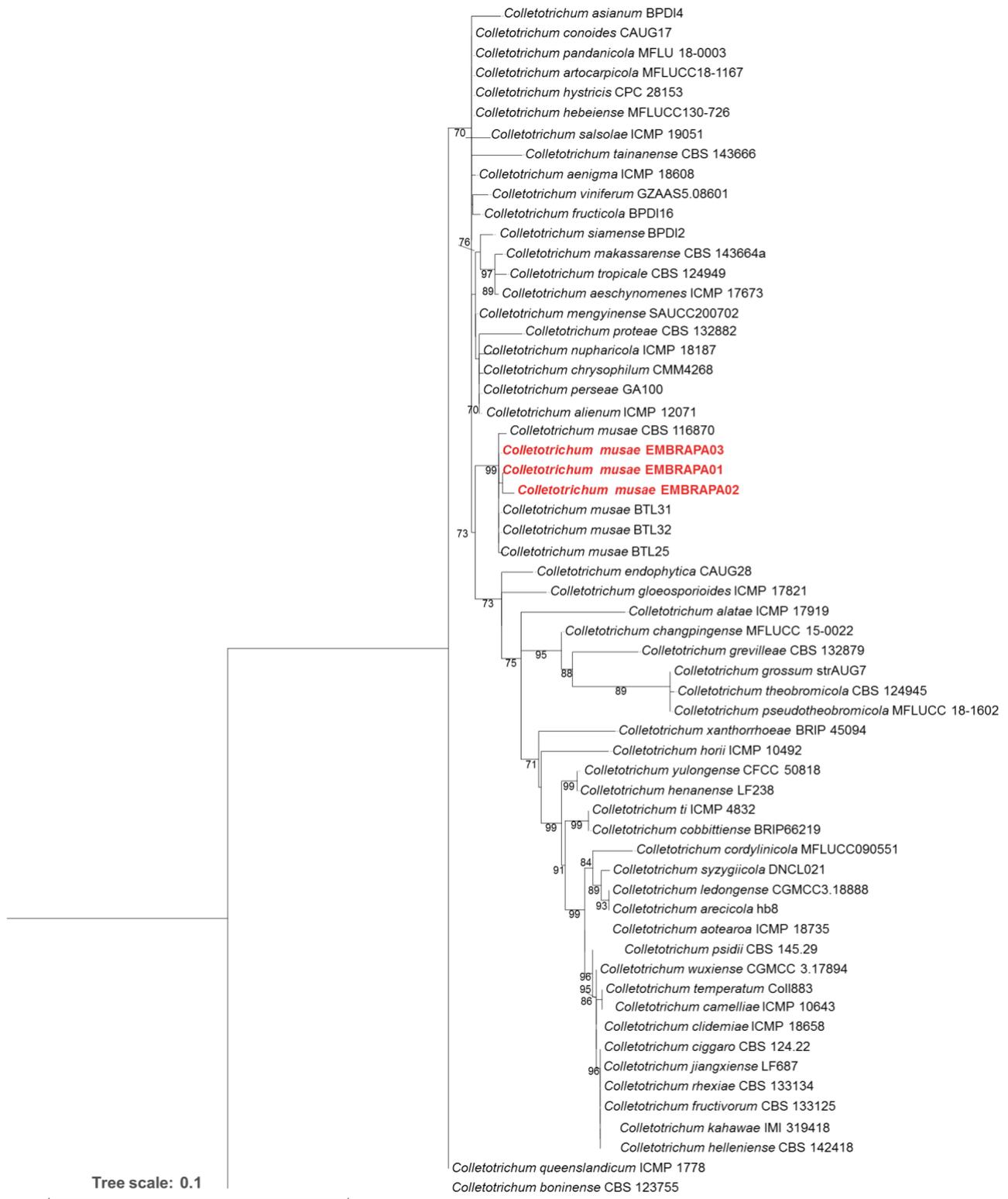


Figura 1 - Árvore filogenética bayesiana do conjunto de dados concatenados (TUB e CAM) mostrando a relação filogenética entre o complexo de espécies *Colletotrichum gloeosporioides*. Probabilidades posteriores >0,7 são indicadas acima dos nós. Os isolados gerados neste estudo estão destacados em vermelho. Sequência do isolado de *C. boninense* CBS 123755 foi usado como grupo externo.

ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

De acordo com a análise dos óleos essenciais de manjeriço (*O. basilicum*) e melaleuca (*M. quinquenervia*) foram identificadas várias classes

de monoterpenos e sesquiterpenos (Tabela 1). Nesse sentido, observou-se nos resultados aqui apresentados que o óleo de manjeriço apresentou total de vinte e seis constituintes químicos com os seguintes compostos majoritários: estragol (46,8%); eucaliptol ou 1,8 cineol (14,04%); e limoneno (7,4%). Em comparação a outras pesquisas, segundo Özcan & Chalchat (2002), os compostos característicos no óleo essencial de manjeriço são: estragol, lineol, linalol, eugenol, metil cinamato, limoneno, eraniol, timol e p-cymen. Enquanto Veloso et al. (2014), ao quantificar e qualificar os constituintes do óleo do manjeriço, encontraram, respectivamente, 26 e 23 compostos, dos quais, o Linalol (36,02%) apresentou-se em maior quantidade, seguido pelo estragol (28,01%). Isso, segundo esses autores, mostra que essas duas substâncias podem estar relacionadas a característica de efeito antimicrobiano. Porém, esta característica/efeito, em especial a a presença do Linalol, não foi encontrados resultados do estudo aqui realizado. Em comparação aos resultados aqui apresentados, Ottaiet al. (2012), realizando pesquisas com variedades de manjeriço egípcias e francesas, também encontraram elevadas concentrações de estragol, 55,37% e 87,16%, respectivamente para as duas variedades trabalhadas.

Logo, pode-se concluir que o manjeriço aqui utilizado, nas condições sinérgicas e edafoclimáticas do Estado de Roraima, apresenta supostamente um quimiotipo diferente ao relatado em outros trabalhos. Ainda sobre a espécie, reforçando a ideia de que os compostos produzidos podem variar de região para região, foi observado neste experimento a presença de eucaliptol (14,4%), na qual os valores foram inferiores aos observados no trabalho de Pinheiro et al. (2017).

Quanto ao óleo da melaleuca (Tabela 1), foram observados 13 constituintes, dos quais, destacaram-se: o eucaliptol (57,02%);  $\alpha$ -terpineol (15,1%); e o viridiflorol (10,6%). Nesse sentido, comparando os resultados aqui obtidos com a literatura, conforme estudos realizados por

(2010), sobre o óleo essencial de melaleuca, estes são constituídos, principalmente, por monoterpenos 1,8-cineol, terpinoleno e terpinen-4-ol, os quais são os componentes mais importantes do óleo, devido possuir capacidade de efeitos fitotóxicos. Assim, vale salientar que para composto eucaliptol (1,8 cineol), em várias pesquisas, é atribuída a ação antimicrobiana, atuando como facilitador na permeabilidade da membrana em microrganismos como *Streptococcus aureus* (FALCI et al., 2015). Dessa forma, o eucaliptol, presente nas amostras aqui trabalhadas, pode apresentar-se como uma nova linha de pesquisa que busca o entendimento da ação intrínseca desta substância em microrganismos fitopatogênicos. Outro dado relevante aqui obtido foi que apenas observou-se 0,9% da constituição do óleo com o composto terpinen-4-ol, o qual teve baixa presença quando comparado ao trabalho de Kaur et al. (2010), assim como o viridiflorol e o  $\alpha$ -terpineol, que também foram encontrados em traços nas análises. Nesse contexto, conforme a International Standards Organization (2017), mediante o ISO 4730, estabelece as seguintes quantidades para que o produto desempenhe as funções antimicrobianas, quanto a composição do óleo, definindo assim: 1,8-cineol (eucaliptol), abaixo de 15% e a de terpinen-4-ol, acima de 35%. Entretanto, no trabalho aqui realizado, o resultado da análise do óleo de melaleuca não atingiu a qualidade pré-estabelecida pelo comitê internacional. Em função disso, Falci et al. (2015), relatam que possa existir prevalência do constituinte eucaliptol (1,8-cineol) em alguns trabalhos realizados no Brasil, diferentemente do terpinen-4-ol, que é o principal constituinte dos óleos essenciais extraídos na Austrália, local de origem da planta. Desta maneira, é possível pressupor que a espécie *M. quinquenervia*, produzida em Boa Vista- RR, possa pertencer a um quimiotipo distinto, visto que as interações entre planta/fatores abióticos como luminosidade, temperatura, pluviosidade, nutrição, região, podem, claramente, influenciar, de maneira conjunta, nos componentes dos óleos aqui trabalhados.

Tabela 1 - Principais compostos encontrados nos óleos essenciais de manjeriço e melaleuca. BoaVista/Roraima (2019/20).

COMPOSTO	I.K*	MANJERICAO %	MELALEUCA %	CLASSE
$\alpha$ -pineno	920	0,7	6,4	monoterpeno
sabineno	949	0,6	-	monoterpeno
$\beta$ -pineno	952	1,2	0,9	monoterpeno
mirceno	966	0,9	0,2	monoterpeno
<i>p</i> -cimeno	991	0,2	0,5	monoterpeno
Eucaliptol (1,8-cineol)	998	14,4	57,02	monoterpeno
limoneno	1000	7,4	4,2	monoterpeno
Z- $\beta$ -ocimeno	1009	0,2	-	monoterpeno
E- $\beta$ -ocimeno	1020	1,1	-	monoterpeno
$\gamma$ -terpineno	1029	-	0,4	monoterpeno
linalool	1070	4,7	-	monoterpeno
canfora	1099	1,6	-	monoterpeno
mircenol	1134	0,4	0,3	monoterpeno
terpinen-4-ol	1148	0,6	0,9	monoterpeno
$\alpha$ -terpineol	1163	-	15,1	monoterpeno
estragol	1165	46,8	-	sesquiterpeno
carvona	1206	5,8	-	monoterpeno
$\beta$ -elemeno	1392	0,5	-	sesquiterpeno
$\beta$ -cariofileno	1418	2,1	-	sesquiterpeno
aromadendreno	1441	0,3	-	sesquiterpeno
humuleno	1451	0,9	-	sesquiterpeno
$\beta$ -farneseno	1462	0,9	-	sesquiterpeno
$\beta$ -selineno	1483	1,8	-	sesquiterpeno
chamigreno	1494	1,5	-	sesquiterpeno
$\alpha$ -bulneseno	1502	0,5	-	sesquiterpeno
espatulenol	1569	0,8	0,6	sesquiterpeno
viridiflorol	1585	-	10,6	sesquiterpeno
globulol	1594	0,2	1,2	sesquiterpeno
$\tau$ -cadinol	1632	1,2	-	sesquiterpeno

Nota\*: Índice de Kowats

## TESTES IN VITRO

Quanto a inibição do crescimento micelial (ICM), em função das doses dos dois óleos essenciais aplicadas (Tabela 2), foi observado o efeito significativo da interação entre os dois fatores avaliados, indicando que os níveis de concentrações variaram dependentemente da espécie de óleo essencial testado. Da mesma maneira que, após o desdobramento da interação, também pode-se observar que o uso do óleo de manjeriço, na maior dose ( $7,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ), foi mais eficiente aos frutos quando em comparação aos demais tratamentos,

apresentando inibição de 100% no ICM (Tabela 3). Ainda sobre o óleo de manjeriço, de modo geral, todas as doses apresentaram algum valor de inibição do ICM, enquanto que nos frutos sem o óleo essencial e sem o Tween 20, não houve qualquer efeito inibitório quanto ao crescimento micelial do fungo nestes frutos. Quanto a melaleuca, observou-se que a efetividade sobre o controle do crescimento micelial foi constatada nos frutos nas três maiores concentrações de óleo essencial aplicadas ( $4,5$ ;  $6,0$  e  $7,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ), que foram estatisticamente iguais entre si e superiores aos frutos das demais doses aplicadas.

Tabela 2 - Resumo da análise de variância para o Índice de Crescimento Micelial (IMC) de *C. musae* em função de doses de óleos essenciais de manjeriço e melaleuca. Boa Vista-RR (2019/20).

ÍNDICE DE INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL				
FONTE DE VARIAÇÃO	GL	QM	Teste 'F'	Nível de significância
Óleo (O)	1	10563,63	434,12	*
Dose (D)	6	10075,45	414,06	*
Óleo X Dose	5	1906,42	78,34	*
Resíduo	48	24,33		*
CV (%)	9,33			
<b>Média</b>		<b>52,88%</b>		

Nota: \*,\*\* e NS – Significativo ao nível de 5%, 1% e não significativo, respectivamente pelo teste F.

Tabela 2 – Valores médios do Índice de Crescimento Micelial (ICM) de *C. musae* em função de doses de óleos essenciais de manjeriço e melaleuca. Boa Vista/Roraima (2019/20).

ÍNDICE DE INIBIÇÃO MICELIAL (%)								
Tratamento	Test.	Tw	1,5 $\mu\text{L.mL}^{-1}$	3,0 $\mu\text{L.mL}^{-1}$	4,5 $\mu\text{L.mL}^{-1}$	6,0 $\mu\text{L.mL}^{-1}$	7,5 $\mu\text{L.mL}^{-1}$	M
Manjeriço	0,0 Ea	16,7 Db	20,7 Db	21,6 Db	33,3 Cb	45,4 Bb	100,0 Aa	33,95
Melaleuca	0,0 Da	25,5 Ca	28,2 Ca	43,3 Ba	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	56,71
<b>Média</b>	<b>0,0</b>	<b>21,1</b>	<b>24,45</b>	<b>32,45</b>	<b>66,65</b>	<b>95,4</b>	<b>100,0</b>	

Nota: Letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem significativamente no teste de Tukey a 5% de probabilidade

Assim, em todos os níveis de dose, o uso da melaleuca foi superior ao manjeriço, exceto quando utilizado na dose de 7,5  $\mu\text{L.mL}^{-1}$ , onde não foram observadas diferenças entre as espécies vegetais trabalhadas (Tabela 3). Nesse sentido, Sousa et al. (2012) relatam a efetividade em inibição *in vitro* do fungo *C. gloeosporioides* na cultura da manga, testando óleos extraídos de diferentes espécies como: pau rosa, hortelã e copaíba. Esses autores observaram a inibição do crescimento micelial do fungo à medida que aumentava a concentração dessa substância, assim como evidenciado neste trabalho com o óleo de manjeriço e melaleuca. Abd-ALLA & Haggag (2013), também avaliando o efeito fungitóxico do óleo de manjeriço, verificaram que a utilização do óleo na concentração de 150  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  inibiu o crescimento micelial do fungo *C.*

*gloeosporioides* em 38,5%, havendo ainda 64,7% de inibição da germinação de esporangios do patógeno. Portanto, confirmando com os resultados aqui apresentados e também de acordo com Barbosa et al. (2015), o óleo essencial de melaleuca teria capacidade inibitória sobre o *C. musae*, podendo constituir opção de controle em cultivos orgânicos e/ou sistemas de manejo integrado para cultura da banana, além de poder ser alternativa viável, mais barata e sustentável para o produtor (SOUSA et al., 2012).

Quando as concentrações de cada espécie vegetal foram avaliadas em diferentes períodos (Tabela 4), foi identificado efeito significativo da interação dose x tempo sobre o índice de crescimento micelial no manjeriço e na melaleuca.

Tabela 4 – Resumo da análise de variância para o Índice de Velocidade do Crescimento Micelial (IVCM) com aplicação do óleo essencial de manjeriço e melaleuca em cinco doses. Boa Vista/Roraima (2019/20).

FONTE DE VARIAÇÃO	ÍNDICE DE VELOCIDADE DO CRESCIMENTO MICELIAL							
	MANJERIÇO				MELALEUCA			
	GL	QM	Teste 'F'	Nível de Significância	GL	QM	Teste 'F'	Nível de Significância
Dose (D)	7	41,62	100,58	**	7	37,60	233,27	**
Resíduo 'a'	16	0,41	-		24	0,16	-	
Tempo	3	21,25	48,28	**	5	25,03	114,99	**
Dose x Tempo	21	2,35	5,34	**	35	5,39	24,78	**
Resíduo 'b'	112	0,44			168	0,21		
CV 1 (%)		28,71				39,79		
CV 2 (%)		29,61				46,23		
<b>Média (%)</b>		<b>2,24</b>				<b>1,00</b>		

Nota: \*,\*\* e NS – Significativo ao nível de 5%, 1% e não significativo, respectivamente pelo teste F.

Ainda quanto ao Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM), para o óleo de manjerição (Figura 2A), o IVCM foi efetivamente afetado pela maior dose do óleo essencial (7,5 µL.mL<sup>-1</sup>), a qual impossibilitou o crescimento do fungo em todos os dias de avaliação. As demais doses, principalmente a D3 (4,5 µL.mL<sup>-1</sup>) e D4 (6,0 µL.mL<sup>-1</sup>), influenciaram negativamente o crescimento do fungo, porém mais efetivamente após o segundo dia de avaliação, também ficando evidente o efeito sobre o patógeno quando comparado à testemunha. Para a melaleuca, as maiores doses: D3 (4,5 µL.mL<sup>-1</sup>); D4 (6,0 µL.mL<sup>-1</sup>) e D5 (7,5 µL.mL<sup>-1</sup>); mostraram-se eficientes sobre a velocidade de crescimento do fungo desde o primeiro dia de avaliação, confirmando a efetividade no controle de *C. musae*. Quando comparado ao Tween e ausência do óleo (dose 0 µL.mL<sup>-1</sup>),

as demais doses mostraram-se mais eficientes até o segundo dia de avaliação (Figura 2B). Assim, corroborando com os resultados aqui encontrados, Martins et al. (2010), utilizando o óleo essencial de *M. alternifolia*, obtiveram redução significativa da velocidade do crescimento micelial dos fungos testados. Esses mesmos autores também observaram que associando o aumento até a maior adose empregada, maior será o controle do patógeno. Dessa forma, e também corroborando aos resultados aqui obtidos, Sefu (2015), que investigaram o efeito de diferentes doses de óleos essenciais de gengibre e canela, sob o controle da antracnose em frutos de manga, atestaram a inibição da velocidade de crescimento em 80 a 90%, nas diferentes concentrações dos óleos testados.

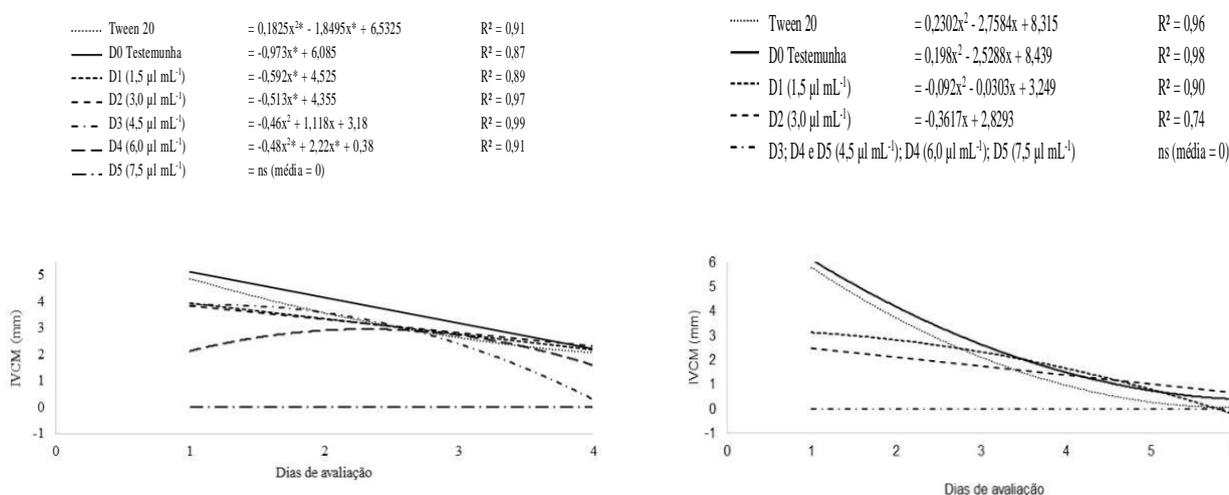


Figura 2 – Índice de Velocidade de Crescimento Micelial com o tratamento de óleo essencial de manjerição (A) e melaleuca (B). Boa Vista-RR (2019/20).

### TESTES *IN VIVO*

Por meio da análise de variância foi observado que houve interação significativa das doses e dos respectivos óleos essenciais, em função do tempo, tanto para incidência quanto para a severidade (Tabela 5), demonstrando assim que os óleos utilizados neste estudo apresentaram adequada atividade fungicida, o mesmo relatado por

Ramos et al. (2016). Nesse sentido, os óleos essenciais, segundo Turina et al. (2016), podem causar alterações na bicamada lipídica da membrana celular do microrganismo, aumentando assim sua permeabilidade, no que acarreta na liberação dos constituintes intracelulares vitais ou ainda causados em seus núcleos enzimáticos, o que pode ser considerado muito promissor do ponto de vista do controle microbiano.

Tabela 5 – Resumo da análise de variância para a incidência e severidade com a aplicação do óleo essencial de manjeriço e melaleuca em cinco doses em função do tempo. Boa Vista/Roraima (2019/20).

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA INCIDÊNCIA E SEVERIDADE						
FONTE DE VARIÂÇÃO	MANJERIÇO			MELALEUCA		
	GL	Incidência	Severidade	GL	Incidência	Severidade
		QUADRADO MÉDIO			QUADRADO MÉDIO	
Dose	5	3323,53**	1633,30**	5	814,92 <sup>NS</sup>	1490,94**
Resíduo A	18	264,98	32,75	18	747,62	4,72
Tempo	5	44193,39**	6418,85**	5	33628,34**	12729,19**
Dose X Tempo	25	1145,28**	514,45**	25	266,70 <sup>NS</sup>	394,60**
Resíduo B	90	152,36	27,21	90	278,47	3,98
CV 1 (%)	-	43,65	50,60	-	39,49	11,96
CV 2 (%)	-	33,10	46,13	-	34,62	10,98
<b>Média</b>	-	<b>37,29</b>	<b>11,31</b>	-	<b>30,55</b>	<b>18,18</b>

Nota: \*,\*\* e NS – Significativo ao nível de 5%, 1% e não significativo, respectivamente pelo teste F.

Assim, ao longo do período experimental, foi possível observar que a elevação das doses do óleo de manjeriço mostrou-se eficiente no controle do desenvolvimento do fungo (Figura 3A), uma vez que a incidência foi negativamente afetada com incremento das doses do óleo. Observou-se também que existe diminuição da incidência da doença, principalmente na maior dose, que por sua vez atrasou o crescimento do fungo em quatro dias, quando em comparação aos frutos tratados dos demais tratamentos. Efeitos semelhantes do óleo de manjeriço foram obtidos também por Vilaplana et al. (2018) que, utilizando 500  $\mu\text{L L}^{-1}$  do óleo de tomilho, conseguiram mesma eficácia. Segundo esses autores, a presença do óleo essencial foi mais efetiva do que o fungicida comercialmente utilizado. O mesmo resultado foi observado por Abd-alla & Haggag (2013) que ao testar a maior dose do óleo de manjeriço em manga conseguiram redução na incidência de 94,4%, reafirmando assim a eficácia do óleo. Aspecto este positivo para a comercialização dos frutos, pois a preferência do consumidor sempre está relacionada a qualidade do fruto e o uso de componentes e processos naturais. O mesmo com o óleo essencial de melaleuca (Figura 3B), onde os frutos dos tratamentos se comportaram de modo semelhante, porém não diferindo estatisticamente entre si, apresentando apenas variação ao longo do tempo avaliado. Dessa forma, não houve inibição eficaz no surgimento do fungo nas bananas tratadas com óleo essencial de melaleuca, sendo que a porcentagem de bananas com a presença do patógeno foi superior a 90% das bananas tratadas com 0  $\mu\text{L mL}^{-1}$  do óleo essencial.

No decorrer do período experimental, conforme o tipo óleo essencial (em especial com o óleo de manjeriço) e a dose empregada no controle de *C. musae*, foi possível constatar o efeito inibitório e promissor sobre este fungo. Contudo, essa atuação pode variar em cada região, como já descrito anteriormente, assim como as espécies de vegetais utilizadas (Ramos et al., 2016). Outro fator analisado,

e que seguramente pode ter comprometido o efeito do óleo de melaleuca quanto a incidência do patógeno, possa ser a fixação do óleo de nos frutos, a qual apresentou certos problemas, possivelmente devido a ineficácia da sua aplicação em temperatura ambiente que, dado a sua volatilidade, apresentou-se ausente nos últimos dias de avaliação. Além disso, outra hipótese observada e já debatida em estudos recentes, trata-se da aderência do confídio à casca do fruto, em especial nas fases de germinação, formação do apressório e posterior penetração na casca. Com isso, pode-se verificar dificuldade no contato direto dos compostos antifúngicos do óleo essencial aplicado contra o patógeno, assim como relatado por Rodrigues et al. (2018), logo não alcançando por completo, em especial nos frutos tratados com o óleo de melaleuca.

Quanto a severidade da doença (Figura 3C), observou-se que os frutos tratados com óleo de manjeriço apresentaram, significativamente, uma progressão mais lenta ao longo de tempo, conforme a elevação das doses do óleo empregadas. Desta maneira, a dose 5 (7,5  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ), considerado o melhor tratamento, proporcionou aos frutos notável redução na incidência da doença. Da mesma maneira que os demais frutos tratados com o presente óleo, em distintas doses, também mantiveram a severidade abaixo de 40% até o oitavo dia após os tratamentos, mostrando a eficiência do óleo de manjeriço no controle da severidade da doença causada pelo *C. musae* em bananas da cv Prata. Semelhantemente ao óleo de manjeriço, o efeito da aplicação das doses crescentes do óleo de melaleuca nos frutos, quanto a severidade da doença (Figura 3D), proporcionou a menor progressão da doença nas bananas “Prata” trabalhadas no presente experimento. Nesse sentido, a dose mais elevada (7,5  $\mu\text{L mL}^{-1}$ ) apresentou o melhor efeito quanto ao menor crescimento das manchas necróticas provocadas pelo fungo, reduzindo-as em 65% quando comparadas aos frutos não submetidos ao óleo essencial de melaleuca. Dado este concordante

com Andrade & Vieira (2016), que também atestaram existir relação de inibição gradativa do fitopatógenos com o aumento das concentrações de óleos testadas. Dessa forma, com a realização do experimento, foi possível constatar que existem

vários fatores que estão relacionados com a interação do patógeno, fruto e ambiente, os quais determinarão o grau de incidência e a severidade da doença.

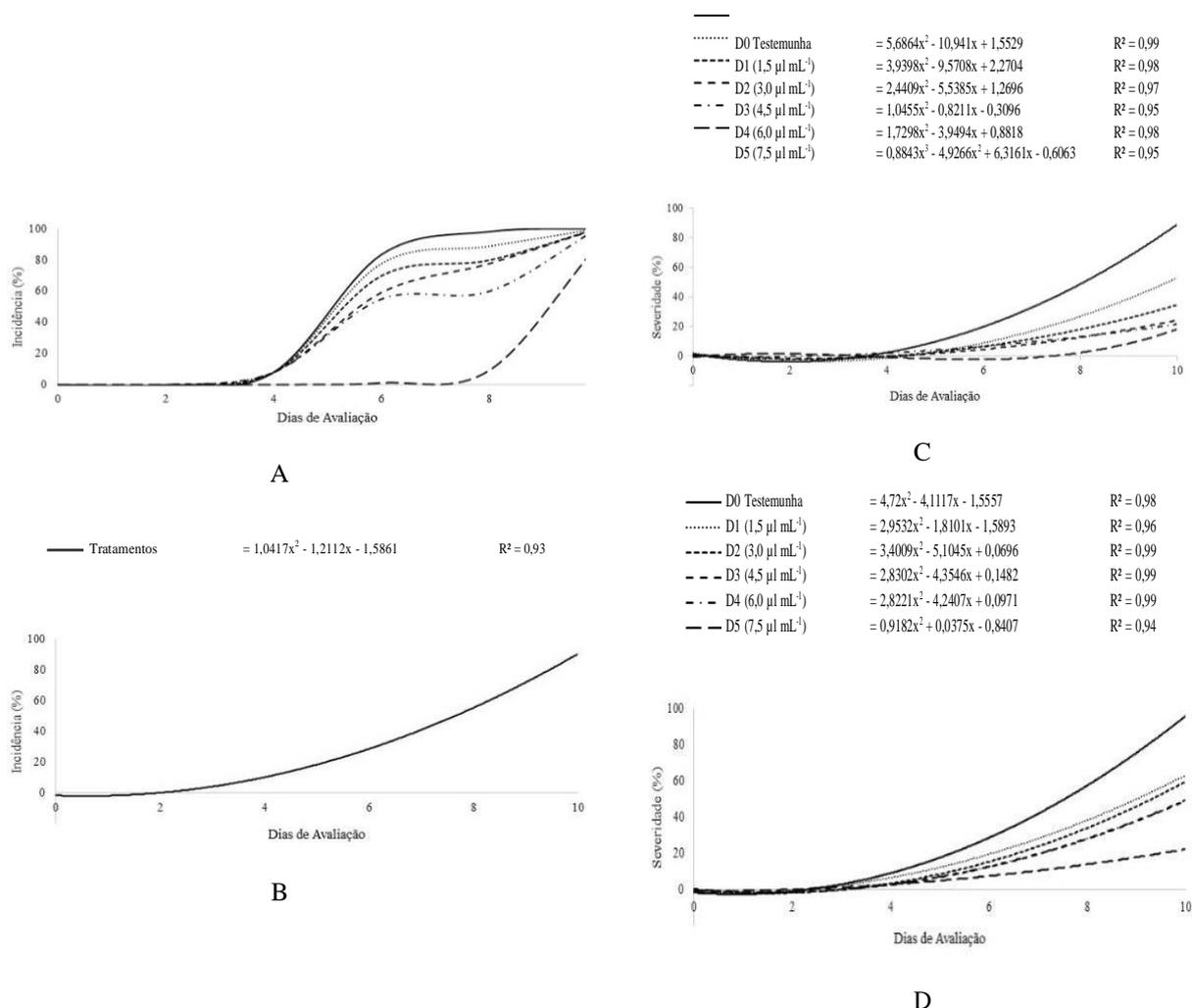


Figura 3 - Incidência de *C. musae* com o tratamento de óleo essencial de manjericão (A), melaleuca (B) e severidade de *C. musae* com o tratamento de óleo essencial de manjericão (C) e melaleuca (D). Boa Vista- RR (2019/20).

Assim, quanto a aplicabilidade *in vivo* dos óleos essenciais, em relação a antracnose, é necessário levar em consideração que podem existir diferentes quimiótipos, nos quais atuam na sinergia entre os componentes presentes do óleo essencial, modificando assim o mecanismo de ação, como os aqui estudados. Nesse contexto, Idris et al. (2015), observaram os mesmos resultados compatíveis com o trabalho aqui apresentado, confirmando o efeito antifúngico e sugerindo que os óleos essenciais podem ser considerados como vias alternativas, ambientalmente seguras, econômicas e ideais para substituição aos fungicidas sintéticos.

### TESTES DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DOS FRUTOS

De acordo com análise de variância do óleo de manjericão (Tabela 6), observou-se que as doses diferiram significativamente para maioria das variáveis analisadas, exceto para coloração (L\*, C\* eh°), umidade e pH, as quais obtiveram diferenças apenas no tempo. Contudo, de acordo com a análise de variância para o óleo de melaleuca (Tabela 7), apenas a variável pH não obteve interação significativa entre dose e tempo, sendo diferente ao longo do tempo.

Tabela 6 - Análise de variância dos atributos de qualidade com a aplicação do óleo essencial de manjeriçãem doses em função do tempo. Boa Vista/Roraima (2019/20).

ANÁLISE DE ATRIBUTOS DE QUALIDADE DOS FRUTOS											
FONTE DE VARIAÇÃO	GL	PMF	Cor (L)	Cor (C)	Cor (h°)	Umid.	pH	SS	AT	Firm.	Esc. de Mat.
<b>QUADRO MÉDIO</b>											
Dose	5	94,00**	48,22 <sup>NS</sup>	31,41 <sup>NS</sup>	539,90 <sup>NS</sup>	31,14 <sup>NS</sup>	0,18 <sup>NS</sup>	45,18**	0,01*	70,74**	3,77*
Resíduo a	18	4,46	45,19	61,78	333,58	12,38	0,11	0,18	0,00	11,69	1,08
Tempo	5	2515,13*	237,69*	200,09*	4239,84*	252,91*	3,14**	1340,22*	0,40*	8619,86*	88,87*
Dose x Tempo	25	21,56**	36,95 <sup>NS</sup>	27,58 <sup>NS</sup>	42,54 <sup>NS</sup>	6,90 <sup>NS</sup>	0,172 <sup>NS</sup>	11,36**	0,00*	18,45**	0,80**
Resíduo b	90	2,56	36,47	27,79	26,16	9,25	0,107	0,25	0,00	7,67	0,35
CV 1 (%)	-	15,68	11,99	19,68	18,79	4,84	6,53	2,28	1,91	12,45	24,84
CV 2 (%)	-	11,88	10,77	13,20	5,26	4,19	6,42	2,65	2,22	10,08	14,12
<b>Média</b>	-	<b>13,47</b>	<b>56,06</b>	<b>39,93</b>	<b>97,19</b>	<b>72,64</b>	<b>5,10</b>	<b>19,04</b>	<b>0,24</b>	<b>27,47</b>	<b>4,20</b>

Nota:\*,\*\* e NS – Significativo ao nível de 5%, 1% e não significativo, respectivamente pelo teste F.

Tabela 7 – Análise de variância dos atributos de qualidade com a aplicação do óleo essencial de melaleucaem doses em função do tempo. Boa Vista/Roraima (2019/20)

ANÁLISE DE ATRIBUTOS DE QUALIDADE DOS FRUTOS											
FONTE DE VARIAÇÃO	GL	PMF	Cor (L)	Cor (C)	Cor (h°)	Umid.	pH	SS	AT	Firm.	Esc. de Mat.
<b>QUADRO MÉDIO</b>											
Dose	5	27,43**	36,03**	36,56**	536,40**	33,98**	0,11 <sup>NS</sup>	33,55**	0,00**	113,35**	2,01 <sup>NS</sup>
Resíduo a	18	0,35	0,99	0,92	0,72	0,67	0,13	0,24	0,00	0,25	0,93
Tempo	5	3154,28**	527,09**	292,45**	5127,37**	401,68**	4,15**	986,37**	0,14**	6779,69**	88,27**
Dose x Tempo	25	8,37**	42,46**	26,11**	98,15**	12,31**	0,02 <sup>NS</sup>	15,15**	0,00**	45,83**	0,56*
Resíduo b	90	0,39	0,72	0,66	0,78	0,62	0,02	0,22	0,00	0,32	0,29
CV 1 (%)	-	4,27	1,85	2,46	0,87	1,15	7,29	2,68	10,02	2,09	23,53
CV 2 (%)	-	4,48	1,58	2,08	0,89	1,11	2,95	2,60	7,81	2,37	13,26
<b>Média</b>	-	<b>13,99</b>	<b>54,14</b>	<b>39,20</b>	<b>98,70</b>	<b>71,67</b>	<b>5,06</b>	<b>18,48</b>	<b>0,26</b>	<b>23,95</b>	<b>4,10</b>

Nota:\*,\*\* e NS – Significativo ao nível de 5%, 1% e não significativo, respectivamente pelo teste F.

Quanto a variável perda de massa das bananas tratadas com os óleos essenciais (Figura 4Ae 4B), houve diferença significativa a 1% entre a interação das doses e o tempo. Isso, por sua vez, é importante em relação a comercialização do produto, pois a aparência do fruto é considerada essencial no momento da compra. Logo, as injúrias na casca são pouco toleradas, o que revela grande desafio, pois o ataque de patógenos também podem contribuir ao aumento da respiração do fruto, o que consequentemente pode aumentar a perda de umidade dos mesmos (Lemos, 2014).

Nesse sentido, segundo a Figura 4A, a aplicação do óleo essencial de manjeriçã, em suas diferentes doses ao longo do tempo, demonstrou efeito sobre a perda da massa fresca (PMF) dos frutos. Nesse sentido, a dose 5 (7,5 µL.mL<sup>-1</sup>), durante os dias de avaliação, apresentou-se mais eficiente ao retardar a perda de massa fresca dos frutos destes tratamentos. Fato ocorrido, possivelmente, também pelo controle da incidência e severidade da antracnose nesses frutos (como já mencionado), em

que a presença do fungo no tecido pode desencadear estímulo à senescência, culminando no aceleração da atividade respiratória dos frutos (Nogueira et al., 2013).

Na aplicação do óleo de melaleuca quanto a redução nas perdas de massa fresca dos frutos (Figura 4B), detectou-se o retardo dessas perdas com a aplicação das doses 1 (1,5 µL.mL<sup>-1</sup>) e 5 (7,5 µL.mL<sup>-1</sup>) de óleo de melaleuca nos frutos. Aqui vale destacar que não se encontra outra explicação, que não a baixa aderência do óleo de melaleuca na epiderme das bananas, assim como já destacado na discussão quanto a incidência do patógeno nos frutos (Figura 3B), de modo com que as doses intermediárias não tenham proporcionado o mesmo efeito aos frutos quanto submetidos as doses 1 e 5 com o óleo de melaleuca. Também é importante destacar que valores elevados da perda da massa fresca não são desejados, uma vez que a desidratação pode alterar as propriedades físicas, fisiológicas, patológicas, estéticas, nutricionais e valor econômico do fruto. Assim, com o manejo adequado

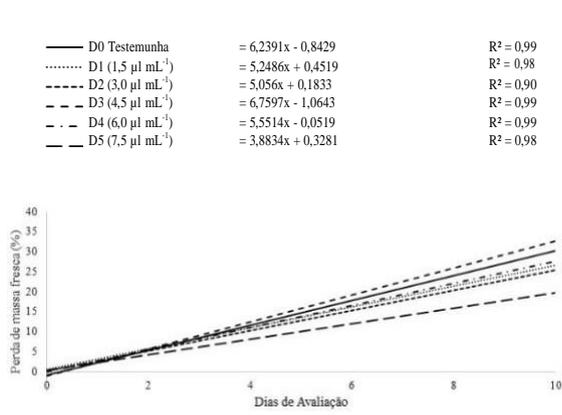
no controle das perdas de umidade, a vida útil dos frutos seria potencializada, influenciando também na melhor demanda dos consumidores, pois somente os frutos de qualidade, livres de doenças e pragas, distúrbios fisiológicos, podem conquistar novos mercados (Cruz, 2010), o que de certa forma foi visto nos frutos tratados com ambos óleos essenciais.

Quanto a variável firmeza da polpa dos frutos, para os dois óleos testados (Figuras 4C e 4D) e levando-se em consideração a interação entre as doses e o tempo de avaliação, observou-se diferença significativa a 1% de probabilidade. Também é importante citar que o desenvolvimento da firmeza da polpa nas bananas “Prata” aqui trabalhadas se mostrou característica (Prill et al., 2011 e 2012), ocorrendo o decréscimo desta variável ao longo do tempo. Nesse sentido, segundo esses autores, a firmeza da polpa das bananas pode sofrer modificações devido as condições climáticas da região, cultivar utilizada, grau de colheita, tamanho do fruto e até mesmo o desenvolvimento de doenças durante a etapa de pós-colheita. Assim, no presente experimento, é visto que a firmeza da polpa apresentou ampla variação entre os frutos dos tratamentos analisados, onde a mesma foi mantida em patamares elevados por mais tempo nos frutos submetidos a dose 5 ( $7,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ), para o óleo de manjerição (Figura 4C), a partir do segundo dia, se estendendo até o oitavo dia de avaliação. Contudo, nos frutos tratados com o óleo de melaleuca nas doses 3 ( $4,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ) e 5 ( $7,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ) (Figura 4D), diferenciaram-se dos demais frutos também a partir do segundo dia, seguindo assim até o oitavo dia de avaliação, se aproximando a partir daí do mesmo comportamento observado nos frutos não submetidos ao óleo e até mesmo quanto as demais doses avaliadas. Em testes, Perumal (2017), estudando o uso de óleo de tomilho, descobriu-se que na concentração de  $66,7 \mu\text{L.mL}^{-1}$ , é possível reduzir significativamente a incidência da doença e gravidade da podridão de antracnose, logo melhorando a manutenção da firmeza desses frutos. As médias finais obtidas neste estudo, pelos dois óleos essenciais, estão de acordo com os resultados obtidos por Marques et al. (2017), que também analisou a firmeza de polpa de bananas da cultivar “Prata”.

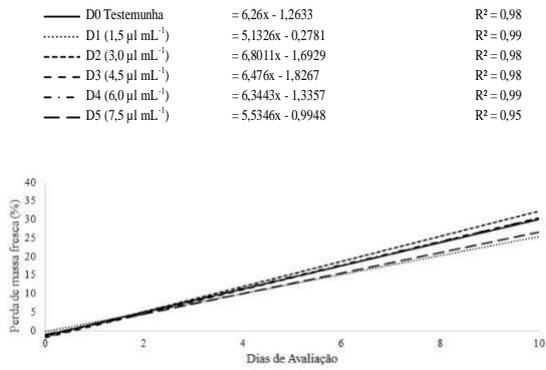
É possível notar que a umidade dos frutos submetidos a aplicação do óleo de manjerição (Figura 4E) apresentou uma diminuição linear, sem diferença significativa entre as doses testadas. Enquanto para os frutos tratados com óleo de melaleuca (Figura 4F), observou-se diferença significativa nas doses 2 ( $3,0 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ), 3 ( $4,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ), 4 ( $6,0 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ) e 5 ( $7,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ), as quais tiveram menor perda da umidade em comparação aos frutos dos demais tratamentos, logo pressupõe-se que a manutenção dessa turgidez, por um maior período de tempo, também possa ter proporcionado efeito

positivo na qualidade visual desses frutos. Desta forma, o grau de umidade expressa à quantidade de água contida nos frutos e pode ser considerado de extrema importância por exercer influência na qualidade em fatores como: conservação, sensibilidade a danos mecânicos, na qualidade sanitária, dentre outros. Nesse sentido, vale destacar a excelente possibilidade na ampliação das estratégias agrônômicas para o controle do fungo compreende, além da própria utilização moderada dos produtos químicos, a utilização dos óleos essenciais de manjerição e melaleuca aqui testados, pois é crescente a preocupação com o conceito de qualidade e da preservação do ambiente, assim como a manutenção da turgidez adequada dos frutos.

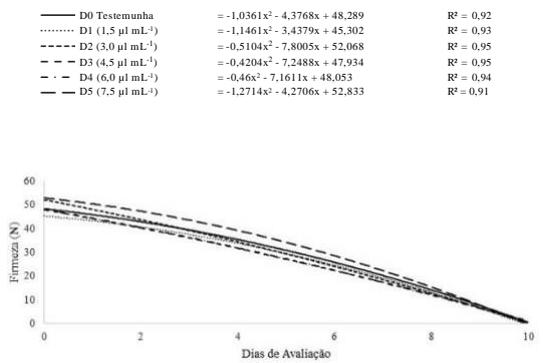
As variações na escala de maturação observada na casca das bananas tratadas com os óleos de manjerição e melaleuca (Figuras 4G e 4H) ocorreram, naturalmente, durante o amadurecimento dos frutos e, provavelmente, estão relacionadas com os processos naturais de degradação da clorofila, ligados ao metabolismo respiratório dos frutos. Nesse sentido, observou-se que os frutos não expostos ao óleo essencial de manjerição (Figura 3G) evoluíram para a coloração próxima ao nível 7 apenas no final das avaliações. Porém, os frutos que receberam o óleo começaram a se diferenciar logo após a aplicação, que ocorreu no dia 0 e, conforme os dias de avaliação avançavam, esta diferença foi se acentuando, ao qual pode-se verificar que a aplicação da dose 5 ( $7,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ) nos frutos proporcionou as melhores notas na escala subjetiva de valores quanto a maturação dos frutos. Seguindo o mesmo comportamento, observou-se a progressão linear dos frutos na escala de maturação, a partir das diferentes doses do óleo essencial de melaleuca (Figura 3H) aplicadas, apresentando degradação dos pigmentos de clorofila inferior aos frutos que não haviam sido submetidos aos óleos essenciais e, ocorrendo diferenciação entre as doses, principalmente, entre os frutos tratados com as doses 1 ( $1,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ) e 5 ( $7,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ). Dessa forma, a aplicação dos óleos essenciais nos frutos pode ser considerada satisfatória, pois a alteração irregular da maturação nos frutos poderia causar transtornos na comercialização dos mesmos. Sousa et al. (2012), aplicando óleos essenciais de pau rosa, hortelã e copaíba, obteve êxito ao inibir o crescimento fúngico de *C. gloeosporioides* em pimentas. Contudo, a presença do óleo ocasionou desordens na coloração, o que, em termos comerciais, poderia prejudicar mercadologicamente, resultado não observado no presente trabalho. Segundo Silva et al. (2018), durante o amadurecimento de bananas, a degradação da clorofila é intensa, ficando visível a preexistência dos pigmentos carotenóides, de coloração verde-amarelada a amarela.



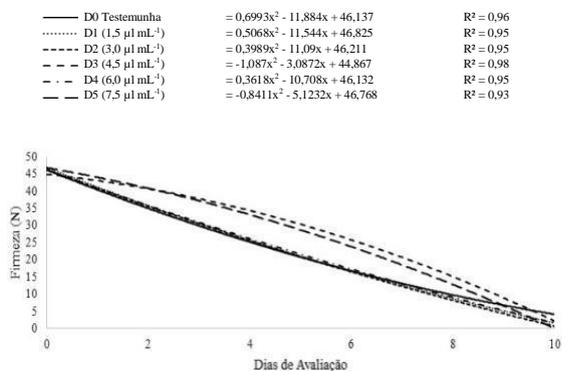
A



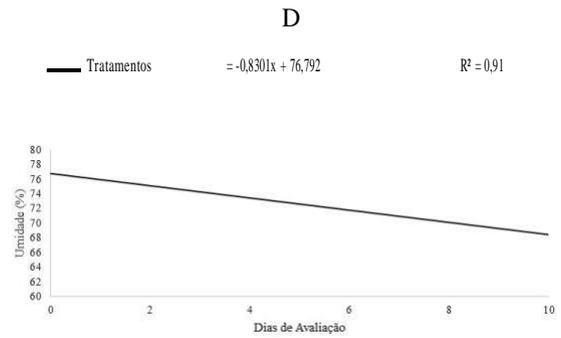
B



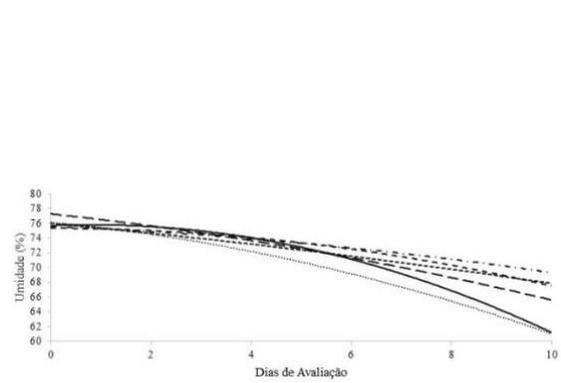
C



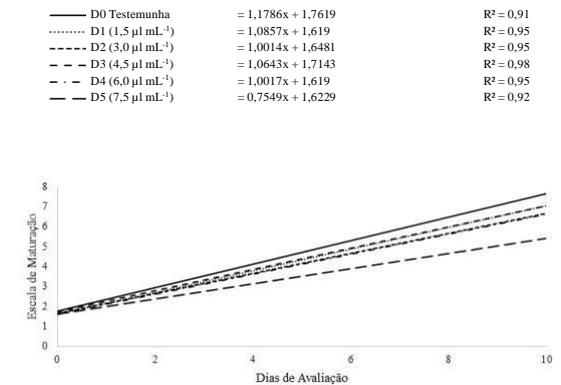
C



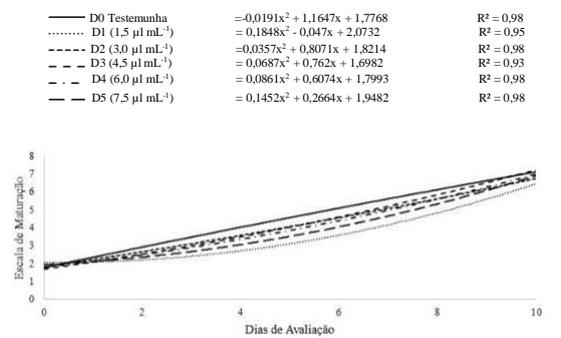
E



F



G



H

Figura 4 - PMF da banana ‘prata’ com óleo essencial de manjeriço (A) e melaleuca (B), firmeza da banana ‘prata’ com óleo essencial de manjeriço (C) e melaleuca (D), umidade da banana com óleo essencial de manjeriço (E) e melaleuca (F) e escala de maturação com óleo essencial de manjeriço (G) e melaleuca (H).Boa Vista-RR (2019/20)

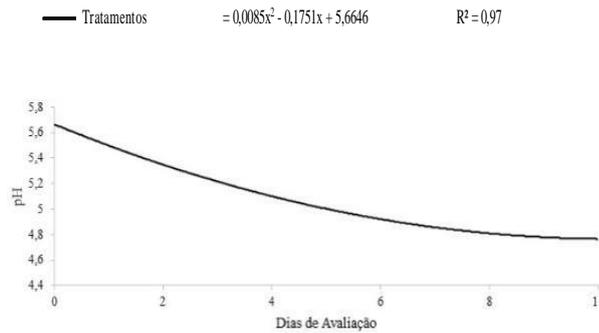
Na Figura 5A é verificado o comportamento do óleo essencial de manjeriço quanto aos valores de pH ao longo dos dias de avaliação, não sendo observada variação entre as doses testadas nos frutos. Entretanto, os valores observados no presente experimento estão de acordo com os dados apresentados por Prill. et al. (2011 e 2012) que relataram o intervalo no pH entre 4,4 a 5,4 na banana cv Prata em amadurecimento. Nesse sentido, vale ressaltar que a banana, diferente de outros frutos, apresenta diminuição no pH durante o amadurecimento devido a degradação do amido e a consequente liberação de íons de  $H^+$  no citoplasma (Borges, 2011).

Conforme análise de variância para a variável pH, comparando os dois óleos testados, apenas o fator tempo foi significativo a 1% de probabilidade. Desta forma, os frutos submetidos ao óleo essencial de manjeriço apresentaram comportamento quadrático quanto ao pH (Figura 5A), se estabilizando entre o 8º e 10º dia. No entanto, os frutos tratados com o óleo de melaleuca apresentaram comportamento linear no mesmo período avaliado (Figura 5B), demonstrando assim efeito neutro do uso desse óleo essencial em reduzir o metabolismo dos frutos, independente da presença ou ausência do tratamento. Corroborando a isso, Adjou (2017), trabalhando com o óleo essencial de menta, relatou que na dose de  $2,5 \mu L.mL^{-1}$  não há variação do pH, mesmo após 15 dias de armazenamento, ainda que a aplicação em si tenha proporcionado bons índices de carotenóides e vitamina C, além de controlar a população microbiana.

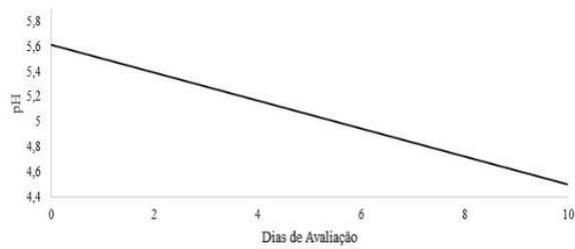
Para a acidez total dos frutos (Figura 5C e 5D), os dois óleos apresentaram diferença entre as doses aplicadas, também a 1% de probabilidade, sendo que os valores médios aqui apresentados se enquadram aos resultados publicados por Borges (2011), no qual o autor afirmou que a acidez da polpa apresenta comportamento inverso ao encontrado para o pH dos frutos. Dessa forma, os teores de acidez total no presente experimento se elevaram

conforme o tempo, apresentando o ponto máximo aos dez dias de avaliação, sendo que os frutos submetidos aos tratamentos com óleo essencial de manjeriço (Figura 5C) apresentaram-se com médias superiores em comparação aos frutos sem o óleo ao final do experimento. Quanto aos frutos tratados com óleo essencial de melaleuca (Figura 5D), após os dez dias de avaliação, esses apresentaram valores semelhantes de acidez. Destaca-se que os resultados obtidos e aqui apresentados para o presente experimento estão de acordo com a faixa aceitável de 0,17 a 0,67% de ácido málico citado por Silva et al. (2018). Sobre a variável analisada é visto que o consumo dos ácidos orgânicos no processo respiratório do fruto é o principal responsável pela diminuição da acidez e o aumento do pH (Santos et al., 2011). Assim, observa-se, a partir dos resultados da variância, em relação aos óleos testados, interação significativa da acidez total quanto as doses e o tempo de armazenamento, destacando que os menores valores de ácidos orgânicos foram encontrados para os frutos sem a presença do óleo de manjeriço.

De acordo com a análise de variância, a interação das doses x tempo de avaliação também foi significativa a 1% de probabilidade para os sólidos solúveis, para os dois óleos essenciais testados (Figuras 5E e 5F). Nesse sentido, Santos et al. (2011) afirmaram que com o avanço da maturação, o amido é degradado e passa a ser convertido em açúcares solúveis, o que torna a firmeza do fruto menor além do aumento dos sólidos solúveis, como verificado aqui. Assim, os frutos submetidos as doses 4 ( $6,0 \mu L.mL^{-1}$ ) e 5 ( $7,5 \mu L.mL^{-1}$ ) com o óleo de manjeriço (Figura 5E), apresentaram valores de sólidos solúveis inferiores já a partir do segundo dia de avaliação, denotando aos mesmos um estágio de maturação menos avançado em comparação aos demais frutos. Já para o óleo de melaleuca (Figura 4F), os frutos tratados com as doses 3 ( $4,5 \mu L.mL^{-1}$ ) e 5 ( $7,5 \mu L.mL^{-1}$ ), a partir do quarto dia, decresceram linearmente paralelo aos frutos das outras doses aplicadas, não sendo constatado o mesmo efeito que nos frutos tratados com o óleo de manjeriço.

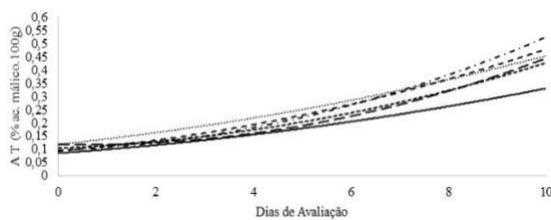


A



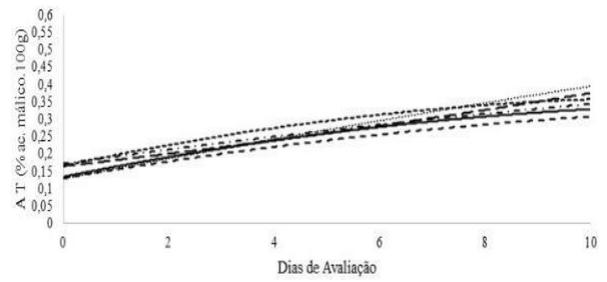
B

— D0 Testemunha	= 0,0046x <sup>2</sup> + 0,0256x + 0,085	R <sup>2</sup> = 0,97
..... D1 (1,5 µl mL <sup>-1</sup> )	= 0,0057x <sup>2</sup> + 0,0383x + 0,1186	R <sup>2</sup> = 0,97
----- D2 (3,0 µl mL <sup>-1</sup> )	= 0,01x <sup>2</sup> + 0,0143x + 0,1043	R <sup>2</sup> = 0,98
----- D3 (4,5 µl mL <sup>-1</sup> )	= 0,0091x <sup>2</sup> + 0,0313x + 0,0932	R <sup>2</sup> = 0,97
- . - D4 (6,0 µl mL <sup>-1</sup> )	= 0,0143x <sup>2</sup> + 0,014x + 0,0957	R <sup>2</sup> = 0,99
--- D5 (7,5 µl mL <sup>-1</sup> )	= 0,0148x <sup>2</sup> - 0,0092x + 0,1189	R <sup>2</sup> = 0,99



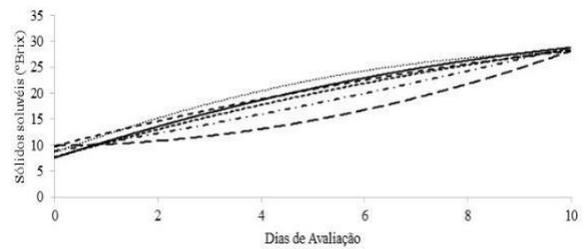
C

— D0 Testemunha	= -0,017x <sup>2</sup> + 0,1437x + 0,0196	R <sup>2</sup> = 0,96
..... D1 (1,5 µl mL <sup>-1</sup> )	= -0,0012x <sup>2</sup> + 0,0594x + 0,1296	R <sup>2</sup> = 0,99
----- D2 (3,0 µl mL <sup>-1</sup> )	= -0,0054x <sup>2</sup> + 0,0651x + 0,1664	R <sup>2</sup> = 0,96
----- D3 (4,5 µl mL <sup>-1</sup> )	= -0,0032x <sup>2</sup> + 0,0515x + 0,1307	R <sup>2</sup> = 0,99
- . - D4 (6,0 µl mL <sup>-1</sup> )	= -0,0014x <sup>2</sup> + 0,0414x + 0,1729	R <sup>2</sup> = 0,94
--- D5 (7,5 µl mL <sup>-1</sup> )	= 0,0016x <sup>2</sup> + 0,034x + 0,1654	R <sup>2</sup> = 0,97



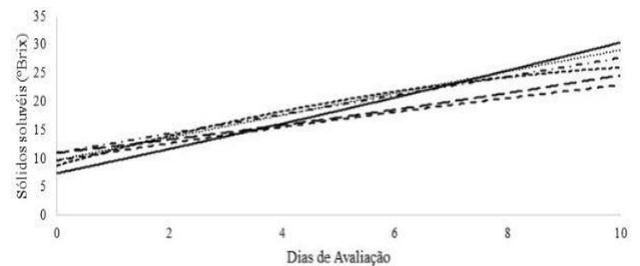
D

— D0 Testemunha	= -0,4395x <sup>2</sup> + 6,4399x + 7,5704	R <sup>2</sup> = 0,94
..... D1 (1,5 µl mL <sup>-1</sup> )	= -0,6855x <sup>2</sup> + 7,2971x + 8,5996	R <sup>2</sup> = 0,96
----- D2 (3,0 µl mL <sup>-1</sup> )	= -0,2991x <sup>2</sup> + 5,643x + 7,6811	R <sup>2</sup> = 0,98
----- D3 (4,5 µl mL <sup>-1</sup> )	= -0,2811x <sup>2</sup> + 5,0836x + 9,8107	R <sup>2</sup> = 0,96
- . - D4 (6,0 µl mL <sup>-1</sup> )	= 0,1539x <sup>2</sup> + 3,2435x + 8,8636	R <sup>2</sup> = 0,96
--- D5 (7,5 µl mL <sup>-1</sup> )	= 0,6786x <sup>2</sup> + 0,2686x + 9,86	R <sup>2</sup> = 0,99



E

— D0 Testemunha	= -0,722x <sup>2</sup> + 9,4818x + 0,0368	R <sup>2</sup> = 0,98
..... D1 (1,5 µl mL <sup>-1</sup> )	= -0,0275x <sup>2</sup> + 4,0029x + 9,7364	R <sup>2</sup> = 0,97
----- D2 (3,0 µl mL <sup>-1</sup> )	= -0,4375x <sup>2</sup> + 5,6289x + 8,7864	R <sup>2</sup> = 0,98
----- D3 (4,5 µl mL <sup>-1</sup> )	= -0,0932x <sup>2</sup> + 3,1138x + 9,655	R <sup>2</sup> = 0,98
- . - D4 (6,0 µl mL <sup>-1</sup> )	= -0,0143x <sup>2</sup> + 3,4146x + 10,983	R <sup>2</sup> = 0,96
--- D5 (7,5 µl mL <sup>-1</sup> )	= 0,0979x <sup>2</sup> + 2,2373x + 10,981	R <sup>2</sup> = 0,94



F

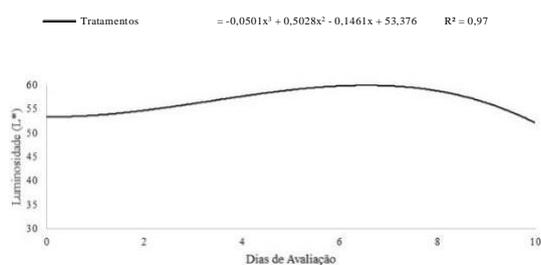
Figura 5 - pH da banana 'prata' em função do tempo com óleo essencial de manjericao (A) e melaleuca (B), AT da banana 'prata' em função do tempo com óleo essencial de manjericao (C) e melaleuca (D) e sólidos solúveis da banana em função do tempo com óleo essencial de manjericao (E) e melaleuca (F). Boa Vista- RR (2019/20)

Sobre a variável luminosidade (Figuras 6A e 6B), destaca-se que houve comportamento diferente entre os óleos essenciais utilizados. Sendo assim, a aplicação de óleo de manjerição (6A) nos frutos não apresentou diferença significativa entre as doses, sendo apenas notada tal significância ao longo do tempo. As avaliações realizadas na casca dos frutos revelaram que os frutos tratados com óleo de manjerição apresentaram oscilações entre as coordenadas 50 e 60, onde foram crescentes até ao sexto dia, sendo valores semelhantes aos apresentados por Silva et al., (2010), que obteve valores médios de  $L^*$  de 53,86; 53,97 e 43,47. Para a utilização do óleo essencial de melaleuca nos frutos (6B) observou-se diferentes respostas conforme a dose aplicada, havendo oscilações da luminosidade, em destaque aos frutos submetidos as doses 4 ( $6,0 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ), 3 ( $4,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ) e 2 ( $3,0 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ), que durante o sexto e oitavo dia apresentaram coloração mais clara. Corroborando com os resultados aqui obtidos, Ribeiro (2006) encontrou valores médios similares de  $L^*$  de  $50,29^\circ$  a  $62,05^\circ$  armazenadas por 10 dias. Com isso é visto que os frutos obtiveram nítida diminuição da luminosidade ao final das avaliações, sendo que todos os frutos submetidos as doses dos óleos aqui testados apresentaram-se com coloração mais clara após o quarto dia, aumentando até o oitavo, período este em que as bananas apresentavam coloração amarela natural. Segundo Silva et al. (2010), o aumento da luminosidade na casca durante o processo de amadurecimento foi verificado em outras frutas, tais como mamão e maracujá.

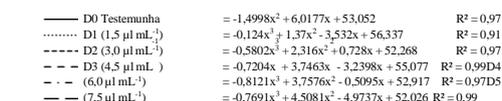
Quanto a cromaticidade da casca das bananas, a partir da aplicação do óleo de manjerição, foi observado a interação das doses ao longo do tempo, as quais foram significativas a 1% de probabilidade (Figura 6C). Nesse sentido, durante os dias de avaliação, observou-se que houve incremento nos valores de cromaticidade a partir do quarto dia, seguindo o mesmo comportamento até o oitavo dia, indicando o amadurecimento dos frutos. Assim, é possível afirmar que os valores de cromaticidade, que expressam a intensidade da coloração dos frutos (Silva et al., 2010), sofrem interferência direta da saturação da coloração a partir dos pigmentos presentes na casca do fruto. Para as bananas tratadas com óleo de melaleuca (Figura 6D), observou-se que no último dia de avaliação os frutos submetidos a dose 1 ( $1,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ) apresentaram a maior intensidade ( $43,58^\circ$ ), diferindo estatisticamente dos frutos tratados com as outras doses, mantendo assim a coloração esverdeada das bananas por mais tempo. Contudo, isso não foi

visualizado nos valores de cromaticidade (intensidades de cor) na casca das bananas em relação as outras doses aplicadas entre o oitavo ao décimo dia de armazenamento. Vale ressaltar que a elevação dos valores de cromaticidade caracteriza mais homogeneidade na coloração presente no fruto, e que à medida que o fruto amadurece, rapidamente, várias modificações podem ocorrer nas células envolvendo, por sua vez, processos de degradação, como a própria mudança na coloração da epiderme dos frutos (Fernandes et al., 2010)

Observando os valores da coordenada ângulo hue ( $h^\circ$ ) em função dos efeitos das doses, foi observado que o tratamento com óleo essencial de manjerição nos frutos não proporcionou diferença estatística entre os tratamentos testados (Figura 6E), sendo observado diferenças estatísticas somente ao longo do tempo, onde os valores de ângulo hue da casca decresceram durante os dias de avaliação. Contudo, a aplicação do óleo de melaleuca nos frutos proporcionou diferenças entre as doses testadas (Figura 6F). Assim, as doses 1 ( $1,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ) e 5 ( $7,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ) mantiveram os valores das coordenadas do ângulo hue mais alta nos frutos no segundo dia de avaliação, quando em comparação aos demais. Porém, conforme os dias de avaliação passavam, estes se distanciaram, com destaque para a dose 1 ( $1,5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ), que apresentou valores superiores a  $100^\circ$ . Com isso, os frutos destes tratamentos apresentaram a coloração da casca mais verde, sendo considerada como um índice desejado, pois denota menor estágio de amadurecimento. Estes resultados então revelaram as alterações na tonalidade da coloração da casca da banana de verde para amarelo, verificado de modo mais intenso nas bananas não submetidas ao óleo e nos frutos dos demais tratamentos, com valores de ângulo hue próximos a  $80^\circ$ , representando uma coloração mais amarelada à medida que os valores se distanciam de  $0^\circ$ . Segundo Silva et al. (2010) estes processos estão relacionados com a degradação dos pigmentos, como a clorofila, bem como a síntese de carotenóides e flavonóides. Os valores aqui observados da coordenada do ângulo hue são similares com aos publicados por Borges et al. (2019), em que estudos com diferentes genótipos de banana do grupo Prata-anã, apresentando valores de  $77,4$  no estágio 7 de maturação, com a coloração da casca mais amarela alaranjada com o avanço do amadurecimento, como os dados aqui apresentados.



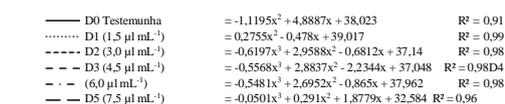
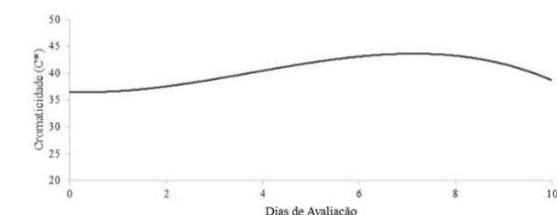
A



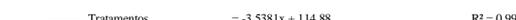
B



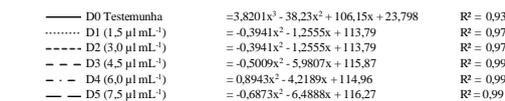
C



D



E



F

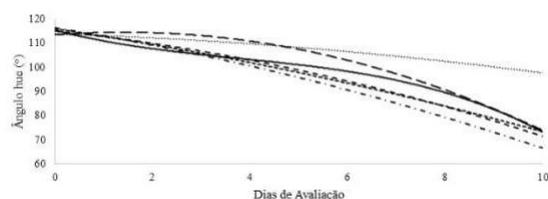


Figura 6 - Luminosidade da banana ‘prata’ no tempo com óleo essencial de manjerição (A) e melaleuca (B), cromaticidade da banana ‘prata’ no tempo com óleo essencial de manjerição (C) e melaleuca (D) e ângulo Hda banana ‘prata’ em função do tempo com óleo essencial de manjerição (E) e melaleuca (F). Boa Vista-RR(2019/2020).

### Conclusões

Constatou-se, no experimento aqui realizado, os efeitos antifúngicos e a eficiência dos óleos essenciais de manjerição e melaleuca no controle da antracnose (*Colletotrichum musae*) na pós-colheita da banana Prata cultivadas nas condições edafoclimáticas do estado de Roraima. Damesma forma, a partir da aplicação desses óleos, verificou-se a correta manutenção da qualidade do fruto durante o armazenamento pós-colheita em condições não controladas de temperatura e umidade.

Constatou-se, no experimento aquirealizado, os efeitos antifúngicos dos óleos

essenciais de manjerição e melaleuca no controle da antracnose (*Colletotrichum musae*) na pós-colheita da banana Prata cultivadas nas condições edafoclimáticas do estado de Roraima, assim como, a adequada manutenção da qualidade do fruto durante o armazenamento pós-colheita em condições não controladas de temperatura e umidade. Nesse sentido, recomenda-se, a partir dos resultados aqui apresentados, a dose de 7,5  $\mu\text{L}.\text{mL}^{-1}$  do óleo de manjerição para o controle da antracnose e seus efeitos na qualidade sensorial dos frutos.

Quanto a utilização do óleo de melaleuca, apesar dos resultados obtidos nas análises microbiológicas e de qualidade sensorial serem considerados até certo ponto satisfatórios, a variação observada nos mesmos, supostamente devido à

baixa adesão do óleo à casca das bananas, sugere que novos experimentos devam ser realizados, principalmente quanto ao método de aplicação/fixação no fruto, visando assim melhor aprimorar o controle efetivo contra os patógenos

### Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de suporte financeiro à pesquisa e aos relatores “ad hoc” desse artigo pelas valiosas sugestões e correções.

Agradecimento especial aos Doutores Thiago Fernandes Sousa e Gilvan Ferreira da Silva e a Profa. Dra. Kedma da Silva Matos, pelo apoio essencial na área de microbiologia.

### Referências

- Abd-Alla MA, Haggag WF (2013) Use of some plant essential oils as post-harvest botanical fungicides in the management of anthracnose disease of mango fruits (*Mangifera indica* L.) caused by *Colletotrichum Gloeosporioides* (Penz). *International Journal of Agriculture and Forestry* 3(1):1-6.
- Andrade WP, Vieira GHC (2016) Efeito dos óleos essenciais sobre a antracnose in vitro e em frutos de mamoeiro. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 18(1):67-372. doi: 10.1590/1983-084X/15\_089
- Association of Official Analytical Chemists – AOAC (2012) *Official Methods of Analysis*, 19th edn. AOAC, 3000p.
- Barbosa MS, Vieira GHC, Teixeira AV (2015) Atividade biológica in vitro de própolis e óleos essenciais sobre o fungo *Colletotrichum musae* isolado de bananeira (*Musa spp.*). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Campinas 17(2):254-261. doi: 10.1590/1983-084X/13\_063
- Cruz MJS, Clemente E, Cruz MÊS, Mora F, Cossaro L, Pelisson N (2010) Efeito dos compostos naturais bioativos na conservação pós-colheita de frutos de mangueira cv. Tommy Atkins. *Ciência e Agrotecnologia* 34(2):428-433. doi: 10.1590/S1413-70542010000200022
- Food and Agriculture Organization – FAO (2021). *Faostat*. FAO. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>> (Acesso em 29 maio 2022).
- Falci SPP, Teixeira MA, Chagas PFD, Martinez, BB, Loyola ABAT, Ferreira LM, Veiga DF (2015) Antimicrobial activity of *Melaleuca* sp. oil against clinical isolates of antibiotics resistant *Staphylococcus aureus*. *Acta Cirúrgica Brasileira* 30(6):401. doi: 10.1590/S0102-86502015006000005
- Fernandes E, Leal PAM, Sanches J (2010) Climatização e armazenamento refrigerado na qualidade pós-colheita de bananas 'nanicão'. *Bragantia* 69(3):735-744. doi: 10.1590/S0006-87052010000300027
- HO W, KO W (1997) A simple method for obtaining single-spore isolates of fungi. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 38:41-44.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2021) *Produção agrícola municipal*. IBGE, 2021. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/>> (Acesso em 29 maio 2022).
- Idris FM, Ibrahim AM, Forsido SF (2015) Essential oils to control *colletotrichum musae* in vitro and in vivo on banana fruits. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences* 15(3):291-302.
- Kaur S, Singh HP, Mittal S, Batish DR Kohli RK (2010) Phytotoxic effects of volatile oil from *Artemisia scoparia* against weeds and its possible use as a bioherbicide. *Industrial Crops and Products* 32(1):54-61. doi: 10.1016/j.indcrop.2010.03.007
- Lima CAD, Junqueira NTD, Alves E, Junqueira KP, Souza LSD (2014) Controle alternativo da antracnose durante a pós-colheita de manga utilizando produtos naturais. *Cadernos de Agroecologia* 9(3):5.
- Marques LMD, Moreno MB, Lima AYBD, Farias PCDM, Malgarim MB, Veiga OJD, Santos RFD (2017) Caracterização do fruto de três diferentes grupos de bananas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 18(1):17-22.
- Martins JAS, Sagata E, Santos VA, Juliatti FC (2010) Avaliação do efeito do óleo de *Melaleuca alternifolia* sobre o crescimento micelial in vitro de fungos fitopatogênicos. *Bioscience Journal, Uberlândia* 27(1):49-51.
- Mendiburu FD (2019) *Agricolae: statistical procedures for agricultural research*. R package version 1.3-0. Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=agricolae>> (Acesso em 29 maio 2022).

- Minh B, Schmidt H, Chernomor O, Schrempf D, Woodhams M, von Haeseler A, Lanfear R (2020) IQ-TREE 2: new models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Mol BiolEvol* 37:1530-1534. doi: 10.1093/molbev/msaa015
- Moura JAS, Yogui GT (2012) Limpeza e preparação de vidrarias para análise de compostos orgânicos: procedimento operacional padrão OrganoMAR-2012-05. Revisão n. 1. Laboratório de Compostos Orgânicos em Ecossistemas Costeiros e Marinheiros, Departamento de Oceanografia, Universidade Federal de Pernambuco, 6p.
- Negreiros RJZD, Salomão LCC, Pereira OL, CeconPR, Siqueira DLD (2013) Controle da antracnose na pós-colheita de bananas-'prata' com produtos alternativos aos agrotóxicos convencionais. *Revista Brasileira de Fruticultura* 35(1):051-058. doi: 10.1590/S0100-29452013000100007
- Okonechnikov K, Golosova O, Fursov M (2012) Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics* 28:1166-1167. doi: 10.1093/bioinformatics/bts091
- Oliveira ESD, Viana FMP, Martins MVV (2016) Alternativas a fungicidas sintéticos no controle da antracnose da banana. *Summa Phytopathol* 42(4):340-350. doi: 10.1590/0100-5405/2000
- Otta MES, Ahmed SS, Din MME (2012) Genetic variability among some quantitative characters, insecticidal activity and essential oil composition of two egyptian and french sweet basil varieties. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 6(3):185-192.
- Özcan M, Chalchat JC Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. in Turkey. *Czech J. Food Sci.* 20(6):223-228. doi: 10.17221/3536-CJFS
- Perumal AB, Sellamuthu PS, Nambiar RB, Sadiku, ER (2017) Effects of essential oil vapour treatment on the postharvest disease control and different defence responses in two mango (*Mangifera indica* L.) Cultivars. *Food Bioprocess Technol* 10:1131-1141. doi: 10.1007/s11947-017-1891-6
- Pinheiro PF, Chaves BVPI, Lucia, SMD, Saraiva SH, Pinheiro CA (2017) Óleos essenciais de manjeriço e gengibre na aromatização de azeite de oliva. *Nucleus* 14(1):189-196. doi: 10.3738/1982.2278.1766
- Pinho DB, Mizobutsi EH, Silva SO, Reis ST, Mizobutsi GP, Xavier AA, Ribeiro RCF, Maia VM (2010) Avaliação de genótipos de bananeira à *Colletotrichum musae* em pós-colheita. *Revista Brasileira Fruticultura* 32(3):786-790. doi: 10.1590/S0100-29452010005000078
- Prill MADS, Neves LC, Tosin JM, Chagas EA (2012) Atmosfera modificada e controle de etileno para bananas 'prata-anã' cultivadas na Amazônia setentrional brasileira. *Revista Brasileira de Fruticultura* 34(4):990-1003. doi: 10.1590/S0100-29452012000400005
- Prill MADS, Neves LC, Grigio ML, Vasconcelos LLD, Silva S, Chagas EA, Campos AJD (2011) Climatização de bananas 'Prata-Anã': métodos e tempos para o desverdecimento após o armazenamento refrigerado. *Revista Agro@mbiente On-line* 5(2):134-142. doi: 10.18227/1982-8470ragro.v5i2.500
- R Core Team (2019) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing.
- Ramos K, Junior, RA, Kozusny-Andreani DI (2016) Óleos essenciais e vegetais no controle in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 18(2):605-612. doi: 10.1590/1983-084x/15\_192
- Rodrigues MLM, Mizobutsi EH, Fagundes IRFF, Fernandes MB (2018) Essential oils in the control of anthracnose on 'prata ana' banana. *Journal of Agricultural Science* 10(9):116-124. doi: 10.5539/jas.v10n9p116
- Santos AEOD, Gravina GDA, Berbert PA, Assis JSD, Batista PF, Santos OOD (2011) Efeito do tratamento hidrotérmico e diferentes revestimentos na conservação pós-colheita de mangas 'Tommy Atkins'. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 6(1): 140-146. doi: 10.5039/agraria.v6i1a756
- Sefu G, Satheesh N, Yadessa GB (2015) Antifungal activity of ginger and cinnamon leaf essential oils on mango anthracnose disease causing fungi (*C. gloeosporioides*). *Carpathian Journal of Food Science and Technology* 7(2).
- Sutton BC (1992) The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: Bailey JA, Jeger MJ (ed.) *Colletotrichum: biology, pathology and control*. Centre for Agriculture and Biosciences International. p.1-26.

Vianna-Silva T, Lima RV, Azevedo IGD, Rosa RCC, Souza MSD, Oliveira JGD (2010) Determinação da maturidade fisiológica de frutos de maracujazeiro-amarelo colhidos na região norte do estado do rio de janeiro, brasil. Revista Brasileira de Fruticultura 32(1):057-066. doi: 10.1590/S0100-29452010005000012

Silva LS, Medeiros TR, Silva APR, David GQ, MoyaWP, Sorato AMC (2018) Controle alternativo do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* com óleos essenciais. Cadernos de Agroecologia p. 6.

Sousa MSD, Serra MRDS, Melo AD (2012) Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. Summa Phytopathologica 38(1):42-47. doi: 10.1590/S0100-54052012000100007

Than PP, Jeewon R, Hyde KD, Pongsupasamit S, Mongkolporn O, Taylor PWJ (2008) Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose

on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. Plant Pathology 57:562-572. doi: 10.1111/j.1365-3059.2007.01782.x

Turina ADV, Nolan MV, Zygadlo JA, Perillo MA (2016) Natural terpenes: selfassembly and membrane partitioning. Biophysical Chemistry 112:101-113. doi: 10.1016/j.bpc.2006.02.007

Veloso RA, Castro HG, Barbosa LCA, Cardoso DP, Júnior AFC, Scheidt GN (2014) Teor e composição do óleo essencial de quatro acessos e duas cultivares de manjerição (*Ocimum basilicum* L.). Revista Brasileira de Plantas Mediciniais 16(2):364-371. doi: 10.1590/1983-084X/12\_180

Vilaplana R, Pazmiño L, Valencia-Chamorro S (2018) Control of anthracnose, caused by *Colletotrichum musae*, on postharvest organic banana by thyme oil. Postharvest Biology and Technology 138:56-63. doi: 10.1016/j.postharvbio.2017.12.008