



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA
DOUTORADO EM FITOTECNIA

EDIVALDO GALDINO FERREIRA

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE ACESSOS E AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E DE
QUALIDADE DE POLPA E FRUTOS DE MANGABEIRA**

MOSSORÓ

2013

EDIVALDO GALDINO FERREIRA

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE ACESSOS E AVALIAÇÃO MICROBIOLOGICA E DE
QUALIDADE DE POLPA E FRUTOS DE MANGABEIRA**

Tese apresentada ao Doutorado em Fitotecnia do
Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da
Universidade Federal Rural do Semi-Árido como
requisito para obtenção do título de Doutor em
Fitotecnia

Linha de Pesquisa: Fruticultura

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Elesbão Alves

Co-orientador: Prof. Dr. Vander Mendonça

MOSSORÓ

2013

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE ACESSOS, E AVALIAÇÃO
MICROBIOLOGICA E DE QUALIDADE DE POLPA E
FRUTOS DE MANGABEIRA**

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE ACESSOS E AVALIAÇÃO
MICROBIOLÓGICA E DE QUALIDADE DE POLPA E
FRUTOS DE MANGABEIRA**

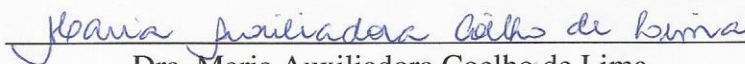
EDIVALDO GALDINO FERREIRA

APROVADA em: 31/10/2013

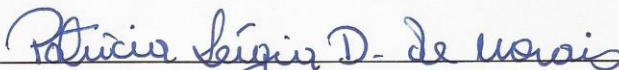
Banca Examinadora



Prof. Dr. Ricardo Elesbão Alves
Orientador – Embrapa Agroindústria Tropical/UFERSA



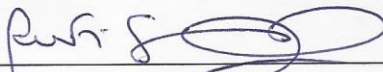
Dra. Maria Auxiliadora Coelho de Lima
Examinadora – Embrapa Semiárido



Profa. Dra. Patrícia Lígia Dantas de Moraes
Examinadora – UFERSA



Prof. Dr. Fernando Antônio Souza de Aragão
Examinador – Embrapa Agroindústria Tropical/UFERSA



Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueredo -
Examinador – UFC

À Deus, pela força e proteção, aos meus pais Bento Firmino (*in memorian*) e Jozefa Firmino (*in memorian*) pela luz da vida, zelo e formação. Aos meus sogros Sr. Silvio (*in memorian*) e Sra. Joilda, pelo amor, carinho, exemplo, dedicação e apoio constante na consolidação e formação da nossa família.

Dedico.

A minha esposa Jésila Meyre, pelo apoio constante, irrestrito e incondicional, minimizando as intempéries da minha busca de novos horizontes. Aos meus filhos, Silvio Neto, Érico e Édila, pelo carinho e amor que fortalece a minha vontade de lutar.

Ofereço.

“Pouco conhecimento faz com que as criaturas se sintam orgulhosas.

Muito conhecimento, que se sintam humildes.

É assim que as espigas sem grãos erguem desdenhosamente a cabeça para o céu,

Enquanto as cheias a “baixam para a terra, SUA MÃE”.

Leonardo da Vinci

AGRADECIMENTOS

À DEUS, pela vida, proteção e LUZ divina, que ilumina meus caminhos e me socorre nos momentos difíceis.

À UFERSA, pelos conhecimentos transmitidos através dos professores, os quais me qualificaram.

Ao Programa de Pós Graduação em Fitotecnia, pela coordenação, organização e zelo, fatores estes que o tornam referência.

À EMEPA – PB, pela oportunidade e contribuição na liberação para a minha qualificação.

À UFPB - Universidade Federal da Paraíba -, pela cessão do Laboratório de Pós-colheita para meus trabalhos de tese.

À EMPARN, pela colaboração na cessão da estufa para ensaios, através do Dr. Amilton Gurgel Guerra.

Ao Orientador, Dr. Ricardo Elesbão Alves, pelos conhecimentos e experiências vivenciadas.

Ao Co Orientador, Prof. Dr. Vander Mendonça, pelo apoio, conhecimentos, amizade e respeito mútuo.

À coordenação do Programa de pós-graduação em Fitotecnia, pela qualidade e zelo para com o curso e discentes.

Aos professores da Pós-Graduação em Fitotecnia, pela participação na minha formação.

Aos colegas da EMEPA – PB, Dr. Jorge Cazé Filho e Dr. Ailton Melo de Moraes, pelo espírito de solidariedade e contribuição ao meu trabalho.

À Professora Dra. Silvanda de Melo Silva (UFPB), pelos conhecimentos ofertados, sugestões, apoio, acompanhamento e disponibilidade de laboratório e pessoal, os quais foram fundamentais no desenvolvimento do trabalho.

À professora Dra. Ioná dos Santos Araújo (UFERSA), pelos conhecimentos, incentivo, apoio intelectual, material e humano, que foram de suma importância.

À doutoranda e técnica da UFPB/CCA, Rosana Silva, pela força na execução das análises.

À Economista Édila de França Albuquerque Galdino, pela presteza e apoio computacional, ferramenta imprescindível ao trabalho.

Aos graduandos bolsistas da UFERSA Emanuela e Hailton minha gratidão pelo apoio na realização das análises.

Ao grande colega e amigo Jorge Luiz Xavier Lins Cunha, pelo apoio incondicional e boa convivência, minha gratidão e boas lembranças.

Aos colegas do Programa de Pós Graduação, pelo bom convívio de um tempo sacrificado, porém, gratificante.

À Dona Lucia, pelo cuidado, zelo e carinho com o bem estar de todos do Pós Graduação.

RESUMO GERAL

FERREIRA, E. G. DIVERSIDADE GENÉTICA DE ACESSOS E AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E DE QUALIDADE DE POLPA E DE FRUTOS DE MANGABEIRA 2013. 163 F. Tese de Doutorado - Fitotecnia - Universidade Federal Rural do Semiárido - UFRSA. Mossoró - RN, Outubro, 2013.

Este trabalho teve como objetivos estudar a divergência genética de acessos de mangabeiras oriundas de três Estados do Nordeste e de um Estado do Centro Oeste do Brasil e observar as qualidades físico-químicas e microbiológicas de frutos e polpas de mangaba, colhidos e processados Com e Sem Boas Práticas de Campo e de Fabricação, respectivamente. Materiais foram colhidos, identificados, e transportados para o Laboratório de Biologia molecular da UFRSA, onde, após ser usada a metodologia e técnica apropriada para extração do DNA dos genótipos, se realizou a caracterização molecular de acessos de mangabeiras oriundas de três Estados do Nordeste (PB, RN e PE) e de um Estado do Centro Oeste (Mato Grosso). Os resultados foram analisados em programa computacional específico, onde se usou também a análise de agrupamento (UPGMA) formando um dendrograma que mostra, através de gráfico, as dissimilaridades genéticas entre os genótipos estudados. Observou-se que o genótipo oriundo do Mato Grosso teve o maior coeficiente de dissimilaridade entre os demais, enquanto que, a menor dissimilaridade ficou entre dois genótipos oriundos da Paraíba. O experimento objetivando observar a qualidade física, química e microbiológica de polpas e frutos de mangaba, utilizando-se as Boas práticas de Campo e de Fabricação, foi realizado no Laboratório de Pós- colheita da UFPB/CCA, onde foi utilizada toda a metodologia adequada, que constatou grande eficiência e eficácia desta prática utilizada (CBP), assim como, a necessidade da adoção e regulamentação deste sistema, visando dar uma melhor qualidade aos alimentos, e assim, garantir a segurança alimentar da população. Também se verifica que, além da necessidade de adoção do sistema, urge a necessidade de programas de difusão e conscientização, a fim de que, também sejam ferramentas na melhoria da saúde pública.

Palavras chave: mangaba, boas práticas, molecular

ABSTRACT

FERREIRA, E. G. GENETIC DIVERGENCE OF ACCESSIONS AND MICROBIOLOGICAL AND QUALITY EVALUATION OF PULP AND FRUIT OF MANGABA TREE 2013. 163 F. Thesis (Ph.D. in Agronomy - Crop Science) - Universidade Federal Rural Semiarid - UFRSA . Mossoró - RN , October, 2013.

This research had as objectives to study the genetic divergence of accessions of mangaba tree from three northeastern states, and from one midwest state of Brazil, and to observe the physicochemical and microbiological characteristics of fruits and pulps of mangaba harvested and processed With and Without Good Field Practices and With and Without Good Manufacturing Practices. Materials were collected, identified and transported to the Laboratory of Molecular Biology of the UFRSA, where, after using the right methodology and appropriate technique for extraction of DNA of genotypes, the molecular characterization of accessions of mangaba trees from three northeastern states (PB , RN and PE) and from one midwest state (Mato Grosso) was carried out . The results were analyzed in specific computer program, which also used cluster analysis (UPGMA) dendrogram in forming a chart that shows the genetic dissimilarities among genotypes. It was observed that the genotype originated from Mato Grosso had the highest coefficient of dissimilarity among the others, while the smallest dissimilarity was found between two genotypes from Paraíba. The experiment aiming to observe the physical, chemical and microbiological qualities of pulp and fruit of mangaba, using the Good Field Practices and Good Manufacturing Practices was performed at the Laboratory of Postharvest UFPB / CCA , where, with appropriate methodology, it was found great efficiency and effectiveness of the good field practices used (GFP), as well as the need to adopt and regulate this system in order to yield a better food quality, and, thereby ensuring the food security of the population . It also appears that, besides the need for adoption of the system, there is an urgent need for dissemination and awareness programs, so that they can also be tools in improving public health.

Keywords : mangaba , good field practices , molecular

**O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade de
seus autores**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)

Setor de Informação e Referência

F383d Ferreira, Edivaldo Galdino.
Divergência genética de acessos e avaliação
microbiológica e de qualidade de polpa e frutos de mangabeira.
/ Edivaldo Galdino Ferreira. -- Mossoró, 2014

156f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Elesbão Alves.
Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal
Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pós-Graduação.

1. Mangaba. 2. Boas práticas. 3. Molecular. I. Título.

RN/UFERSA/BCOT

CDD: 634.6

Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva

CRB-15/120

LISTA DE ABREVIATURAS

AC	Contagem de Aeróbios
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APHA	American Public Health Association (Associação Americana de Saúde Pública)
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
BDA	Agar Batata Dextrose
BPA	Boas Práticas Agrícolas
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CCFH	Codex Committee on Food Hygiene (Comitê do Codex Alimentarius, sobre Higiene dos Alimentos)
g	Gramas
HACCP	<i>Hazard Analysis and Critical Control Point</i>
IBRAF	Instituto Brasileiro de Frutas
IN	Instrução Normativa
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
OMS	Organização Mundial de saúde

PCA	Ágar Contagem Padrão
pH	Potencial Hidrogeniônico
UFC/g	Unidade Formadora de Colônias por grama
° Brix	Grau Brix
°C	Graus Celsius
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
RNA	Ácido Ribonucléico
ppm	Parte por milhão
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
IPGRI	International Plant Genetic Resources Institute
MF	Massa Media do Fruto
CV	Coeficiente de variação
PCR	Polymerase Chain Reaction
RAPD	Randomly Amplified Polimorphic DNA
SSR	Simple Sequence Repeats
UPGMA	Unweighted Pair-GroupnMethod Using Arithmetic Average

LISTA DE TABELAS – CAPÍTULO I

Tabela 1	Composição química da mangaba.....	53
Tabela 2	Principais Estados produtores de mangaba na Região Nordeste do Brasil.	54

CAPÍTULO II - LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Localização das origens das amostras coletadas.....	
Tabela 2	Primers RAPD utilizados para amplificar o DNA de acessos de mangabeiras do Nordeste brasileiro e do bioma cerrado.....	89
Tabela 3	Grupos de 31 acessos de mangabeiras.pelo método.de Tocher com base na dissimilaridade expressa pelo complemento aritmético do Índice de Jaccard.....	
Tabela 4	Médias de coeficientes de dissimilaridade dos grupos formados no dendrograma com 31 acessos estudados.....	

CAPÍTULO II -LISTA DE FIGURAS

- Figura1 Reação de PCR – RAPD com DNA de mangabeira utilizando o *primer* OPAA – 04
- Figura 2 Reação de PCR - RAPD.com o DNA de mangabeira utilizando o *primer* OPAA-17
- Figura 3 Drendograma – Padrão de dissimilaridade Genética entre 31 Genótipos de mangabeiras

CAPITULO III - LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Resultados das análises microbiológicas de polpas de mangaba
- Tabela 2 Resultados das análises microbiológicas de frutos de mangabeiras
- Tabela 3 Avaliações Físico-Químicas de polpas e frutos de mangabeiras

CAPITULO III - LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Esquema geral do Preparo das diluições seriadas
- Figura 2 Esquema geral das análises para contagem de bolores e leveduras em placas
- Figura 3 Inoculação das diluições seriadas em placas de petri com meio de cultura BDA
- Figura 4 Esquema geral de análise para contagem de microorganismos aeróbios mesófilos em placas
- Figura 5 Esquema de análise para coliformes totais e termotolerantes e confirmação de E.colli
- Figura 6 Esquema da análise de salmonella pelo método BAM/FDA

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	29
INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO DE LITERATURA	29
1.1. <i>INTRODUÇÃO</i>	29
1.2. <i>OBJETIVOS</i>	31
1.2.1. Geral	31
1.2.2. Específicos	31
1.3. <i>REVISÃO DE LITERATURA</i>	32
1.3.1. Caracterização Botânica	32
1.3.2. Descrição da Planta	34
1.3.3. Áreas de Ocorrência	35
1.3.4. Conservação e caracterização de germoplasma.....	36
1.3.5. Marcadores Morfológicos e Moleculares	38
1.3.6. Análise dos Marcadores Genéticos Moleculares e Aplicação....	43
1.3.7. Aspectos Socioeconômicos	47
1.3.8. Características de importância agronômica.....	47
Propagação.....	47
Germinação de semente	50
Florescimento e Frutificação.....	51
Características físicas e químicas de frutos	52

Produção.....	53
Colheita e Pós-colheita de frutos	57
1.3.9. Processamento	58
1.3.10. Segurança Alimentar	60
1.3.11. Qualidades Microbiológicas de Polpas de Frutas	64
Padrões microbiológicos exigidos pela legislação.....	66
1.3.12. Sistema de Comercialização	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
CAPÍTULO II	84
DIVERSIDADE GENÉTICA EM ACESSOS DE MANGABEIRA (<i>Hancornia speciosa Gomes</i>) PROVENIENTES DO BANCO DE GERMOPLASMA E JARDIM CLONAL DA EMEPA	84
2.1. INTRODUÇÃO	84
2.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	88
Extração do DNA Genômico	91
Ensaio Com Marcadores RAPD.....	92
Análise dos Dados.....	93
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	94
CONCLUSÕES	109
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	110
CAPÍTULO III	119

QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE FRUTOS E POLPAS DE MANGABA COM E SEM BOAS PRÁTICAS AGRÍCOLAS E DE FABRICAÇÃO.....	119
3.1. <i>INTRODUÇÃO</i>	119
3.2. <i>MATERIAL E MÉTODOS</i>	127
3.3. <i>ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS</i>	129
3.3.1. Preparo de Diluições Seriadas	129
3.3.2. Análise de Bolors e Leveduras	130
3.3.3. Análise de Aeróbios Mesófilos.....	133
3.3.4. Análise de Coliformes Totais e Termotolerantes	135
3.3.5. Análise para <i>Staphylococcus aureus</i>	137
3.3.6. Análise para <i>Salmonella</i>	138
3.4. <i>ANÁLISE QUÍMICA DE FRUTOS E POLPAS DE MANGABA</i>	141
3.5. <i>RESULTADOS E DISCUSSÕES</i>	142
3.5.1. Contagem de Bolors e Leveduras	143
Análise de Bolors e Leveduras em Polpas	143
Análise de Bolors e Leveduras em frutos	146
3.5.2. Contagem de Bactérias Aeróbias Mesófilas	147
3.5.3. Análise de Coliformes Totais e Termotolerantes	149
Coliformes Termotolerantes em Polpas	152
Análise de <i>staphylococcus</i>	153
Avaliações de <i>Staphylococcus aureus</i> em polpas.....	154
Avaliações de <i>Staphylococcus aureus</i> em frutos.....	155

Análise para <i>Salmonella</i>	156
3.5.4. Avaliação Química de Frutos e Polpas.....	157
pH e Acidez Total Titulável (AT).....	158
Sólidos Solúveis Totais (SST).....	158
CONCLUSÕES	162
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	163

CAPÍTULO 1
INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO DE LITERATURA

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO DE LITERATURA

1.1. INTRODUÇÃO

A mangabeira (*Hancornia speciosa*, Gomes), planta da família das apocináceas, é encontrada vegetando espontaneamente em áreas da região tropical da América do Sul: Brasil, Paraguai, Venezuela, Colômbia, Peru e Bolívia. No Brasil, é encontrado com frequência nas regiões Centro-Oeste, Sudeste, Norte, e com maior abundância nas áreas de tabuleiros e baixadas litorâneas do Nordeste, onde se concentra a quase totalidade da produção comercial de frutos (ESPÍNDOLA & FERREIRA, 2003).

No Nordeste brasileiro, é uma planta que vegeta abundantemente na faixa litorânea, ambiente de solos pobres, de textura arenosa e de fácil drenagem. Na Paraíba, é facilmente encontrada na região do litoral, com grandes pomares nativos em terras devolutas, em reservas indígenas e em pomares cultivados, mas, corre o risco da extinção por falta de conhecimento do seu valor genético, da sua alta aplicabilidade e da preservação ambiental (FERREIRA, 1997).

A mangabeira produz frutos para o consumo *in natura* e para industrialização nas formas de polpa, principalmente de sucos, batidas, coquetéis, doces, geléias, sorvetes, licores, fermentados e xaropes. Ainda, pode-se extrair o látex para borracha e, também, tem sua aplicação na farmacologia, o que mostra um grande potencial de aproveitamento (FERREIRA, 1997).

O interesse pela cultura da mangaba no Brasil e, mais particularmente, nas Regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste, tem crescido substancialmente, quer seja pelos agentes diretamente envolvidos nos diferentes segmentos da sua cadeia

produtiva, quer seja pelos setores responsáveis pelo desenvolvimento e difusão de novas tecnologias agrícolas e de processamento da polpa. Apesar desse crescente interesse, a mangaba continua a ser uma cultura essencialmente extrativista, embora já existam pomares organizados ou implantados com a finalidade de exploração racional para a produção de frutos (FERREIRA et al 2008).

Os frutos são muito nutritivos, com um teor de proteína variando de 1,3 a 3,0 % (PARENTE et al. 1985), superior as da maioria das espécies frutíferas. A mangaba é de digestão fácil e rápida, sendo indicada para pessoas doentes e convalescentes.

Apesar de se aproveitar tudo da mangabeira, ela ainda é pouco utilizada. O leite é usado também como medicamento contra a tuberculose e no tratamento de úlceras gástricas. As cascas e folhas secas são utilizadas no combate à hipertensão, assim como, o diabetes.

Do tronco e das folhas retira-se látex, muito explorado durante a segunda Guerra Mundial como substituto da borracha, mas, de qualidade inferior a da seringueira, embora que, alguns artefatos de borracha sejam de melhor qualidade. A madeira, apesar de não ter grande valor econômico, é usada na fabricação de móveis populares, ou, tem a lenha oriunda das podas, e que são utilizadas para queima em fornos de padarias ou cerâmicas.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Geral

Caracterizar a dissimilaridade genética de genótipos de mangabeira, do Banco de germoplasma da EMEPA – PB, utilizando a técnica de RAPD, e caracterizar a qualidade físico-química e microbiológica dos frutos e polpas, com e sem o uso das Boas Práticas agrícolas e de Fabricação

1.2.2. Específicos

- Caracterizar a dissimilaridade genética entre genótipos de mangaba oriundos de quatro Estados do Brasil;
- Analisar as distâncias genéticas entre acessos de variedades botânicas e ecossistemas distintos;
- Caracterizar o perfil microbiológico dos frutos colhidos com e sem Boas Práticas de Campo;
- Estudar a microbiologia de polpas produzidas com e sem Boas Práticas de Fabricação;
- Avaliar a qualidade das polpas com a utilização das Boas Práticas.

1.3. REVISÃO DE LITERATURA

1.3.1. Caracterização Botânica

A mangabeira é agrupada botanicamente nos seguintes táxons, conforme classificação de Cronquist (1988): Reino Plantae, Divisão Magnoliophyta, Classe Magnoliopsida, Subclasse Asteridae, Ordem Gentianales, Família Apocynaceae e Gênero *Hancornia*.

O gênero *Hancornia* é considerado monotípico e, por isso, sua única espécie é *Hancornia speciosa* Gomes. De acordo com Monachino (1945), são reconhecidas as seis variedades botânicas citadas a seguir.

- *H. speciosa* var. *speciosa* Gomes;
- *H. speciosa* var. *maximiliani* A. DC.
- *H. speciosa* vsr. *cuyabensis* Malme
- *H. speciosa* var. *lundii* A. DC.
- *H. speciosa* vsr. *gardineri* (A. DC.) Muell. Arg.
- *H. speciosa* var. *pubescens* (Nees. ET Martius) Muell. Arg.

As variedades botânicas diferenciam-se por algumas características morfológicas, principalmente relacionadas à folha e à flor (MONACHINO, 1945).

Em estudo das mangabeiras dos Estados de Goiás e Tocantins, com base em caracteres morfológicos, Rizzo e Ferreira (1990) verificaram a existência de três variedades botânicas da espécie: *H. speciosa* var. *speciosa*, *H. speciosa* var. *pubescens*

e *H. speciosa* var. *gardneri*. A variedade *speciosa* tem folhas glabras, com pecíolo de 9 a 15 mm de comprimento e limbo foliar com até 6 cm de comprimento e 2 cm de largura, e está presente na divisa daqueles estados.

A variedade *gardneri* também possui folhas glabras, enquanto a *pubescens* tem folhas pilosas. Ambas apresentam pecíolos de 3 a 5 mm de comprimento e limbo foliar de 6 a 12 cm de comprimento e 3 a 6 cm de largura, frutos maiores e de coloração verde predominante, estando presentes em todo o Estado de Goiás.

A variedade *speciosa* também ocorre na Costa Atlântica do Brasil, e é bastante diferente das demais quanto ao porte da planta e seu aspecto geral, apresentando ramos finos e pendentes, folhas miúdas com pecíolo mais longo, frutos menores e com manchas avermelhadas típicas, quando maduros. Segundo Chaves e Moura (2003), na divisa entre o nordeste de Goiás e a Bahia existem plantas com características intermediárias, levando à hipótese de hibridação entre as variedades que apresentam florescimento simultâneo.

A mangabeira é uma planta perenifólia nativa de regiões de clima tropical, ocorrendo, sobretudo em áreas de vegetação aberta (cerrados, cerradões, tabuleiros e baixadas litorâneas), com temperatura média ideal entre 24 e 26° C. Os solos nos quais se desenvolve são pobres e de textura arenosa, predominante da região de Cerrado e tabuleiro costeiros, indo desde as areias quartzosas até os podzólicos e latossolos (BARROS, 1967; WISNIEWSKI & MELO, 1982; VIEIRA NETO, 1993; VILLACHICA et al., 1996), é uma pequena árvore de 2 a 5 metros de altura, com casca fendilhada e escura (CRUZ, 1979; ANDERSEN & ANDERSEN, 1988).

Andersen & Andersen (1988) descreveram esta frutífera como sendo de folhas opostas, oblongas, coriáceas e glabras de 5 a 6 cm de comprimento e cerca de 2 cm de largura. Ribeiro (1992) comenta que suas folhas são pecioladas, com ápice abruptamente acuminado ou obtuso, base obtusa ou arredondada; cimeira terminal com

1 - 7 flores, flores hermafroditas, cálice campanulado, 5 dentado; corola tubular, 5 lobos; 5 estames, inclusas, filetos curtos, anteras amarelas, ovário supero, estigma cilíndrico. Fruto do tipo baga, verde-amarelada ou verde-rosada; epicarpo caráceo, polpa cremosa, esbranquiçada, levemente ácida e adocicada.

O fruto do tipo baga de 2,5 a 6,0 cm (podendo ocorrer vários tamanhos na mesma planta), exocarpo amarelo com manchas ou estrias avermelhadas, polpa bastante suave, doce, carnososo-viscoso, ácida, contendo geralmente 2 a 15 ou até 30 sementes discoides de 7 a 8 mm de diâmetro, castanho-claros, delgadas, rugosas, com o hilo no centro. O peso de 100 sementes com aproximadamente 50% de umidade é de $18,4 \pm 0,8$ g.

Em geral, a mangabeira apresenta duas florações e frutificações durante o ano. A primeira floração ocorre de agosto a outubro, produz frutos no verão (entre janeiro e março). A segunda produção ocorre de abril a junho (safra das flores), é a de inverno e é menor porque os frutininhos caem em grande quantidade devido às chuvas (BARROS, 1967).

A mangabeira é auto-incompatível e, portanto, uma planta alógama, exigindo genótipos diferentes da espécie e polinizadores específicos para que ocorra a fecundação cruzada e a produção de frutos (DARRAULT e SCHLINDWEIN, 2003).

1.3.2. Descrição da Planta

Monachino (1945) estudando mangabeiras da região do cerrado afirma que esta é uma árvore de porte médio, com altura variando de 4 a 7 m, podendo chegar a aproximadamente 10 m, de crescimento lento, copa ampla, às vezes mais ramificada que alta. O tronco é geralmente único, tortuoso ou reto, com 0,2 a 0,3 m de diâmetro.

Os ramos são inclinados, numerosos, separados e bem formados, de córtice levemente suberoso. Os ramos jovens são de coloração violácea, lisos até um ano de idade, meio angulosos, curtos, com poucas folhas, floríferos no ápice. Caule rugoso e áspero com duas a três bifurcações na altura média de 40 a 50 cm da base, e, toda a planta exsuda látex de cor branca ou róseo-pálida.

Lemos et al. (1989), estudando plantas adultas nativas de mangaba, situadas no município do Conde, PB, constataram alturas oscilando entre 3,2 a 6,0 m de altura, diâmetro médio de copa 7,0 m e diâmetro do caule 0,30 m.

1.3.3. Áreas de Ocorrência

Vieira Neto (1994) relata que a mangabeira é planta de clima tropical, vegetando bem em áreas que apresentam temperatura média em torno de 25° C, e pluviosidade de 750 mm a mais de 1500 mm anuais. É tolerante a períodos de déficit hídrico, e nas épocas de temperaturas mais elevadas apresenta melhor desenvolvimento vegetativo. É encontrada predominantemente em solos arenosos, ácidos, pobres em nutrientes e matéria orgânica, e com baixa retenção de umidade, típicas das regiões de cerrados e tabuleiros costeiros, embora se desenvolva bem em solos com maior teor de argila e matéria orgânica.

A aeração e a profundidade são as duas principais exigências da mangabeira em relação ao solo. Dentro desses aspectos, os latossolos, argissolos e neossolos quartzarênicos situados em áreas bem drenadas e sem adensamentos ou compactações são os tipos de solo mais adequados ao seu cultivo (FERREIRA & GUERRA, 2011).

Santos (1986) comentaram que a mangabeira é uma planta que pode figurar nos pomares de todo o país, com exceção dos planaltos meridionais e dos pampas, pois não suporta o frio excessivo.

1.3.4. Conservação e caracterização de germoplasma

O germoplasma existente nos diversos conjuntos corre séria ameaça de extinção por várias causas. Por exemplo, a agricultura tradicional, o êxodo rural em todo o país além da introdução de cultivares melhorada e as grandes secas na região semi árida, que poderão causar erosão genética, enquanto nos pomares domésticos e, principalmente na região litorânea, a pressão imobiliária poderá causar a perda de muitas espécies (QUEIROZ, 2011).

Os Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) são uma alternativa para a conservação dos recursos genéticos vegetais. A avaliação da diversidade genética entre os acessos de um BAG resulta em informações sobre potenciais genitores a serem utilizados em programas de melhoramento; possibilita a identificação de duplicatas e o intercâmbio de germoplasma entre pesquisadores; e de acordo com Nass (2007), é uma forma de conciliar os esforços de conservação da agro biodiversidade com o desenvolvimento sustentável.

Devido às sementes recalcitrantes e às dificuldades de micropropagação e conservação *in vitro*, o germoplasma de mangabeira deve ser conservado *in vivo*, na forma de coleções de plantas vivas mantidas *ex situ* ou através de conservação *in situ*, em áreas de preservação permanente ou reservas. Atualmente, existem coleções de mangabeiras, mantidas *ex situ* na Embrapa Cerrados e na Universidade Federal de Alagoas. Existe um Banco de Germoplasma mantido na Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba – **EMEPA-PB**, além de áreas de conservação *in situ*

mantidas pela Embrapa Tabuleiros Costeiros (BARREIRO NETO, 2003; SILVA JUNIOR, 2003).

A Universidade Federal de Goiás também implantou um BAG, tendo sido coletadas sementes de mais de 100 matrizes distribuídas nos Estados de Goiás, Tocantins, Bahia, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. Noventa progênies de meios-irmãos oriundas dessas matrizes foram plantadas no campo no último trimestre de 2005. Em função do interesse pelo seu cultivo e melhoramento e devido ao risco de erosão genética, torna-se necessário e urgente o trabalho de coleta, conservação, avaliação e intercâmbio de germoplasma da espécie.

No litoral nordestino, a erosão genética é grande por causa da expansão imobiliária e das lavouras de cana-de-açúcar, coco, entre outras. Na região de cerrado, a erosão genética está ocorrendo mais nos planaltos mecanizáveis aonde a vegetação nativa vem sendo devastada para o estabelecimento de lavouras ou pastagens. Entretanto, nas áreas acidentadas as mangabeiras nativas estão mais preservadas e menos ameaçadas.

É importante considerar que a coleta de germoplasma deve ser bem planejada para permitir o plantio rápido das sementes antes da perda de sua viabilidade, bem como haver local adequado para o plantio.

O conhecimento sobre os diferentes acessos deverá ser o mais detalhado possível, para poder identificá-los como conjuntos diferenciados. Neste ponto, é importante ressaltar que os acessos que ainda não são acompanhados de uma abundante informação, são igualmente valiosos, e a sua manutenção nas coleções é também justificada. Portanto, uma vez que o germoplasma se encontre em condições ótimas de conservação, atividades de manejo, inclusive a caracterização e a avaliação do germoplasma, devem ser realizadas (RODRIGUES et al.; 2010).

1.3.5. Marcadores Morfológicos e Moleculares

A avaliação de variabilidade genética em espécies selvagens e cultivadas por muito tempo foi estimada por meio da variabilidade morfológica (RICK, 1978). A separação é realizada por meio da morfologia externa da planta e os grupos resultantes devem ser reconhecidos visualmente. No entanto, as características do fruto que apresentam diferenças em uma grande variedade de caracteres notáveis como forma, cor, tamanho, peso de sementes o que representa maior variabilidade morfológica (RICK, 1978; RICK et al., 1990).

Porém, os primeiros marcadores utilizados pelos naturalistas para identificação, descrição e classificação dos seres vivos foram os morfológicos (MUHLENS et al., 2000).

Esses marcadores são controlados por genes associados a caracteres morfológicos, em geral de fácil identificação visual. Conforme relata Castellen (2000) os marcadores morfológicos apresentam a desvantagem de serem controlados por um baixo número de loci e, também, poucas espécies apresentarem características de fácil identificação com herança mendeliana simples. Outras desvantagens são presença de um pequeno número de marcadores morfológicos ligados a genes de importância econômica e o fato desses marcadores somente serem identificados, em sua maioria, na planta adulta (FERREIRA E GRATAPAGLIA, 1998).

Entretanto, deve-se destacar que os marcadores morfológicos contribuíram significativamente para o estabelecimento dos princípios teóricos do mapeamento genético e da análise de ligação gênica (GUIMARÃES E MOREIRA, 2001). Com o desenvolvimento dos marcadores isoenzimáticos, seguido pelo uso de técnicas de biologia molecular, ocorreu o surgimento de métodos para detecção de polimorfismo genético diretamente no DNA; assim, o número de marcadores genéticos disponíveis aumentou significativamente (FERREIRA E GRATAPAGLIA, 1998).

Considerando que, marcadores genéticos são quaisquer características, processos bioquímicos ou fragmentos de DNA que permitem a distinção de indivíduos geneticamente diferentes, quatro tipos de marcadores genéticos têm sido utilizados em plantas: morfológicos, citológicos, bioquímicos e moleculares (BORÉM, A. 1997).

Hoje os marcadores morfológicos e os moleculares são utilizados como ferramentas que se complementam na avaliação da variabilidade genética de determinada população. A combinação de dados morfológicos com moleculares torna a avaliação mais completa e precisa (RICK E YODER, 1988).

A escolha de genitores e o planejamento de cruzamentos em programas de melhoramento genético são etapas iniciais e fundamentais para o sucesso do programa (BOREM, 1997).

Lederman et al. (2000) afirmaram que, aparentemente, a mangabeira apresenta pouca segregação e, apesar de ser propagada por semente, conserva muito do seu patrimônio genético. Dessa maneira, a erosão genética é baixa, e o germoplasma se mantém nessas condições com todo o seu potencial. Uma grande variabilidade tem sido observada na altura da planta, conformação da copa, época de floração e frutificação e, principalmente no tamanho dos frutos provenientes de diferentes regiões.

Informações sobre o desenvolvimento e a variação genética de espécies nativas são fundamentais, já que a domesticação e a incorporação dessas espécies nos sistemas produtivos regionais, bem como o desenvolvimento de estratégias de conservação eficientes estão estreitamente relacionadas ao conhecimento da magnitude e da distribuição da variabilidade genética nas populações naturais.

Basicamente, duas estratégias podem ser utilizadas para estudo da estrutura da variabilidade genética de populações. A estratégia clássica envolve o estudo de caracteres quantitativos, a partir do estudo de progênies e procedências. É uma estratégia muito útil, quando se deseja promover a seleção de genótipos superiores para

fins de melhoramento genético, e, também, uma forma de conservação *in vivo* e *ex situ* de amostras de progênies de espécies nativas perenes

Outra estratégia muito adotada, atualmente, para estudo de genética de populações, consiste na utilização de marcadores moleculares.

Porém, os primeiros marcadores utilizados pelos naturalistas para identificação, descrição e classificação dos seres vivos foram os morfológicos (MUHLENS et al., 2000).

Esses marcadores são controlados por genes associados a caracteres morfológicos, em geral de fácil identificação visual. Conforme relata Castellen (2000) os marcadores morfológicos apresentam a desvantagem de serem controlados por um baixo número de loci e, também, poucas espécies apresentarem características de fácil identificação com herança mendeliana simples. Outras desvantagens são presença de um pequeno número de marcadores morfológicos ligados a genes de importância econômica e o fato desses marcadores somente serem identificados, em sua maioria, na planta adulta.

Entretanto, deve-se destacar que os marcadores morfológicos contribuíram significativamente para o estabelecimento dos princípios teóricos do mapeamento genético e da análise de ligação gênica (GUIMARÃES E MOREIRA, 2001). Com o desenvolvimento dos marcadores isoenzimáticos, seguido pelo uso de técnicas de biologia molecular, surgiram métodos para detecção de polimorfismo genético diretamente no DNA. Assim, o número de marcadores genéticos disponíveis aumentou significativamente (FERREIRA E GRATAPAGLIA, 1998).

Os diferentes tipos de marcadores moleculares disponíveis têm capacidade de analisar de forma ampla genomas de interesse, sem influencia do ambiente e, dessa forma, gerar informações precisas sobre a diversidade genética e a frequência gênica populacional (HARTL & CLARK, 1989 OUBORG et al., 1999).

Uma das variações da técnica de PCR descrita por Saiki et al. (1985) é a tecnologia do RAPD (Polimorfismo do DNA Amplificado ao Acaso) (WILLIAMS et

al., 1990). A técnica do RAPD consiste na extração do DNA de indivíduos, amplificação de fragmentos destes DNAs pela técnica de PCR, separação de fragmentos amplificados de comprimentos diferentes por eletroforese em gel de agarose e visualização de bandas por meio de coloração dos fragmentos de DNA com brometo de etídio, diretamente no gel (SAKIYAMA, 1993).

A técnica de RAPD é considerada simples e aplicável a qualquer tipo de organismo, sendo largamente utilizada para avaliação da diversidade genética e para estudos e estratégias de conservação genética de espécies (FERREIRA E GRATTAPAGLIA, 1998).

Dados adicionais sobre a diversidade genética de potenciais genitores obtidos com base em marcadores moleculares podem auxiliar na escolha dos genitores e no planejamento dos cruzamentos, visando à maximização da heterose e das combinações gênicas desejadas.

Cada acesso de um Banco de Germoplasma possui uma sequência de nucleotídeos que compõem seu DNA. A detecção de diferenças entre essas sequências através de poliformismos de fragmentos de DNA, revela um padrão único, ou seja, uma impressão digital genética (genetic fingerprinting) que pode ser utilizada na identificação de indivíduos e também para testes de Paternidade (FERREIRA GRATAPAGLIA, 1995).

Os primeiros marcadores moleculares utilizados foram os fragmentos produzidos pela digestão do DNA com enzimas de restrição. A variação do tamanho dos fragmentos obtidos de diferentes indivíduos, após a digestão com as enzimas de restrição, deu origem à classe de marcadores denominada RFLP (*restriction fragment lenght polymorphism*). Os RFLPs originaram-se de modificações na sequência nucleotídica ou no rearranjo da molécula do DNA no sítio específico de clivagem da enzima de restrição utilizada. Esses marcadores ocorrem naturalmente nos genomas das espécies, apresentam herança mendeliana, codominância e ausência de efeitos epistáticos. São estáveis no genoma, não são afetados pelo ambiente, e podem ser

detectados em qualquer fase do desenvolvimento fenológico da espécie e existem em abundância (FALEIRO et al, 2007)

Com os avanços da genética e da biologia molecular, principalmente, o advento da tecnologia do DNA recombinante, da reação em cadeia da polimerase (PCR) e do seqüenciamento automático do DNA foram desenvolvidas poderosas técnicas para o desenvolvimento de marcadores genéticos úteis na identificação, caracterização e avaliação dos recursos genéticos vegetais (AYAD et al., 1997). As principais tecnologias disponíveis para a obtenção de marcadores genético-moleculares são:

Isoenzimas – Grupo de múltiplas formas moleculares de uma enzima, resultante de variações alélicas dos genes codificadores;

RAPD - fragmentos de DNA amplificados pela reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando primers curtos (geralmente dez nucleotídeos) de seqüência aleatórios (WILLIAMS et al., 1990);

RFLP - fragmentos de DNA obtidos de enzimas de restrição, separados por eletroforese, e visualizados por meio de hibridizações com sondas de seqüências homólogas marcadas com radioatividade ou fluorescência;

Microssatélites – são unidades muito curtas (2 a 5 pb) repetidas em tandem, ou seja, uma após a outra, também conhecidos como SSR (*Simple Sequence Repeats*);

AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) – fragmentos de DNA (80 a 500 pb) obtidos com a digestão do DNA com enzimas de restrição, seguidos da ligação de oligonucleotídeos adaptadores e amplificação seletiva dos fragmentos via PCR. Esse tipo de marcador combina os princípios dos marcadores RAPD e RFLP;

Minissatélites – unidades de 10 a 100 pb repetidas em tandem, flanqueadas por sítios conservados de endonucleases de restrição. Também são conhecidos por VNTRs (*Variable Number of Tandem Repeats*);

CAPS (*Cleaved Amplified Polymorphic Sequence*) – fragmentos de DNA amplificados via PCR, utilizando-se de primers específicos (20 a 30 pb), seguido da digestão com endonucleases de restrição (WILLIAMS et al., 1991);

SSCP (*Single-Strand Conformation Polymorphism*) – fragmentos de DNA de 200 a 800 pb amplificados via PCR usando primers específicos, desnaturados para fita simples e separados por eletroforese;

ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) – fragmentos de DNA de 100 a 3000 pb amplificados via PCR usando um único primer (16-20 pb) construído a partir de sequência de microsatélites;

PCR sequencing – envolve a determinação da sequência de nucleotídeos do fragmento de DNA amplificado via PCR utilizando primers específicos (15 a 30 pb) para dada região do genoma em estudo.

1.3.6. Análise dos Marcadores Genéticos Moleculares e Aplicação

Embora exista grande número de marcadores genético-moleculares, o princípio da análise desses marcadores é o mesmo: marcadores comuns aos acessos significam semelhança genética e marcadores não comuns significam diferenças genéticas. Os dados sobre semelhança e diferença genética entre acessos de determinado banco de germoplasma permitem gerar grande quantidade de

informações sobre a diversidade genética e relacionamentos filogenéticos entre eles (BOREM, 1997).

Cada tipo de tecnologia da genética molecular permite a obtenção de grande número de marcadores que representa uma amostra considerável do genoma de cada acesso sem influência do ambiente. Na maioria das análises realizadas, cada marcador genético-molecular representa um caráter fenotípico distinto e independente dos demais (FERREIRA & GRATAPAGLIA, 1988).

A primeira etapa para a análise dos marcadores genéticos moleculares é a codificação dos fragmentos moleculares em dados binários (no caso de marcadores dominantes) ou dados de coincidência alélica (no caso de marcadores codominantes). Os dados para marcadores dominantes, normalmente, são codificados como 1 (presença do marcador) e 0 (ausência do marcador). Os dados para marcadores codominantes normalmente são codificados como zero (ausência de alelos comuns no loco), 1/2 (um alelo comum no loco) e 1 (os dos alelos comuns no loco). No caso de marcadores baseados na sequência de nucleotídeos, a codificação é a própria sequência de nucleotídeos, a codificação é a própria sequência de nucleotídeos, representada pelas quatro diferentes bases nitrogenadas do DNA (Adenina, Timina, Citosina e Guanina) (FALEIRO et al, 2007).

O segundo passo é utilizar os dados codificados para a estimativa de índices de similaridade ou de distância genética entre cada par de acessos. Existem vários índices descritos na literatura, como o índice de similaridade de GOWER, 1971 (SNEATH & SOKAL, 1973), (NEI & LI, 1979), também citado como coeficiente de similaridade de Jaccard, entre outros. Normalmente, os coeficientes de correlação entre os diferentes índices são muito altos (CORRÊA et al., 1999), embora existam algumas diferenças importantes entre eles (DIAS, 1998). No caso de marcadores baseados na sequência de nucleotídeos de determinado fragmento de DNA, os índices de similaridade ou de distância são calculados com base na homologia de sequência (KIMURA, 1980).

Com base nos índices, estabelece-se uma matriz de similaridade ou de distâncias entre os acessos a qual vai servir de base para as análises de agrupamento e de dispersão dos acessos. As análises de agrupamento normalmente são baseadas em métodos hierárquicos que podem utilizar diferentes critérios de agrupamento: vizinho mais próximo (single linkage), vizinho mais distante (complete linkage) e baseado na média das distâncias (unweighted pair-group method using arithmetic average). Dias, (1988) descreve a aplicação de cada um desses critérios, discutindo sobre as vantagens e desvantagens de cada um. No caso da análise de dispersão dos acessos, o método mais utilizado é aquele baseado em escalas multidimensionais por meio das coordenadas principais. Esse método tem sido denominado análise de coordenadas principais (PCDA – principal coordinates analysis) (GOWER, 1966) e também é discutido por Dias (1988).

Na definição dos marcadores genético-moleculares mais apropriados, deve-se levar em conta o objetivo do estudo (AVISE, 1993). De modo geral, marcadores moleculares multilocos utilizados em DNA *fingerprinting* (por exemplo: RAPD, AFLP, Microssatélites) são mais apropriados para estudos de identidade genética, testes de paternidade e estudos de variabilidade dentro da mesma espécie. Marcadores baseados em comprimentos de fragmentos de restrição como os RFLPs, obtidos de mtDNA, cpDNA, rDNA, são mais apropriados para estudos de diversidade genética de espécies fortemente relacionadas.

Marcadores baseados em análises de seqüências (por exemplo: PCR sequencing) são apropriados para análises de espécies com alto nível de divergência evolucionária, embora possam ser utilizados para análises de espécies ou acessos com qualquer nível de divergência evolucionária.

Os marcadores genético-moleculares permitem gerar grande quantidade de informações sobre a identidade genética, a diversidade, a frequência gênica e os relacionamentos filogenéticos dos recursos genéticos de determinado germoplasma. Tais informações são muito úteis nas diferentes estratégias de conservação dos

recursos genéticos como a *ex situ*, *in situ* e *on farm*. Os marcadores moleculares podem auxiliar nas distintas fases, como a coleta, manutenção, caracterização, manejo, ampliação e utilização dos recursos genéticos (FERREIRA & GRATAPAGLIA, 1998).

As informações moleculares podem complementar outras informações também importantes como: ecológicas, morfológicas e agronômicas dos recursos genéticos, contribuindo para ampliar a eficiência dos processos de coleta, direcionar o enriquecimento da base genética, formar e validar coleções nucleares e de trabalho, analisar a diversidade e a pureza genética, identificar acessos duplicados e redundantes, auxiliar trabalhos de classificação botânica e filogenia, subsidiar a seleção de genitores, o planejamento dos cruzamentos e a seleção de genótipos com características desejadas em programas de melhoramento genético (GREENE et al., 1999; GUARINO et al., 2002).

O princípio da aplicação dos marcadores moleculares é confrontar a variabilidade genética molecular com a distribuição geográfica de vários acessos do germoplasma. Para a análise da distribuição geográfica, informações de latitude e longitude do local de coleta de cada acesso podem ser plotadas conjuntamente com mapas do Sistema de Informação Geográfica – SIG (BRASIL, 1981). Portanto, descritores ecológicos do local de coleta de cada acesso, como o tipo de vegetação, tipo do solo, Estado, Município, bacia hidrográfica, pluviometria média, entre outros podem ser obtidos (OLSEN & SCHAAL, 1999; CARVALHO et al., 2000c; COSTA, 2004).

Tais informações são grandes subsídios que complementam os dados fenotípicos e geográficos e têm orientado a escolha de locais para conservação *in situ*, práticas de coleta para conservação *ex situ* e a procura de combinações gênicas de interesse para programas de melhoramento genético (RICK et al., 1974; ZIMMERER & DOUCHES, 1991; HUANG et al., 1998; COSTA, 2004; FALEIRO et al., 2004e).

1.3.7. Aspectos Socioeconômicos

A exploração da mangabeira, em sua grande parte, é feito sob a forma de extrativismo, ocupando uma grande mão de obra não qualificada, a sua importância vista social e econômica para as populações da zona rural que tem essa frutífera como fonte de renda.

Na colheita extrativista, a produção provém de coleta em plantas individuais, existentes em pequenas glebas ou às margens das estradas, sendo a sua comercialização feita em feiras livres, supermercados, e nas agroindústrias de processamento. Sua produção é sazonal, ocorrendo em duas safras, concentradas nos meses de Dezembro a Março e Junho a Outubro, o que garante um bom período de atividades para as populações que dependem desta frutífera (FERREIRA et al, 2008).

Conforme os dados do Censo Agropecuário realizado pelo IBGE, em 2012, é registrada uma produção nacional de 677 t de frutos. com um valor da produção de R\$ 1.015.500,00. Os maiores estados produtores de mangaba são: Sergipe, Bahia, Paraíba, e o Rio Grande do Norte.

Do volume total de frutos comercializados durante o período de 2007 a 2012, cerca de 96 %, vieram dos Estados do Rio Grande do Norte (60 %) e Paraíba (36 %); sendo os municípios de Ceará-mirim (RN) e Mamanguape (PB), os responsáveis pela maior parte dessa produção extrativista.

1.3.8. Características de importância agronômica

Propagação

Segundo Borges & Zica (1994) a propagação da mangabeira é feita por via sexuada, devendo-se semear suas sementes tão logo sejam retiradas dos frutos maduros. Estas, ainda devem ser lavadas em água corrente, para eliminar os resíduos da polpa que provavelmente inibem a germinação. Fora dos frutos, o poder germinativo das sementes declina rapidamente, inviabilizando-as ao término de uma semana.

Andersen & Andersen (1988) e Vieira Neto (1994) afirmam que até o momento, a semente é a forma mais viável para a produção de mudas de mangabeiras. Contudo, há certos problemas na germinação que merecem cuidados especiais, tais como: lavar bem as sementes, sem que fique nenhum resíduo da polpa, pois esta dificulta a germinação, o poder germinativo decresce rapidamente entre o quarto e oitavo dia da retirada do interior do fruto.

Aguiar Filho & Bosco (1998), afirmaram que a propagação da mangabeira também pode ser feita pelo processo sexuada, através da semente, ou pelo processo assexuada mediante o uso de parte vegetal, ou seja, a enxertia. Normalmente, a porcentagem de germinação de sementes de mangaba é baixa, devido não só a presença de inibidores na polpa como também ao fato de suas sementes serem recalcitrantes (LORENZI, 1992).

Tal fato foi constatado em pesquisa realizada por Tavares (1960) onde o mesmo verificou uma diminuição na germinação de sementes dessa espécie quando não eram removidos os resíduos da polpa.

De acordo com Roberts (1973), as sementes recalcitrantes não sofrem secagem natural na planta matriz e são liberadas com elevado teor de água. Se o teor for reduzido a um nível considerado crítico, geralmente elevado, ocorrerá à perda rápida da viabilidade, podendo levar até a morte.

Marinho et al (2003) estudando diferentes métodos de enxertia em mangabeira, observou que os métodos de borbúlia em janela ou placa e garfagem no topo em fenda cheia apresentaram as maiores porcentagens de pegamento e índices de velocidade de brotação.

Pereira et al (2003) avaliando métodos de enxertia na cultura da mangabeira, também concluíram que o método da garfagem de topo em fenda cheia, é o que melhor se apresenta, principalmente com garfos sub apicais em local com 50% sombreado. A vantagem dos garfos subapicais parece estar associada as suas maiores quantidades de tecido de reserva determinadas por maiores diâmetros. Os garfos apicais são mais finos e mais sujeitos à desidratação e à morte. Ao contrário do ambiente a pleno sol, o de 50% de sombra propicia temperaturas mais amenas e favorece a manutenção do estado hídrico adequado dos garfos e conseqüente pegamento dos enxertos.

Ribeiro (1992) comenta que as sementes separadas da polpa e lavadas, podem conservar o seu poder de germinação por um período aproximado de um mês, com uma percentagem média de 75%. Parente & Machado (1986) em estudo semelhante observaram que, o poder germinativo das sementes obtidas de frutos colhidos maduros, atingiu uma média de 86% mostrando-se mais elevado que naquelas provenientes de frutos colhidos “de vez”, que foi em média de 60%.

Aguiar Filho et al. (1995), estudando o efeito da secagem na qualidade de sementes da mangaba, obteve um máximo de germinação de 80,91% às 40,3 horas de secagem, com as sementes detendo, aproximadamente, 26% de umidade, e, para cada hora de retardamento na secagem, ocorreu uma redução de aproximadamente 0,62% no vigor e de 3,5% no peso de 100 sementes.

Estudos de meios de cultura que favoreçam a germinação *in vitro* dessa espécie são importantes, tanto para maximizar a taxa de germinação como para obter plântulas com qualidade genética e fitossanitária adequada, que sirvam como fonte de explantes

em experimentos de cultura de tecidos e que facilitem a conservação e transferência de germoplasma da espécie (PINHEIRO et al., 2001). No entanto, alguns problemas têm sido identificados na micropropagação da mangabeira e, dentre eles, destacam-se os contaminantes fúngicos e bacterianos presentes em explantes oriundos de plantas adultas que dificultam o estabelecimento de protocolos de micropropagação (ALOUFA, 2003; LEMOS et al., 2006).

Germinação de sementes

A escolha do substrato e da temperatura adequados para o teste de germinação da maioria das espécies nativas são requisitos ainda desconhecidos. Desta forma, vários trabalhos têm enfatizado a interação do substrato e da temperatura para condução de testes de germinação e vigor de sementes de espécies frutíferas e florestais.

Soares et al. (2007b), utilizando os substratos areia, vermiculita e areia mais vermiculita, na germinação de sementes de mangaba observaram que as sementes apresentam elevada taxa de germinação, independente do tipo de substrato utilizado.

Cardoso (1999) sugere que a germinação diminui em temperaturas acima de 35°C, devido ao aumento da inativação do fitocromo endógeno (forma ativa) ocorre fluidificação de lipídeos e desordenação das membranas (BORGES e RENA, 1993); por outro lado, em baixas temperaturas, pode estar havendo desativação de enzimas e limitação do crescimento do embrião. Também podem alterar o metabolismo de sementes imaturas, após a embebição, aumentando a síntese de nucleotídeos, e as taxas de crescimento e desenvolvimento (CARVALHO e CAMARGO, 2003).

Temperaturas muito altas para a propagação podem inativar enzimas e desnaturar proteínas (MAGUIRE, 1973). De acordo com Carvalho e Nakagawa (2000)

a temperatura influencia na germinação, tanto por agir sobre a velocidade de absorção de água, como também, sobre as reações bioquímicas que determinam todo o processo.

Florescimento e Frutificação

A floração e frutificação da mangabeira são irregulares, variando em função do ano e da época do ano, entre populações e entre indivíduos da mesma população. Os frutos quando maduros desprendem-se dos ramos e são facilmente danificados por agentes externos, prejudicando sua utilização para o consumo "in natura". (PARENTE & MACHADO, 1986).

Segundo Andersen & Andersen (1988), e Vieira Neto (1994), a mangabeira começa a produzir com cinco anos de vida. Para o primeiro autor, ela floresce em agosto e frutifica pela primeira vez, entre janeiro e março. É a conhecida “safra do botão”. A segunda floração vai de abril a junho, e é chamada de “safra das flores”.

De acordo com Vieira Neto (1994), quando a mangaba está no seu ponto máximo de desenvolvimento, desprende-se da árvore e completa o amadurecimento, 12 a 24 horas depois dessa queda. Porém, uma vez maduros, tornam-se bastante perecíveis. Por isto, a maior parte da mangaba comercializada é colhida “de vez”, completando seu amadurecimento 2 a 4 dias após, proporcionando um maior tempo para o transporte e comercialização, sem prejuízo na qualidade, desde que, estes frutos tenham sido colhidos no ponto ideal de desenvolvimento.

Andersen & Andersen (1988) comentaram que o ponto ideal de colheita é quando os frutos atingem o máximo de seu desenvolvimento e as primeiras frutas caem maduras ao chão. Após a colheita, as frutas deverão ser guardadas pelo menos 24 horas

ou até que fiquem macias, quando não liberem mais látex, que trava a boca e pode até intoxicar o organismo.

Aguiar Filho & Bosco (1995) fazendo observações relacionadas ao período compreendido entre a abertura da flor e a maturação do fruto, evidenciaram que seu ciclo dura de 100 a 110 dias e, em trabalho de seleção de materiais provenientes de alguns estados produtores do Nordeste, em banco de germoplasma, alguns acessos produziram sua primeira safra aos 42 meses, com produções que variaram de 4,7 kg a 10,5 kg por planta.

Características físicas e químicas de frutos

Parente et al. (1985) avaliando sete frutos de mangaba no estágio maduro, observaram médias de 38,70 g por fruto, 2,71 cm (diâmetro transversal), 3,64 cm (diâmetro longitudinal) e rendimento de polpa de 56,67%, ao passo que Vieira Neto (1997) encontrou 93,7% de rendimento de polpa. Silva et al (1984b), observaram em frutos de mangabeira média de 31,0 g de peso, sendo 3,6 g de casca, 21,5 g de polpa e 6,0 g de sementes. Aguiar Filho (1995), em estudo de caracterização física dos frutos, observou percentagem média de polpa em torno de 90%, com 6% de sementes e 4% de resíduos.

Em estudos de caracterização físico-química de frutos de mangabeira, Silva et al. (1984); Lemos et al (1989); Parente et al. (1995); e Ferreira et al. (1995), observaram resultados relativamente semelhantes.

O conhecimento sobre a composição química dos frutos das espécies apresenta grande importância, pois demonstra o potencial econômico das mesmas e subsidia a seleção adequada de plantas matrizes, o cultivo e a produção de frutos visando ao seu

aproveitamento na indústria de alimentos e permitindo obter informações sobre a qualidade do produto final (VALLILO et al. 2005, DIAS et al. 2007).

Tabela 1. Composição Química da mangaba.

Calorias	47,5 kcal	Vitamina B2	40 meg
Glicídios	10,5 g	Vitamina C	33,0 mg
Proteínas	0,70 g	Niacina	0,500 mg
Lipídios	0,30 g	Fósforo	18 mg
Cálcio	41 mg	Ferro	2,80 mg
Vitamina A	30 meg	Vitamina B1	40 meg

Fonte: ENDEF – Tabela de composição de alimentos (100g de polpa). 1981.

Produção

O Brasil é grande produtor mundial de mangaba chegando a produzir mais de 1.306 toneladas (IBGE, 2008). Atualmente, (IBGE, 2012) a produção brasileira é de aproximadamente 677 toneladas, com uma redução da produção de aproximadamente 50%. A produção tem significativa participação da região Nordeste, sendo os estados de Sergipe, Bahia e Paraíba os maiores produtores, seguida da região Sudeste e Centro-Oeste.

Tabela 2. Principais Estados produtores na Região Nordeste do Brasil. (ton).

ANOS	BA	SE	AL	PE	PB	RN	CE	PI	MA	NE	Brasil
2001	170	492	-	-	-	28	-	-	-	690	1.181
2002	163	475	32	-	-	31	-	-		701	1.147
2003	164	500	37	-	-	63	-	-	-	764	999
2004	169	509	31	-	-	76	-	-	-	785	790
2005	163	497	19	-	48	79	-	-	-	806	811
2006	162	754	08	-	69	65	-	-	-	1.058	1.067
2007	250	892	08	-	93	55	-	-	01	1299	1.306
2008	130	789	09	-	99	60	-	-	01	1.088	1.096
2009	198	705	38	-	100	39	01	-	01	1.082	1.090
2010	198	803	40	-	102	67	01	-	02	1.212	1.213
2011											680
2012											677

Fonte: IBGE – Sidra, 2013

Ainda não existem estudos que forneçam dados relativos à produtividade média da mangabeira. Todavia, existe uma estimativa em torno de 4 toneladas/ha/ano, (VIEIRA NETO, 1994).

Na região Nordeste do Brasil, as mangabeiras oriundas de sementes iniciam o florescimento e a frutificação entre o terceiro e o quinto ano depois do plantio (VIEIRA NETO, 2001), sendo que Aguiar Filho et al. (1998) constataram que apenas

20% das plantas oriundas de sementes frutificaram até o quarto ano. Comportamento semelhante tem sido observado nas mangabeiras plantadas na região do Cerrado.

O surgimento das inflorescências nas ponteiros dos ramos indica que o potencial de florescimento e frutificação da mangabeira depende do número de ramos.

Na região do Cerrado também prevalece a atividade extrativista, registrando-se poucos plantios comerciais. A produção das mangabeiras nativas do Cerrado é variável, chegando até 188 frutos/planta segundo Rezende et al.,(2002) e de 100 a 400 frutos/planta (SILVA et al., 2001). Na Embrapa Cerrados, foram avaliadas matrizes com até 2200 frutos numa única safra, pesando até 120 g/fruto e contendo até 40 sementes/fruto.

Nos Tabuleiros Costeiros e na Baixada Litorânea do Nordeste, também predomina a atividade extrativista, mas já começam a surgir os primeiros plantios desta fruteira, sendo o potencial de produção estimado em 10 a 12 t/ha, a partir do quinto ano depois do plantio (VIEIRA NETO, 2001) e de 100 kg/planta/ano ou 20 t/ha/ano, estabilizando a produção após o décimo ano (AGUIAR FILHO et al., 1998). Esses números evidenciam o potencial de produção da espécie, ainda pouco explorado pela pesquisa.

Nas condições do Litoral Paraibano, observações com plantas provenientes de sementes evidenciaram variação do início de frutificação, entre 4 e 5 anos, com rendimento de 700 kg/ ha, no espaçamento de 7 x 7 m, com 204 plantas/ha. No quinto, sexto e sétimo anos de idade registraram-se produtividade de 1.700, 3.600 e 10.000 kg/ha, respectivamente.

A exploração extrativista é comum e corriqueira nos estados, pelo fato da cultura ocorrer de forma espontânea e natural na região dos tabuleiros costeiros dos Estados. Com a forte demanda desse fruto e a redução das áreas devolutas por razões diversas, causando diminuição de áreas extrativistas e, ao mesmo tempo, a conscientização de que essa frutífera se constitui como a melhor opção de cultivo, a implantação e ampliação dos pomares já é um fato perceptível, pois haja vista que,

tanto existe a necessidade da produção de frutos como a recomposição da cobertura vegetal da Mata Atlântica e a recuperação de matas ciliares do ecossistema.

Apesar de a mangabeira ser nativa de região litorânea, onde as chuvas são abundantes, mas o excesso prejudica a cultura na fase de frutificação, com a queda de flores e frutos novos, surgindo doenças fúngicas, sendo bastante prejudicial à produção de mudas, ocorrendo doenças causadas por fungos que se manifestam pelo excesso de umidade.

No período das estiagens, a mangabeira vegeta com grande exuberância, apresentando-se mais vigorosa e sadia, mas, ocasionalmente aparece uma doença denominada de seca descendente, que não chega a afetar de forma econômica a cultura, que se recupera logo em seguida.

No extrativismo, a questão das mudas não representa nenhum problema, pelo fato destas germinarem naturalmente com a caída dos frutos, e posterior germinação pontual das sementes, de forma aleatória, no local definitivo, realizando, assim, uma recomposição natural da espécie, necessitando apenas de ações de preservação ambiental.

A cultura da mangabeira por ser, ainda, considerada silvestre, não apresenta pragas e doenças que cheguem a comprometer economicamente sua produção e, por isso, não se aplica práticas de controle fitossanitário requeridas eventualmente, durante o seu ciclo.

Não existe nenhum controle oficial dos órgãos competentes, com relação aos dados de produção das regiões de ocorrência, o que provoca conflitos de informações quando se confronta dados oficiais (IBGE), com os de trabalhos desenvolvidos neste sentido, em iniciativas específicas para a cultura. Os dados de ambos os lados divergem diametralmente, sem uma explicação plausível para o caso, presumindo-se

assim que, pelo fato da cultura não ter um reconhecimento semelhante às demais já estabelecidas, a pesquisa oficial é falha, diante de trabalho semelhante e dirigido.

Colheita e Pós-colheita de frutos

O ponto ideal de colheita da mangaba ainda não está devidamente determinado, o que faz com que essa atividade ainda seja realizada de maneira um tanto quanto empírica. Quando fisiologicamente maduro, o fruto se desprende da planta e cai no solo, provocando, com isso, danos mecânicos que prejudicam a sua aparência, além da presença de detritos e micro-organismos do solo que depreciam sua qualidade (LEDERMAN, 2000).

A colheita é feita manualmente, coletando-se os frutos caídos no solo, ou colhendo-se diretamente na árvore, os frutos “de vez”. Neste estágio, os frutos adquirem uma coloração mais amarelada e a pele torna-se menos áspera. Além disso, mostram-se ligeiramente macios quando pressionados, podendo ser armazenados até atingirem o completo amadurecimento, que ocorre entre 2 e 3 dias após a colheita (FERREIRA, 2006)

Os frutos coletados do chão, conhecidos como “de caída” ou “de queda”, são aqueles que se desprendem da árvore, completando o amadurecimento poucas horas após a queda. Esses frutos são os mais valorizados no mercado, embora não possam ser armazenados à temperatura ambiente, devendo ser logo beneficiados. São muito moles e perecíveis, o que dificulta a perfeita higienização por meio da lavagem.

De uma forma geral, os frutos colhidos devem ser lavados e secados à sombra em local arejado, sendo em seguida acondicionados em caixas de plástico, quando então deverão seguir para a agroindústria ou para as centrais de abastecimento. Quando a produção é destinada à indústria, os frutos maduros poderão ser acondicionados em sacos plásticos apropriados e congelados para posterior processamento, ou, ainda,

podem ser imediatamente despulpados e acondicionados em embalagens que variam de 200 g a 10 kg, dependendo do destino.

A fruta ou a polpa concentrada, mantidas em temperatura adequada, conservam suas propriedades por mais de um ano.

1.3.9. *Processamento*

O aproveitamento da mangaba pelas indústrias de processamento é o próprio reflexo da situação em que se encontra o seu cultivo, sendo utilizada quase exclusivamente na fabricação de sucos concentrados, sorvetes e da polpa congelada. Outros derivados como doces, compotas, geléias e refrigerantes são poucos difundidos e praticamente desconhecidos da maioria dos consumidores, em parte, devido à escassez da matéria prima existente no mercado (LEDERMAN e BEZERRA, 2003).

Aragão (2003) afirma que, o processamento da polpa congelada de mangaba tem início no momento da aquisição da matéria-prima, devendo-se adotar as seguintes estratégias:

- 1- visitar fornecedores para verificar o ambiente da colheita e o uso de agrotóxicos;
- 2- solicitar o acondicionamento em caixas ou baldes higienizados;
- 3- recomendar e/ou fornecer rolos de papel apropriados para forrar caixas;
- 4- só receber frutas selecionadas quanto ao estágio de maturação;
- 5- só receber se não apresentar descascamentos em 90% das frutas;
- 6- fazer avaliação da aparência, da textura, da cor, do odor e do sabor das frutas;
- 7- examinar se apresentam pragas.

De acordo com (ARAGÃO, 2003), o processamento da polpa congelada de mangaba, desenvolvido em uma determinada agroindústria, deve envolver as seguintes etapas:

- Pré-seleção: Prevê a retirada das frutas verdes e impróprias ao aproveitamento;
- Pesagem: Promove o cálculo do rendimento dos frutos;
- Pré-lavagem e lavagem: Caso apresentem sujeiras aparentes, as frutas recebem um banho de chuveirinho na própria caixa e depois são imersas em água com hipoclorito de sódio a 5 ou 10 ppm, durante 10 minutos. Em seguida, são lavadas para retirada de resíduos e do excesso de cloro. O resfriamento em câmara fria por algumas horas é importante para que as frutas fiquem mais firmes e suportem melhor a lavagem;
- Despolpa: Feita em despolpadeiras de aço inox, com capacidade para 500 kg/hora;
- Refinamento: Processo semelhante a despolpa, utilizando peneira com orifícios menores (0,8 a 1 mm) para se obter uma polpa menos fibrosa e com melhor aparência;
- Pasteurização: A polpa da mangaba é aquecida a 80 °C, durante 20 segundos, e é resfriada, logo em seguida, para eliminar a maioria das formas de micro-organismos;
- Envasamento: A polpa pasteurizada cai no tanque da envasadora automática, que enche 1500 embalagens plásticas de 100 g de polpa por hora. As embalagens são esterilizadas durante o seu processo de fabricação e, ao envasar, a polpa passa por uma lâmpada germicida que reforça o processo de higienização;
- Congelamento: As polpas são colocadas em bandejas de forma adequada e congeladas a – 20 °C (sem flutuações de temperatura, para evitar a cristalização e a depreciação da qualidade);

- Armazenamento: É feito em sacos plásticos, com capacidade para 10 polpas de 100g, que são acondicionados em caixas plásticas na câmara de armazenamento, a uma temperatura de -18°C , tendo validade de um ano;

- Controles e análises: Os dados de produção são anotados numa planilha, constando lote, data, peso da fruta, peso da polpa, teor de sólidos solúveis totais, quantidade de polpas produzidas, teste sensorial, local de armazenamento.

Embora apresente boa qualidade, a polpa de mangaba possui uma significativa quantidade de látex, que dificulta a limpeza das máquinas e dos equipamentos. Vários produtos foram testados, sem sucesso, para a retirada do látex: ácido nítrico, soda cáustica líquida, cloro e detergente neutro. O método tradicional que usa óleo vegetal e bucha foi o mais eficiente, porém, a lavagem das tubulações do pasteurizador é difícil. A criação de um produto de limpeza adequado seria uma contribuição importante, bem como a criação de variedades com menor teor de látex no fruto maduro, pois facilitariam o processamento da polpa e aumentariam o seu mercado (ARAGÃO, 2003).

1.3.10. Segurança Alimentar

O consumo de um alimento está diretamente relacionado com as suas características e propriedades externas, tais como tamanho, formato, grau de maturação, cor, sabor, textura, consistência e frescor. Não obstante, tais características sensoriais e nutritivas, devem estar compatíveis e coerentes com as características internas que revelam a segurança química, física e microbiológica do alimento (FRANCO & LANDGRAFF, 2005)

Um alimento apto para o consumo é aquele alimento que não causa doença ou injúria ao consumidor (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION/1994). Outro

entendimento para alimento seguro destaca que a ausência de contaminações químicas, físicas e microbiológicas garante segurança aos alimentos.

Entende-se por perigos as contaminações ou agentes de natureza física, química ou microbiológica que podem tornar um alimento não seguro para o consumo (US National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods, 1992; World Health Organization, 2005). Os perigos físicos são aqueles provocados por materiais que podem machucar o consumidor do alimento, são exemplos: pregos, pedaços de plástico, fragmentos de ossos, pedaços de vidros, pedras, fragmentos de utensílios utilizados na preparação do alimento e fragmentos das embalagens dos alimentos, entre outros. Os perigos químicos são advindos da adição de substâncias tóxicas, em excesso, utilizadas na higienização e sanitização de equipamentos e utensílios usados, da utilização de diluições em desacordo àquelas recomendadas pelo fabricante e pela incorporação de aditivos, metais pesados, antibióticos e praguicidas às matérias-primas. Como perigos microbiológicos, destacam-se: vírus, bactérias, fungos, protozoários e helmintos que venham contaminar os alimentos em sua origem ou durante seu processamento (GERMANO, 2003). Vale salientar que os perigos microbiológicos são as principais causas de contaminação dos alimentos e que os manipuladores são responsáveis pela contaminação microbiológica dos alimentos.

Assim, uma manipulação inadequada dos alimentos certamente oferece perigo aos alimentos. Visando evitar ferimentos, doenças e até a morte das pessoas, é necessária uma manipulação adequada, consciente, capacitada e responsável dos alimentos.

O termo segurança alimentar é utilizado como tradução de dois termos da língua inglesa: *food security* e *food safety*. O termo *food security* envolve o termo *food safety*, que significa garantia do consumo alimentar seguro no âmbito da saúde coletiva, ou seja, de produtos livres de contaminantes de natureza biológica, química e física (SPERS e KASSOU, 1996).

No *Codex Alimentarius* (2004), o contexto da análise de risco consiste em três atividades interligadas: avaliação de risco; administração de risco e comunicação do risco em relação à segurança do alimento.

Como ferramenta governamental, a *Internacional Commission of Microbiological Specification of Foods* (ICMSF), *Codex Committee on Food Hygiene* (CCFH) e as reuniões da WHO/FAO (2004) contribuíram na descrição dos diferentes passos necessários a uma análise de risco microbiológico. A avaliação do risco e a administração em segurança alimentar fazem descrições e análises sistemáticas do risco de um determinado alimento, reportando-me às metas de saúde pública para proteção dos consumidores, e a comunicação é o meio pelos quais as informações elaboradas pela administração são levadas aos indivíduos afetados pelo perigo, e que esses avaliem a eficácia da administração.

No Brasil, a responsabilidade pela fiscalização e controle da qualidade dos alimentos fica sob a responsabilidade do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2007).

No caso dos alimentos que estão sob a responsabilidade do Ministério da Saúde (MS) secretariado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a fiscalização fica a cargo do governo municipal (GERMANO; GERMANO; OLIVEIRA, 1998).

Segundo a Resolução – RDC (Resolução de Diretoria Colegiada) N° 12, de 02 de janeiro de 2001, do Ministério da Saúde e ANVISA, foram definidos Padrões Microbiológicos Sanitários para alimentos caracterizados e considerados de interesse sanitário.

Para o estabelecimento de procedimentos de Boas Práticas de Fabricação (BPF) para serviços de alimentação, a ANVISA publicou a RDC N° 216, de 15 de setembro de 2004, que são ações constituídas por regulamentos técnicos que visam normatizar o APPCC e BPF (BRASIL, 2004b).

Boas Práticas de Fabricação (BPF), segundo Szacher (2004), são um conjunto de regras, normas e atitudes, que quando aplicadas ao manuseio de alimentos asseguram que estes cheguem até o consumidor em condições higiênicas sanitárias adequadas e suficientes para atendimento do que determina a legislação em vigor.

1.3.11. Qualidades Microbiológicas de Polpas de Frutas

Todos os alimentos, independente de sua origem, podem apresentar uma microbiota natural extremamente variável, concentrada principalmente na região superficial, embora os tecidos internos, tanto de vegetais como de animais, possam eventualmente, apresentar formas microbianas viáveis (FAZIO, 2006).

Com base na composição nutricional das frutas, pode-se presumir que estas são capazes de sustentar o desenvolvimento de bactérias, bolores e leveduras. Contudo, o seu pH é mais baixo do que o intervalo que favorece o crescimento bacteriano. Por outro lado, a ampla faixa de pH de crescimento de bolores e leveduras propicia que estes atuem como agentes de alteração das frutas. A presença de fungos e leveduras é preocupante principalmente devido a sua capacidade de produzir micotoxinas, algumas mutagênicas e carcinogênicas (FRANCO & LANDGRAF, 2005).

Ainda que os produtos de frutas sejam mais suscetíveis à contaminação por bolores leveduras, surtos de doenças entéricas causados por bactérias, parasitas e vírus contaminantes destes produtos têm sido documentados.

Devido à sua composição, as polpas de frutas constituem-se em bons substratos para o desenvolvimento de micro-organismos, os quais, além de deteriorar o produto, podem acarretar danos à saúde do consumidor. Para garantir a oferta de um produto isento de contaminações, é necessário que se realize um rigoroso controle do processo produtivo e do produto. A conservação das polpas de frutas e a manutenção da qualidade microbiológica exigida pela legislação têm sido atendidas principalmente pelo emprego da pasteurização e do congelamento (SEBASTIANY *et al.*, 2009).

Os microrganismos de interesse em alimentos são encontrados em três grandes grupos: bactérias, bolores e leveduras. Certos tipos de vírus e de alguns parasitas são, também, causadores de problemas de saúde pública, sendo importante porque podem ser veiculados através dos alimentos (ANDRADE, 2006).

A capacidade de crescimento e/ou sobrevivência dos microrganismos patogênicos nos alimentos dependem não só das características físicas e nutricionais do alimento, como também de um conjunto de fatores extrínsecos e intrínsecos ao próprio alimento. Bactérias patogênicas e/ou suas toxinas causam a maioria dos surtos e casos notificados de Doenças Transmitidas por Alimentos - DTA (PINTO, 2004; MASSAGUER, 2005).

Segundo FRANCO e LANDGRAF (2005) dentre os principais fatores que determinam a capacidade de multiplicação de microrganismos nos alimentos podem ser citados:

- O MEIO NUTRITIVO: disponibilizando nutrientes para sua multiplicação, como água, energia, nitrogênio; vitaminas e sais minerais.
- ATIVIDADE DE ÁGUA (Aa): Para seu metabolismo e multiplicação, os microrganismos exigem a presença de água na forma disponível.
- TEMPERATURA AMBIENTE: Os microrganismos podem multiplicar-se em uma faixa bastante ampla de temperatura, havendo registros de multiplicação a um mínimo de -35°C e um máximo de 90°C.
- pH: pH em torno da neutralidade, isto é, entre 6,5 e 7,5 é o mais favorável para a maioria dos microrganismos.
- POTENCIAL DE OXI-REDUÇÃO
- UMIDADE RELATIVA (UR): há uma relação estreita entre a Atividade de Água (Aa) de um alimento e a umidade relativa de equilíbrio do ambiente. Assim, alimentos conservados em ambiente com UR superior à sua Aa, tenderão a absorver umidade do ambiente, causando um aumento da Aa no alimento. Essas alterações provocarão

modificações na capacidade de multiplicação dos microrganismos presentes, que será determinada pela Aa final.

- FATORES ANTIMICROBIANOS NATURAIS: representados pela presença natural de algumas substâncias nos alimentos, que têm a capacidade de retardar ou mesmo impedir a multiplicação microbiana.

Padrões microbiológicos exigidos pela legislação

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001) define os padrões microbiológicos para cada alimento. As polpas de frutas concentradas ou não, com ou sem tratamento térmico, refrigeradas ou congeladas, possuem parâmetros somente para coliformes a 45 °C e para *Salmonella ssp.*, com no máximo 10^2 UFC.g-1 e ausência em 25 g, respectivamente, não apresentando limite para a contagem padrão total e para bolores e leveduras.

Contudo, a literatura reporta resultados de estudos que apresentam elevadas contagens destes micro-organismos, demonstrando ser discutível a não adoção destes critérios na avaliação da qualidade de sucos, refrescos, néctares e polpas de frutas nesta Resolução (SEBASTIANY *et al.*, 2009).

A legislação vigente no âmbito do Ministério da Agricultura (Instrução Normativa nº1, de 07 de janeiro de 2000) (BRASIL, 2000), por sua vez, fixa os limites máximos microbiológicos para polpa de frutas, tais como:

*Bolores e leveduras: máximo 5×10^3 UFC.g-1 para polpa "*in-natura*", congelada ou não, e 2×10^3 UFC.g-1 para polpa conservada quimicamente e/ou que sofreu tratamento térmico.

*Coliformes fecais: máximo de 1.g-1

* *Salmonella* ssp.: ausente em 25 g

As bactérias do gênero *Staphylococcus* também estão associadas a DTAs. A incidência de *Staphylococcus aureus* em alimentos decorrer da contaminação na superfície de utensílios e equipamentos mal sanitizados e manipulação inadequada. Os indivíduos portadores desta bactéria são grandes fontes de contaminação para os alimentos por eles manipulados, pois quando tosse ou espirram sobre os alimentos, ou trabalham com cortes e arranhões na pele, podem atuar como um veículo de contaminação do alimento (FRAZIER e WESTHOFF, 1993).

As bactérias do grupo coliforme a 35°C (coliformes totais) são bastante comuns em alimentos, uma vez que se originam do próprio solo de cultivo, fazendo parte da microbiota normal se os produtos forem cultivados em solo livre de contaminação fecal, irrigados com água de boa qualidade e manipulados sob condições de boas práticas. Sob esse aspecto, são indicadores da qualidade higiênico-sanitária dos processos e, se encontradas em altos índices populacionais, indicam risco de veiculação de outros patógenos como a *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Yersinia enterocolitica*, *E. coli* (SILVA; GANDRA, 2001).

Segundo PALU (2002), qualquer alimento que tenha sua superfície cortada é mais suscetível ao ataque por microrganismos que se encontram no próprio tecido vegetal ou proveniente do solo e ar; além disso, a liberação de nutrientes pelo corte e a manipulação também contribui para uma possível contaminação do alimento.

A pesquisa de coliformes fecais nos alimentos fornece informações sobre as condições higiênico-sanitárias do produto e melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos. Em alimentos vegetais frescos o único indicador válido de contaminação fecal é a *E. coli*, visto que indica a quantidade dos microrganismos

oriundos de excretas humanos, portanto com risco de serem patogênicos (FRANCO; LANDGRAF, 2005; JANEWAY, 2007).

E. coli são bactérias causadoras de toxinfecções alimentares através da produção de toxinas e/ou multiplicação da bactéria. A contagem destes microrganismos, sobretudo de origem fecal, indica as condições de higiene em que são submetidos os alimentos (JAY, 2005).

1.3.12. Sistema de Comercialização

Um grande percentual do total da produção é vendido *in natura* para intermediários, que determinam o preço, uma vez que não há pesquisa de mercado, tampouco contratos, não havendo divisão dos riscos entre as partes, sendo estes arcados apenas pelo produtor. Os produtos não são classificados pelos exploradores, uma vez que esta produção é destinada para comércio nas feiras-livres municipais supridas pelos intermediários, à parte restante, que corresponde a um pequeno percentual é vendida pelos próprios produtores diretamente aos consumidores, ou levada para as agroindústrias, que faz uma pequena seleção apenas para separar os frutos imprestáveis. O armazenamento, propriamente não acontece, havendo apenas, um pequeno espaço de tempo para que seja transportado ao seu destino final.

O apoio institucional é praticamente inexistente, principalmente o de assistência técnica e ligações com órgãos de pesquisa e experimentação, ocorrendo parceria do MAPA/CNPq/empresas de pesquisas, que sensibilizados com o potencial da cultura e a necessidade da preservação em face da devastação do seu habitat natural, promoveram a difusão da importância desta espécie, alavancando-a e mobilizando sua cadeia produtiva, provocando sua projeção para o patamar das fruteiras regionais.

A padronização de frutos e sua regulamentação, ainda, são inexistentes, embora que, não afetam o mercado onde sua comercialização é realizada, pelo fato do público consumidor deste padrão, não serem exigentes em relação a estes parâmetros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR FILHO, S. P.; BOSCO, J.; MELO, A. S. **Efeito da secagem de sementes de mangaba** (*Hancornia speciosa* Gomes). João Pessoa: EMEPA, 1995.

AGUIAR FILHO, S. P. de; BOSCO, J.; ARAÚJO, I. A. **A mangabeira (*Hancornia speciosa*):** domesticação e técnicas de cultivo. João Pessoa: Emepa-PB, 1998a. 26p. (Emepa-PB. Documentos, 24).

AGUIAR FILHO, S. P.; BOSCO, J. A mangabeira e sua importância para o tabuleiro costeiro paraibano; **Informativo SBF**, Itajaí – SC. v. 14, n. 4, p. 10, dez. 1995.

ANDERSEN, O.; ANDERSEN, V. **As frutas silvestres brasileiras**. 3 ed. São Paulo: Globo, 1988. 203p. p. 147 - 50. (Coleção do Agricultor. Fruticultura) (Publicações Globo Rural).

ANDRADE, E. C. B. **Análise de alimentos:** uma visão química da nutrição. São Paulo: Livraria Varela, 2006. 238p.

ALOUFA, M. A. I. Multiplicação e conservação *in vitro* de mangabeira. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA. 1., 2003, Aracaju. **Anais...** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. 1 CD-ROM. Seção Palestras.

AYAD, W. G.; HODGKIN, T.; JARADAT, A.; RAO, V. R. (Ed.). **Molecular genetic techniques for plant genetic resources**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1997. 137 p.

ARAGÃO, G. de C. Industrialização e comercialização da mangaba em pequenas empresas: a experiência da Pomar. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 2003, Aracaju, SE. **Anais...** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. 1 CD-ROM.

BARROS, R. C. Mangabeira, rainha dos tabuleiros. **Mundo Agrícola**, São Paulo, v. 16, n. 191, p. 9-12, 1967.

BORÉM, A. **Melhoramento de Plantas**. Viçosa: UFV, 1997. 547 p.

BORGES, C.; RENA, A. B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. (Coord.) **Sementes florestais tropicais**. Brasília: Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, 1993. p.88-135.

BORGES, J. D.; ZICA, L. F. Efeito de Fito-hormônio de enraizamento em estacas de mangabeira. In: **Congresso Brasileiro de Fruticultura**, 13. Salvador – BA. 1994. **Anais...** Salvador - BA, Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1994. p. 777 – 8.

BARREIRO NETO, M. Recursos genéticos para o melhoramento da mangabeira no Estado da Paraíba. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 1., 2003, Aracaju. **Anais...** Aracaju: Embrapa CPATC, 2003. (CD-ROM).

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Métodos analíticos oficiais para o controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. I. Métodos microbiológicos.** Brasília, 1981.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº. 12**, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico que dispõe sobre Padrões Microbiológicos sanitários para Alimentos. Brasília, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa Nº 1, de 7 de janeiro de 2000. **Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de frutas.** Diário Oficial da União, Nº 6, Brasília, 10 de janeiro de 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução - RDC nº 216 de 15 de setembro de 2004.** Disponível em: <http://www.elegis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=8134>>. Acesso em 12 nov. 2004b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Um Mundo Mais Íntegro. **In:** REETZ, E. R. Anuário Brasileiro da Fruticultura 2007. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, Santa Cruz, 2007.

CARDOSO, V. J. M. Thermal-dependence of the germination of *Catharanthus roseus* seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.11, n.1, p. 41-49, 1999.

CARVALHO, M. L. M.; CAMARGO, R. Aspectos bioquímicos da deterioração de sementes. **INFORMATIVO ABRATES**, Londrina, v.13, n.1/2, p.66-88, 2003.

CARVALHO, N.M., NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** 4 ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588p.

CARVALHO, L. J. C. B.; SCHAAL, B. A.; FUKUDA, W. M. G. Phenetic relationships and genetic diversity among geographic landraces of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) revealed by PCR-based markers. In: INTERNATIONAL

SCIENTIFIC MEETING CASSAVA BIOTECHNOLOGY NETWORK, 4., 1998, Salvador. **Proceedings...** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2000c. p. 65-79.

CASTELLEN, M. S. **Uso de marcadores RAPD e isoenzimáticos na quantificação da diversidade genética em população naturais de *Esenbckia leilocarpa* Engl.** 2000. 73f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento)- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

CHAVES, L. J. MOURA, N. F. Recursos Genéticos da mangabeira no Bioma Cerrados. In SIMPOSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 2003, Aracaju, SE. **Anais...** Aracaju Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. CD-ROOM.

CODEX ALIMENTARIUS - **Committee of general principles:** Draft working principles for risk analysis for application within the framework of Codex Alimentarius. ftp://ftp.fao.org/codex/alinorm03/A103_33.pdf, pp. 40-46, 2004.

CORRÊA, R. X.; ABDELNOOR, R. V.; FALEIRO, F. G.; CRUZ, C. D.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Genetic distances in soybean based on RAPD markers. **Bragantia**, Campinas, v. 58, p. 15-22, 1999.

COSTA, L. A. Caracterização do resíduo da fabricação de farinha de mandioca e seu aproveitamento no desenvolvimento de um alimento em barra. **Dissertação** (Mestrado), UFSC, Florianópolis, SC, Brasil, 2004.

CRONQUIST, A. **The evolution in classification of flowering plants.** 2. ed. Bronx: The New York Botanical Garden, New York, 1988. 555 p.

CRUZ, G. L. **Dicionário das plantas úteis do Brasil.** Rio de Janeiro: Civilização Brasileira, 1979. 599p. p.442: Mangaba brava.

DARRAULT, R. O.; SCHLINDWEIN, C. Polinização de *Hancornia speciosa* (Apocynaceae) . In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 2003, Aracajú. **Anais...** Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. 1 CD-ROOM.

.DIAS, T.J.; PEREIRA, W.E.; SOUSA, G.G. de. Fertilidade de substratos para mudas de mangabeira, contendo fibra de coco e adubados com fósforo. **Revista Acta Scientiarum Agronomy**, v. 29, supl. p. 649-658, 2007.

DIAS, R. C. S.; COSTA, N. D.; SILVA, P. C. G.; QUEIRÓZ, M. A .; ZUZA, F.; LEITE, L. A. S.; PESSOA, P. F. A. P.; TARAO, D. A. Cadeia produtiva do melão

no Nordeste. In: CASTRO, A. M. G.; LIMA, S. M. V.; GOEDART, W. J.; FREITAS FILHO, A.; VASCONCELOS, J. R. P. (Eds). **Cadeias produtivas e sistemas naturais**: Prospecção tecnológica. Brasília: SPI, 1998. Cap. 17, p. 440-493.

ESPÍNDOLA, A.C. de M.; FERREIRA, E.G. Nutrição mineral e adubação. In: SILVA JUNIOR, J.F. da; LÉDO, A. da S. (Eds.). **A Cultura da Mangaba**. Aracaju, SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2005, cap. 12, p. 159-168.

FALEIRO, A. S. G.; SANTOS, M. C. M. Variability in cação accessions from the Brazilian, Ecuadorian, and Peruvian Amazons based on molecular markers. **Crop Breeding and applied Biotechnology**, Viçosa, v. 4, p. 227-233, 2004e.

FAZIO, M.L.S. **Qualidade Microbiológica e Ocorrência de Leveduras em Polpas Congeladas de Frutas**. Dissertação para obtenção do grau de mestre. Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2006.

FRAZIER, W. C. e WESTHOFF, D. C. **Microbiologia de los alimentos**. 4. ed. Zaragoza: Acribia, 1993.

FERREIRA, E. G. **Contribuição ao Estudo da Mangabeira (Hancornia speciosa Gomes): Caracterização de Plantas e de Frutos, do Município de Baía da Traição, PB**. Campina Grande, PB: UEPB, 1998. 29 p. (Monografia Especialização).

FERREIRA, E. G.; OLIVEIRA, S. J. C.; SILVA, A. Q. da.; SILVA, H. Características Físico-Química e teores de NPK em Frutos de Mangabeiras Nativas do Litoral Paraibano. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 15. Poços de Caldas-MG. **Anais...** Sociedade Brasileira de Fruticultura/UFLA, 1998. p 545.

FERREIRA, E.G.; GUERRA, A. G.; A Contribuição da Produção Integrada às fruteiras nativas: a cultura da mangaba. In XX Congresso Brasileiro de Fruticultura e 54th Annual Meeting of the Interamerican Society for tropical Horticulture, 20 Vitória – ES. **Anais...** Incaper, 2008 CD ROOM.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998, 220p.

FEREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília: EMBRAPA, 1995. 220p.

FERREIRA, E. G.; **Mangabeira (Hancornia speciosa): Sistema de Produção**. João Pessoa: Emepa/CNPq, 2006. 40p.: Emepa. Documentos, 53.

FERREIRA, E. G.; LIMA, E. M.; FREIRE, J. L. de O.; SILVA, A. Q. da.; SILVA, H. Caracterização de Plantas Nativas e de Frutos de Mangaba. In: Congresso Latino Americano de Horticultura, 7. Foz do Iguaçu-PR. **Anais...** Sociedade Brasileira de Olericultura, 1995. p 82.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2005. 182p.

GERMANO, M. I. S. **Treinamento de manipuladores de alimentos: fator de segurança alimentar e promoção da saúde**. São Paulo: Livraria Varela, 2003 / Higiene Alimentar, 2003. 165p.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S.; OLIVEIRA, C. A F. **Vigilância sanitária de alimentos**. Apostilas do curso de pós-graduação em vigilância sanitária de alimentos. Faculdade de Saúde Pública de Alimentos, 1998.

GUARINO, L.; JARVIS, A.; HIJMANS, R. J.; MAXTED, N. Geographic information systems (GIS) and the conservation and use of plant genetic resource. In: EGELS, J. M. ; RAMATHA RAO, V.; BROWN, A. H. D.; JACKSON, M. T. (Ed.) **Managing plant genetic diversity**. Wallingford: CABI Publishing, 2002. P. 387-404.

GOWER, J. C. A general coefficient of similarity and some of its properties. **Biometrics**, Washington, v. 27, p. 857-874, 1971.

GOWER, J. C. A Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. **Biometrika**. London, v. 53, p. 325-338, 1966.

GREENE, S. L.; HART, T. C.; AFOONIN, A. Using geographic information to acquire wild crop germoplasm for *ex situ* collections: II Post-colletion analysis. **Crop Science**, Madison, v. 41, p. 234-240, 1999.

HARTL, D.L.; CLARK, A.G. **Principles of population genetics**. 2. Ed. Sunderland: Sinauer Associates, 1989. 682 p.

HUANG, H. W.; LAYNE, D. R.; RIEMENSCHNEIDER, D. E. Genetic diversity and geographic differentiation in pawpaw [*Asimina triloba* (L.) Dunal] populations from nine states as revealed by allozyme analysis. **Journal of the American Society for horticultural science**, Mount Vernon, v. 123, p. 635-641, 1998.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2008. Disponível em: www.ibge.gov.br/.

JANEWAY, JR, C. A.; TRAVERS, P.; WALPORT, M.; SHLOMCHIK, M.J. **Imunologia**: o sistema imune na saúde e na doença. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2007. 848p.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. ed. 6, Porto Alegre: Artmed, 2005.

KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, London, v. 16, p. 111-120, 1980.

LEDERMAN, I. E.; BEZERRA, J. E. F. Situação atual e perspectivas da cultura da mangaba no Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 2003, Aracajú. **Anais...** Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. 1CD.

LEDERMAN, I. E.; SILVA JÚNIOR, J. F da; BEZERRA, J. E. F.; ESPÍNDOLA, A. C. de M. **Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes)**. Jaboticabal: São Paulo. 2000. 35p. (Série frutas Nativas).

LEMOS, R. P. de; ALVES, R. E.; OLIVEIRA, E. F. de; SILVA, H.; SILVA, A. Q. da. Características pomológicas de mangabeiras (*Hancornia speciosa* Gomes) da Paraíba. In: **Congresso Brasileiro de Fruticultura**, 10. Fortaleza – CE. 1989. **Anais...** Fortaleza – CE, Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1989. p. 346 – 9.

LEMOS, E. E. P. de; COSTA, M. A. P. de C.; ALOUFA, M. A. I.; LEDO, A. da S. et al. Micropropagação. In: SILVA JUNIOR, J. F. da; LEDO, A. da S. (Ed.). **A cultura da mangaba**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, p.125-133, 2006

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa : Plantarum, 1992. 352p.

MAGUIRE, J. D. Physiological disorders in germinating seeds induced by the environment. In: HEYDECKER, W. (ed), **Seed Ecology**, London: Butterworths, 1973, p.289-309.

MARINHO, S. J. O.; FERREIRA, E. G.; AAÚJO, I. A. de; FRANCO, C. F. de O.; SANTOS, E. S. dos; BARREIRO NETO, M. Propagação da mangabeira (*Hancornia*

speciosa Gomes) por diferentes métodos de enxertia. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 2003. CD-ROOM.

MASSAGUER, P. R. **Microbiologia dos processos alimentares**. São Paulo: Livraria Varela, 2005. 258p.

MUHLENS, G. S.; MARTINS, P. S.; ANDO, A. Variabilidade genética em etnovariedades de mandioca avaliada por marcadores de DNA. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 319 - 328, 2000.

MONACHINO, J. A revision of *Hancornia* (Apocynaceae). **Lilloa**, Tucumán, v.11, p.19-48, 1945.

NASS, L.L. **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 858 p.

NEI, M.; LI, W. H. Mathematical model for studying genetic variations in terms of restriction endonucleases. **Proceedings of the National Academy of Science USA**. Washington, v. 76, p. 5269-5273, 1979.

OUBORG, N.J.; PIQUOT, Y.; VAN GROENENDAEL, J.M. Populations genetics molecular markers and the study of dispersal in plants. **Journal of Ecology**, Oxford, v.87. p. 551-568, 1999.

OLSEN, K. M.; SCHAAL, B. A. Evidence on the origin of cassava: phylogeography of *Manihot esculenta*. **Proceedings of the National Academy of Science USA**. Washington, v. 96, p. 5586-5591, 1999.

PARENTE, T. V.; MACHADO, J. W. B. Germinação de sementes de mangaba (*Hancornia pubescens* Nees e Mart) provenientes de frutos colhidos com diferentes graus de maturação. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Cruz das Almas – BA. v. 8, n. 1 p. 39 – 43. 1986.

PARENTE, T.V.; Borgo, L.A.; Machado, J.W.B. Características físico-químicas de frutos de mangaba (*Hancornia speciosa*, Gomes), do cerrado da região Geoeconômica do Distrito Federal. **Ciência e Cultura**, v. 37, n. 1. p. 95-98, 1985.

PEREIRA, F. M.; CARVALHO, C. A.; NACHTIGAL, J.C. Século XXI: nova cultivar de goiaba de dupla finalidade. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 498-500, 2003.

PALU, A. P. Avaliação microbiológica de frutas e hortaliças frescas, servidas em restaurantes self-service privados, da Universidade Federal do Rio de Janeiro. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 100, set/out . 2002.

PINHEIRO, C. S. R.; MEDEIROS, D. N. de; MACÊDO, C. E. C. de; ALOUFA, M. A. I. Germinação *in vitro* de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomez) em diferentes meios de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 413-416, ago. 2001.

PINTO, A. F. M. A. **Doenças de origem microbiana transmitidas pelos alimentos**. Millenium on line, n.4, 1996. p. 91-100. disponível em: <http://www.ipv.pt/millenium/Millenium_4.htm> Acesso em: out. 2004.

QUEIROZ, V.; SATO, A. Y. Repetibilidade em características biométricas do fruto de macaúba. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, vol.41, n.1, p.70-76. 2011.

REZENDE, C. F. A.; NAVES, R. V.; ESTRELA, C. T.; CHAVES, L. J.; MOURA, N. F.; BERNARDES, T. G. Caracterização de áreas com alta densidade de ocorrência natural de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) no cerrado. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 54., 2002, Goiânia. **Resumos...**Goiânia: CEGRAF – Gráfica da UFG, 2002. 1 CD – ROM.

RICK, C. M.; ZOBEL, R. W.; FOBES, J. F. Four peroxidase loci in red-fruited tomato species: genetics and geographic distribution. **Proceedings of the National Academy of Science USA**. Washington, v. 71, p. 835-839, 1974.

RIZZO, J. A. & FERREIRA, H. D. *Hancornia speciosa* no Estado de Goiás. IN: Congresso Nacional de Botânica, 36, 1985, Curitiba. Anais da Sociedade Botânica do Brasil. Brasília, v1, n.36, 1990. P. 363-368.

RICK, C.M. The tomato. **Scientific American**, New York, v. 239, n. 2, p. 67 - 76, 1978.

RICK, C. M.; HOLLE, M. Andean *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*: genetic variation and its evolutionary significance. **Economic Botany**, New York, v. 44, p. 69 - 78, 1990.

RICK, C. M.; YODER, J. I. Classical and molecular genetics of the tomato highlights and perspectives. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 22, p. 281- 300, 1988.

ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich. v.1. n.3. p.499 - 514. 1973.

RIBEIRO, J. F.; SILVA, J. A. da.; FONSECA, C. E. L. da. Espécies frutíferas da região do cerrado. In: DONADIO, L. C., et al. ed. **Fruticultura Tropical**. Jaboticabal: FUNEP, 1992, 268p. p.159 - 89.

SANTOS, J. B. dos. Mangaba. In: **Grande manual Globo de agricultura, pecuária e Receituário industrial**. 7 ed. Rio de Janeiro: Globo, 1986. 279p. il. p 263 - 8.

SAIKI, R. K. et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction analysis for diagnosis of sickle cell anemia. **Science**, Washington, v.230, p. 1350 - 1354, 1985.

SAKIYAMA, N. S. Marcadores moleculares e as hortaliças. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 11, n. 2, p. 204 - 206, 1993.

SEBASTIANY, E.; REGO, E.R.; VITAL, M.J.S. **Qualidade microbiológica de Polpas de frutas congeladas**. Revista Instituto Adolfo Lutz. São Paulo, 2009.

SILVA, H.; SILVA, A. Q. da; CAVALCANTI, A. T.; MALAVOLTA, E. Composição mineral das folhas de algumas fruteiras do Nordeste. In: **Congresso Brasileiro de Fruticultura**, 7. Florianópolis - SC, 1984. **Anais...** Florianópolis - SC; Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1984. p. 320 - 325.

SILVA, A. Q. da.; SILVA, H.; NÓBREGA, J. P. da. et al. Conteúdo de nutrientes por ocasião da colheita em diversas frutas da região Nordeste. In: **Congresso Brasileiro de Fruticultura**, 7. Florianópolis - SC, 1984. **Anais...** Florianópolis - SC; Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1984. p. 326 - 39.

SILVA, W. P.; GANDRA, E. A. Estafilococos coagulase positiva: patógenos de importância em alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 18, n. 122, p. 32-40, jan. 2001.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2.ed. rev. ampl. São Paulo: Livraria Varela Ltda., 2001. 317p.

SNEATH, P. A.; SOKAL, R. R. **Numerical Taxonomy**. San Francisco: Freeman and Company, 1973. 573 p.

SILVA JUNIOR, J.F.; LEDO, A.S.; LEDO, C.A.S.; TUPINAMBÁ, E.A. Caracterização morfológica de genótipos de mangabeira na restinga do complexo estuarino do rio Vaza-Barris, Sergipe. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A

CULTURA DA MANGABA, 1., 2003, Aracaju. **Anais...** Aracaju: Embrapa CPATC, 2003. (CD-ROM).

SPERS, E.E.; KASSOUF, A. L. A abertura de mercado e a preocupação com a segurança dos alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 10, n. 46, p. 16-26, 1996.

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; CAMPOS, A. C. A. L.; PORTO, J. M. P.; NOGUEIRA, R. C.; STEIN, V. C. Germinação de sementes de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em diferentes Substratos. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p.1180-1182, 2007.

TAVARES, S. **Estudos sobre germinação de sementes de mangaba** (*Hancornia speciosa* Gomes). Recife. Instituto de Pesquisa Agronômica de Pernambuco, 1960. v. s.

VALLILO, M. I.; GARBELOTTI, M. L.; OLIVEIRA, E.; LAMARDO, L. C. A. Caracterização físicas e químicas dos frutos do cambucizeiro (*Campomanesia phaea*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v. 27, n.2, p. 241-244, 2005.

VIEIRA NETO, R. D. **Recomendações técnicas para o cultivo da mangabeira.** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2001, 20 p. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Circular técnica, 20).

VIEIRA NETO, R. D. Caracterização física de frutos de uma população de mangabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Cruz das Almas. v. 19, n. 2, p. 247 - 250, 1997.

VILLACHICA, H.; CARVALHO, J. E. U.; MULLER, C. H.; SIAZ, S. C.; ALMANZA, M. **Frutales y hortalizas promisoras de la Amazonia**. Lima: SPT-TCA, 1996. p152 - 156. (SPT-TCA, 44).

VIEIRA NETO, R. D. **Cultura da mangabeira**. Aracaju: Embrapa-CPATC, 1994. 16p. (Circular Técnica n.2).

WISNIEWSKI, A. & MELO, C. F. M. de. Borrachas Naturais Brasileiras. III Borracha de Mangabeira. Belém, EMBRAPA-CPATU. Documentos, 8, 1982, 59p.

WILLIAMS, J.G.K. et al. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v.18, p. 6531 - 6535, 1990.

WHO/FAO. **The interaction between assessors and managers of microbiological hazards in food.** Disponível em: <<http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/en/march2000l>>. Acesso em: 12 mai. 2004.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION), 2005. Drug-resistant Salmonella. Fact Sheet N^o 139, Revised April 2005. Disponível no site: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs_139/cn/, acesso em 24/02/06.

ZIMMERER, K. S.; DOUCHES, D. S. Geographical approaches to crop conservation: the partitioning of genetic diversity in Andean potatoes. **Economic Botany**, New York, v. 45, p. 176-189, 1991.

CAPÍTULO II

DIVERSIDADE GENÉTICA EM ACESSOS DE MANGABEIRA (*Hancornia speciosa* Gomes) PROVENIENTES DO BANCO DE GERMOPLASMA E JARDIM CLONAL DA EMEPA.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo conhecer as dissimilaridades genéticas de genótipos de mangabeiras oriundos dos estados do Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco e do Mato Grosso. O material para extração do DNA foi coletado no Banco de germoplasma pertencente à EMEPA, localizado na Estação Experimental Jose Irineu Cabral, no município de João Pessoa – PB. O referido material constou de folhas jovens de 31 plantas dos locais estudados, que foram cuidadosamente retiradas, embaladas em sacos plásticos, etiquetadas e identificadas, acondicionadas em caixas térmicas para melhor conservação e levadas ao Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Federal Rural do Semi Árido – UFERSA. A metodologia utilizada para extração do DNA foi o protocolo de Doyle & Doyle com modificações. Foram utilizados quarenta *primers* RAPD e encontrados 322 marcadores, sendo 232 polimórficos (72,04%) e 90 (27,96%) monomórficos, com uma média de 7,25 bandas polimórficas por *primer* e 2,81 bandas monomórficas por *primer*. Os trinta e um genótipos foram analisados utilizando-se o programa Genes e dados binários. Foi aplicado o método de agrupamento UPGMA (*Unweighted Pair Group Method*), construído um dendrograma e observadas as dissimilaridades existentes entre os genótipos. Dentre os acessos estudados, o de maior dissimilaridade foi o oriundo do cerrado (1CER), exibindo uma diferença acentuada, demonstrando assim, a influência da variedade botânica e da localização geográfica. Os acessos oriundos dos estados do Nordeste, tiveram seus níveis e coeficientes de dissimilaridade menos acentuados, mostrando através dos grupos um significativo nível de similaridade, porém, alguns acessos se destacaram em pequenos percentuais. Estes resultados indicam a existência de genótipos com bom nível de variabilidade, e, isto é um indicativo promissor para um programa de melhoramento genético.

Palavras chave – mangaba, DNA, germoplasma, variabilidade genética

ABSTRACT

STUDY OF GENETIC DIVERSITY IN ACCESSIONS OF MANGABEIRA (*Hancornia speciosa*) FROM THE GERMPLASM BANK AND CLONAL GARDEN OF EMEPA - PB.

This study has as objective to identify the genetic dissimilarities of mangaba tree genotypes originated from the states of Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco and Mato Grosso (this state located in the Brazilian “cerrado” biome). The material for DNA extraction was collected at the Bank of germplasm belonging to EMEPA - PB, located at the Jose Irineu Cabral Experimental Station in João Pessoa - PB. Such material consisted of young leaves of 31 plants of the sites studied , which were carefully removed, wrapped in plastic bags , labeled and identified, then packed in coolers for better conservation of the material and taken to the Laboratory of Molecular Biology of the Federal Rural University of the Semi Arid - UFERSA . The methodology used for DNA extraction protocol was Doyle & Doyle (1990) with modifications. Forty primers RAPD were used and 322 markers were found, being 232 polymorphic (72.04 %) and 90 (27.96 %) monomorphic , with an average of 7.25 polymorphic bands per primer and 2.81 monomorphic bands per primer. The 31 genotypes were analyzed, using the program Genes with binary data and applying the UPGMA method (Unweighted Pair Group Method). A dendrogram was built and the dissimilarities between the genotypes were observed. Among the accessions, the highest dissimilarity came from the “cerrado” biome (1CER) showing a marked difference, thus demonstrating the influence of both botanical variety and geographical location. Accessions originated from the northeastern states had their levels and coefficients of dissimilarity less pronounced, showing through the groups a significant level of similarity, however, some accessions stood out in small percentages. These results indicate the existence of genotypes with good level of variability, and this is a promising indicative of possibilities for genetic improvement programs.

Keywords - mangaba, DNA, germplasm

CAPÍTULO II

DIVERSIDADE GENÉTICA EM ACESSOS DE MANGABEIRA (*Hancornia speciosa* Gomes) PROVENIENTES DO BANCO DE GERMOPLASMA E JARDIM CLONAL DA EMEPA

CAPÍTULO II

DIVERSIDADE GENÉTICA EM ACESSOS DE MANGABEIRA (*Hancornia speciosa* Gomes) PROVENIENTES DO BANCO DE GERMOPLASMA E JARDIM CLONAL DA EMEPA

2.1. INTRODUÇÃO

A mangabeira (*Hancornia speciosa*, Gomes), planta da família das Apocináceas, é encontrada vegetando espontaneamente em áreas da região tropical da América do Sul: Brasil, Paraguai, Venezuela, Colômbia, Peru e Bolívia. No Brasil, é encontrado com frequência nas regiões Centro-Oeste, Sudeste, Norte e com maior abundância nas áreas de tabuleiros e baixadas litorâneas do Nordeste, onde se concentra a quase totalidade da produção comercial de frutos (BARROS, 1979).

Planta que apresenta potencialidade para exploração frutífera, cujos frutos apresentam teor de proteína superior à maioria dos frutos tropicais, tem boa digestibilidade e valor nutritivo, podendo ser consumidos como suco, sorvete e, em algumas regiões, como compota e doce (PARENTE et al. 1985; FERREIRA et. al. 1987). Além disso, apresenta potencialidade como planta lactífera. Apesar do seu potencial econômico, o extrativismo tem sido a forma predominante de exploração.

No entanto, em muitas dessas áreas, tem sido observada sensível erosão genética na espécie, devido, sobretudo à intensa atividade antrópica, fato já observado desde o início do século passado até os dias de hoje, decorrente, principalmente, da especulação imobiliária, da intensificação da atividade canavieira e da desestruturação de sistemas tradicionais de conservação dos remanescentes pelas denominadas populações tradicionais que há décadas sobrevivem a partir do extrativismo deste recurso (VIEIRA NETO, 1993; LEDERMAN et al., 2000; ESPÍNDOLA et al., 2003).

Esta frutífera se reproduz naturalmente por alogamia, sendo os lepidópteros os principais polinizadores (DARRAULT; SCHLINDWEIN, 2003). Em decorrência da grande variabilidade genética própria das populações selvagens, qualquer programa de melhoramento genético deve se basear, de início, no aproveitamento desta variabilidade natural, via seleção.

Neste contexto, os Recursos genéticos correspondem à fração da biodiversidade que tem valor atual ou potencial (GIACOMETTI, 1993) e compreendem algumas fases de estudo bem definidas, a saber: coleta/introdução; multiplicação; caracterização (reprodutiva, morfológica, bioquímica e molecular); avaliação aprofundada; conservação/preservação, podendo-se incluir a documentação (HAWKES, 1982; VALLS, 1988; RAMOS et al., 2007).

Um programa de conservação de recursos genéticos de uma espécie nativa deve se basear, prioritariamente, na conservação *in situ* (NASS, 2001).

Basicamente, duas estratégias podem ser utilizadas para estudo da estrutura da variabilidade genética de populações. A estratégia clássica envolve o estudo de caracteres quantitativos, a partir do estudo de progênies e procedências. É uma estratégia muito útil, quando se deseja promover a seleção de genótipos superiores para fins de melhoramento genético e, também, uma forma de conservação *in vivo* e *ex situ* de amostras de progênies de espécies nativas perenes. Outra estratégia muito adotada, atualmente, para estudo de genética de populações, consiste na utilização de marcadores moleculares (CHAVES; NAVES 1998).

O tipo de marcador a ser usado e o propósito para o qual este é aplicado, permite a adequação e planejamento de um programa de melhoramento (WILKINSON, 2000). Eles variam quanto a alguns atributos de importância relevante para o melhoramento como consistência, tempo para resultados, custo e repetibilidade.

As diversas aplicações dos marcadores moleculares estão distribuídas de acordo com os resultados a curto, médio e longo prazo. Em curto prazo, abrangem a caracterização e discriminação de genótipos em bancos de germoplasma,

discriminando acessos duplicados ou relacionados; identificação de cultivares; seleção de genitores para programas de cruzamento; caracterização da diversidade genética de populações, por meio da análise de coleções de germoplasma e estabelecimento de *core collection*; avaliação do sistema de coleta visando a identificação de regiões geográficas de maior diversidade; estudos básicos de taxonomia e filogenia; caracterização da diversidade dos principais patógenos e pragas de diversas culturas; *fingerpriting*; análises de pureza genética de sementes; melhoramento assistido; isolamento de genes; certificação de cruzamentos; clonagem posicional; estudo de pedigree e diagnose; predição de fenótipos; genealogia, entre outros (MILLACH, 1998; DIAS, 2001; BORÉM e CAIXETA, 2006). Em longo e médio prazo ajudam no mapeamento genético de espécies alógamas e autógamas (FERREIRA e GRATAPAGLIA, 1995; RISTERUCCI et al., 2000a; FALEIRO et al., 2003a).

As diferentes metodologias da genética molecular, principalmente os marcadores moleculares do DNA, apresentam várias aplicações para resolver problemas e aumentar a eficiência dos programas de conservação e uso dos recursos genéticos vegetais. As aplicações podem gerar informações úteis para as diferentes estratégias de conservação dos recursos genéticos (*ex situ*, *in situ* e *on farm*) e para as diferentes etapas de cada estratégia (coleta, manutenção, caracterização, manejo, ampliação e uso dos recursos). Contudo, tais marcadores não podem substituir os outros tipos de marcadores genéticos como os baseados nos caracteres morfoagronômicos (FALEIRO et al, 2007).

Informações sobre desenvolvimento, produção e variação genética são necessidades supridas por meio de estudos de progênies, que indicam a potencialidade e a escolha daquelas que são adequadas à exploração econômica e ao melhoramento genético.

Estudos de caracterização molecular são importantes em vários aspectos, desde a identificação da constituição genética de acessos e populações, e, também, evitar a duplicação de materiais que podem ocorrer nos bancos de germoplasma, diminuindo a

quantidade de opções da variabilidade, aumentando os custos de manutenção do BAG, e, ocupando maior espaço nas coleções usadas para fins de melhoramento ou multiplicação. Os bancos de germoplasma devem apresentar um maior número de plantas com a maior variabilidade possível, onde estarão expostos os caracteres que serão escolhidos de acordo com o interesse do programa de melhoramento da espécie.

Esses esclarecimentos são especialmente importantes para espécies nativas como *H. speciosa*, cuja exploração de frutos já vem ocorrendo e o conhecimento científico ainda é incipiente. A domesticação e incorporação dessas espécies nos sistemas produtivos regionais, bem como o desenvolvimento de estratégias de conservação eficientes, estão estreitamente relacionadas ao conhecimento da magnitude e distribuição da variabilidade genética nas populações naturais.

Diante da escassez de estudos moleculares com a cultura da mangaba, foi realizado neste trabalho o estudo da diversidade genética e avaliação da dissimilaridade de 31 genótipos de mangabeira utilizando a técnica de RAPD, visando ampliar o conhecimento da cultura, e, colher subsídios para posteriores programas de melhoramento genético.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado utilizando-se material genético do Banco de germoplasma, Jardim clonal e coleção de plantas de mangabeiras oriundas do Bioma Cerrado, situados na Estação Experimental Cientista Jose Irineu Cabral, pertencente à EMEPA-PB, no município de João Pessoa – PB.

O Banco de germoplasma e Jardim clonal situados na estação experimental da EMEPA – PB são compostos de genótipos oriundos dos Estados da Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte, que tem como coordenadas geográficas: W 07° 26'56'' e, S 34° 49'38'', e altitude de 10 metros, sendo estas mudas produzidas a partir de sementes colhidas em seus lugares de origem e produzidas na Estação experimental, na Paraíba.

A coleção de mangabeiras oriundas da Região Centro-Oeste e introduzidas na estação experimental da EMEPA, foram de mudas produzidas no viveiro do Campus Pontal do Araguaia, da Universidade Federal do Mato Grosso, que têm coordenadas geográficas de W 52° 16'56'' e S 15° 54'56'' e altitude de 356 m, em área de vegetação caracterizada como cerrado, mudas estas provenientes de sementes coletadas de frutos nas cidades de Aragarças – GO, Pontal do Araguaia – MT e Barra do Garças – MT, e enviadas diretamente para a estação experimental da EMEPA – PB, para observações de adaptação e comportamento.

De cada localidade de origem, foram selecionadas 10 (dez) amostras, ou seja, dos Estados da Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte e apenas 1 (uma) do Bioma Cerrado. As amostras foram constituídas de folhas jovens, retiradas da parte terminal dos ramos, as quais foram devidamente identificadas e acondicionadas em sacos plásticos sob refrigeração (caixa térmica com gelo), para melhor conservação do material genético. Após estes procedimentos, as amostras foram levadas para o Laboratório de Fitopatologia e Biologia Molecular da Universidade Federal Rural do

Semiárido – UFERSA, Mossoró – RN, onde foram realizados os estudos moleculares deste trabalho.

Tabela 1. Locais das origens das amostras coletadas.

Estado	Amostra	
	Local de Origem	Sigla
Paraíba (PB)	Jacumã	1PB
	João Pessoa	2PB
	NUPPA	3PB
	Rio Tinto	4PB
	Rio Tinto	5PB
	Rio Tinto	6PB
	Rio Tinto 07	7PB
	Rio Tinto 07	8PB
	Caaporã	9PB
	Alhandra	10PB
Pernambuco (PE)	PG-2	1PE
	PG-3	2PE
	PG-3	3PE
	PG-3	4PE
	PG-3	5PE
	PG-3	7PE
	PG-5	8PE
	PG-5	9PE
	PG-7	10PE
Rio Grande do Norte (RN)	São Gonçalo	1RN
	N. Floresta - 3	2RN
	N. Floresta - 6	3RN
	N. Floresta - 23	4RN
	Parnamirim	5RN
	Parnamirim	6RN
	Touros	7RN
	Touros - 01	8RN
	Extremós	9RN
	Maxaranguape	10RN
Cerrado (MG)	1	1Cer.

No laboratório, as amostras (folhas) foram identificadas e catalogadas, para o início dos trabalhos de caracterização molecular. Inicialmente, todas as amostras foram lavadas com água destilada, para logo após se realizar a extração do DNA, conforme metodologia descrita a seguir.

Extração do DNA Genômico

O DNA de cada amostra foi extraído de acordo com o protocolo de Doyle; Doyle (1990), com modificações. Uma porção de 2 g de tecido vegetal foram maceradas em nitrogênio líquido e transferidas para microtubos estéreis de 2 mL. Cada amostra foi adicionado 700 µL do tampão de extração, previamente preparado, contendo: 100 µL de Tris-HCl (100 µM), 280 µL de NaCl (1,4M), 400 µL de EDTA (20mM), 300 mL de CTAB (2,0%), 0,01 g de PVP40 (1,0%), 278 µL água ultrapura e 2 µL de β-mercaptoetanol (0,2%).

Os microtubos foram vertidos e colocados em banho-maria à temperatura de 65 °C durante 40 minutos, sendo estes, agitados a cada 10 minutos. Em seguida, foram adicionados 800 µL de álcool isoamílico (24:1) nos microtubos, os quais foram vertidos e centrifugados à 14.000 x g, durante 7 minutos e, em seguida, transferiu-se a fase superior (aquosa) para novo microtubo, sendo esta etapa, repetida mais uma vez. Logo após, adicionou-se à fase aquosa 400 µL de isopropanol gelado, homogeneizando a solução até a formação do *pellet*.

As amostras foram colocadas em congelador por 2 horas e posteriormente centrifugadas a 14.000 x g durante 10 minutos. Para limpeza do *pellet*, adicionou-se 1 mL de etanol 70% no microtubo, sendo os mesmos centrifugados à 14.000 x g durante

5 minutos, descartando o sobrenadante. Em seguida, adicionou-se 1 mL de etanol 90% aos microtubos, os quais foram centrifugados novamente à 14.000 x g durante 5 minutos.

O sobrenadante foi descartado novamente, deixando apenas o *pellet* no microtubo. As amostras foram colocadas em estufa a 70 °C durante 20 minutos, e logo após, adicionou-se 50 µL de RNase (100mg/mL) nos microtubos, os quais foram incubados à 37 °C em banho-maria.

Em seguida, foi realizada a quantificação de DNA em gel de agarose a 1% (p/v), corado com brometo de etídio.

Ensaio Com Marcadores RAPD

As reações de PCR, utilizando-se 40 iniciadores aleatórios RAPD (Tabela 2.), foram preparadas com volume final de 25 µL, conforme descrito por Ferreira & Grattapaglia (1995) e o seguinte programa: desnaturação a 95°C por 5', seguida de 42 ciclos dos seguintes tempos e temperaturas: 1' a 95°C; 1' a 35°C; 2' a 72°C. Em seguida, finalizando o programa com 10' a 72°C, com posterior manutenção da temperatura a 4° C.

Para verificar a qualidade da amplificação, cada amostra foi corada com 3µl de "blue juice" (TAE 10x, 0,5 mL; EDTA 0,5M, 0,4mL; SDS – 10% 0,2mL; azul de bromofenol 0,2 mL; glicerol 7,0mL; água estéril 1,7 mL), e aplicadas em gel de agarose (Sigma) a 1% em TBE 1x (EDTA 2 mM e Tris-borato 90 mM).

Foram feitos dois tempos de corrida: uma de 40 minutos e outra com 80 minutos, a uma voltagem de 80V. Após a eletroforese, os géis foram banhados com brometo de etídio e as bandas de DNA foram foto documentada.

Análise dos Dados

Os dados moleculares obtidos foram avaliados mediante análise estatística em que foi delimitada uma matriz binária baseada na presença (1) ou ausência (0) de marcadores RAPD, sendo essa gerada e utilizada para estimar a dissimilaridade genética entre os genótipos, empregando-se o coeficiente de Jaccard, sendo construído um dendograma pelo critério de agrupamento hierárquico UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average*), utilizando o programa Genes (2006).

Para todas as análises, foram aplicadas as correlações cofenéticas para a estimativa do ajuste entre a matriz de dissimilaridade e o dendograma gerado.

Tabela 2 - Primers RAPD utilizados para amplificar o DNA de acessos de mangabeiras do Nordeste brasileiro e do Bioma Cerrado.

<i>Primers</i>	<i>Sequencia (5' - 3')</i>	<i>Primers</i>	<i>Sequencia (5' - 3')</i>
OPA-03	AGTCAGCCAC	OPAA-01	AGACGGCTCC
OPA-04	AATCGGGCTG	OPAA-02	GAGACCAGAC
OPA-07	GAAACGGGTG	OPAA-03	TTAGCGCCCC
OPA-13	CAGCACCCAC	OPAA-04	AGGACTGCTC
OPB-14	TCCGCTCTGG	OPAA-05	GGCTTTAGCC
OPC-05	GATGACCGCC	OPAA-06	GTGGGTGCCA
OPC-13	AAGCCTCGTC	OPAA-07	CTACGCTCAC
OPD-08	GTGTGCCCCA	OPAA-08	TCCGCAGTAG
OPE-05	TCAGGGAGGT	OPAA-09	AGATGGGCAG
OPE-14	TGCGGCTGAG	OPAA-10	TGGTCGGGTG
OPE-15	ACGCACAACC	OPAA-11	ACCCGACCTG
OPF-02	GAGGATCCCT	OPAA-12	GGACCTCTTG
OPF-16	GGAGTACTGG	OPAA-13	GAGCGTCGCT
OPO-02	ACGTAGCGTC	OPAA-14	AACGGGCCAA
OPO-03	CTGTTGCTAC	OPAA-15	ACGGAAGCCC

OPO-04	AAGTCCGCTC	OPAA-16	GGAACCCACA
OPO-06	CCACGGGAAG	OPAA-17	GAGCCCGACT
OPO-07	CAGCACTGAC	OPAA-18	TGGTCCAGCC
OPO-10	TCAGAGCGCC	OPAA-19	TGAGGCGTGT
OPO-15	TGGCGTCCTT	OPAA-20	TTGCCTTCGG

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O DNA extraído de folhas frescas, jovens e sadias dos 31 genótipos apresentou-se de boa qualidade e íntegro.

De acordo com os dados gerados pela amplificação, foram identificados 322 marcadores moleculares, onde, destes, 232 apresentaram-se polimórficos, e 90 monomórficos. A média de alelos por *primer* foi de 10,06 e o de bandas polimórficas foi de 7,25 por *primer*, e, as monomórficas exibiram uma média de apenas 2,81 por *primer*. Neste caso observa-se que, tivemos um polimorfismo no nível de 72,04%, enquanto que o monomorfismo foi de 27,96%.

Os primers que apresentaram o maior e o menor número de bandas polimórficas foram OPA07 e OPAA17 com 14 bandas, e, OPF16 e OPAA06, com 3 bandas, respectivamente.

Os fragmentos polimórficos RAPD foram selecionados para análise de acordo com a intensidade da banda no gel, exemplo de boa amplificação é mostrado na Figura 1, com o primer OPAA-04.

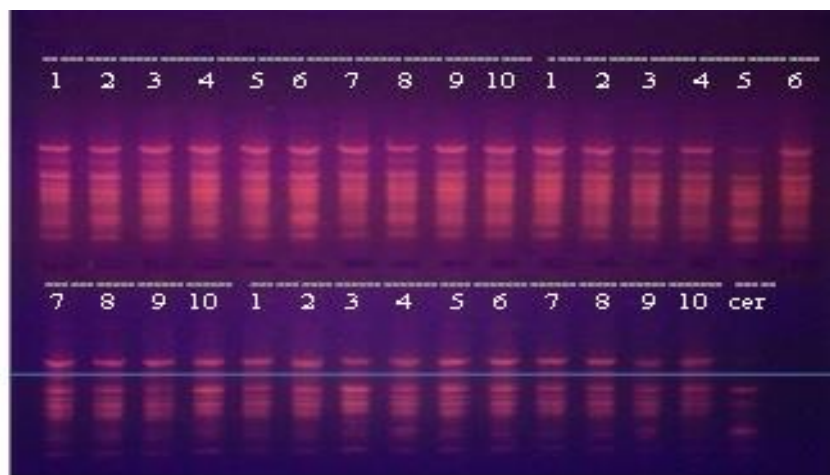


Figura 1. Reação de PCR-RAPD com DNAs de Mangaba com o primer OPAA -04

De acordo com os dados gerados pela amplificação, foram identificados 322 marcadores moleculares, onde, destes, 232 apresentaram-se polimórficos, e 90 monomórficos. A média de alelos por *primer* foi de 10,06 e o de bandas polimórficas foi de 7,25 por *primer*, e, as monomórficas exibiram uma média de apenas 2,81 por *primer*. Neste caso observa-se que, tivemos um polimorfismo no nível de 72,04%, enquanto que o monomorfismo foi de 27,96%.

Os primers que apresentaram o maior e o menor número de bandas polimórficas foram OPA07 e OPAA17 com 14 bandas, e, OPF16 e OPAA06, com 3 bandas, respectivamente.

A integridade do DNA genômico é importante porque, a boa reprodutibilidade dos produtos de amplificação via PCR segundo Ferreira e Grattapaglia (1995), dependem da integridade do DNA.

Capinan (2007) trabalhando com caracterização molecular na cultura da mangaba utilizaram 32 *primers* RAPD e encontrou 407 bandas no total, sendo 257 polimórficas e 150 monomórficas, atingindo uma média total de 8,03 por *primer*, onde os *primers* OPAE-11 e OPD-07 geraram o maior número de bandas polimórficas, 13 para ambos. O menor número de bandas polimórficas foi apresentado pelos *primers*

OPB-05, OPL-14, OPCA-08 com 05 bandas cada e o OPA-16 com 04 bandas onde os *primers* OPAE-11 e OPD-07, geraram o maior número de bandas polimórficas, 13 para ambos. O menor número de bandas polimórficas foi apresentado pelos *primers* OPB-05, OPL-14, OPCA-08 com 05 bandas cada e o OPA-16 com 04 bandas.

No citado trabalho, o autor encontrou 63,14% de polimorfismo, e 36,86% de monomorfismo, fato este que, demonstra um forte indicativo de uma significativa variabilidade dos genótipos estudados, que, por consequência, poderão ser selecionados para programa de melhoramento da espécie.

Segundo Oliveira et al. (2007), há tendência em germoplasma de plantas arbóreas e arbustivas, alógamas ou autógamias com alta taxa de alogamia de apresentarem alto grau de polimorfismo.

Os acessos estudados por Capinan (2007) tiveram suas origens bem diversificadas dentro do mesmo Estado, o que contribuiu na identificação de uma variabilidade expressiva. O cruzamento das informações das análises morfológicas e agronômicas com os dados moleculares dos genótipos estudados trará subsídios importantes para o melhoramento e desenvolvimento da cultura.

Foram selecionados fragmentos polimórficos RAPD para análise de acordo com a intensidade da banda no gel, e como exemplo de boa amplificação pode-se observar nas figuras 1 e 2 com os *primers* OPAA-04 e OPAA-17.

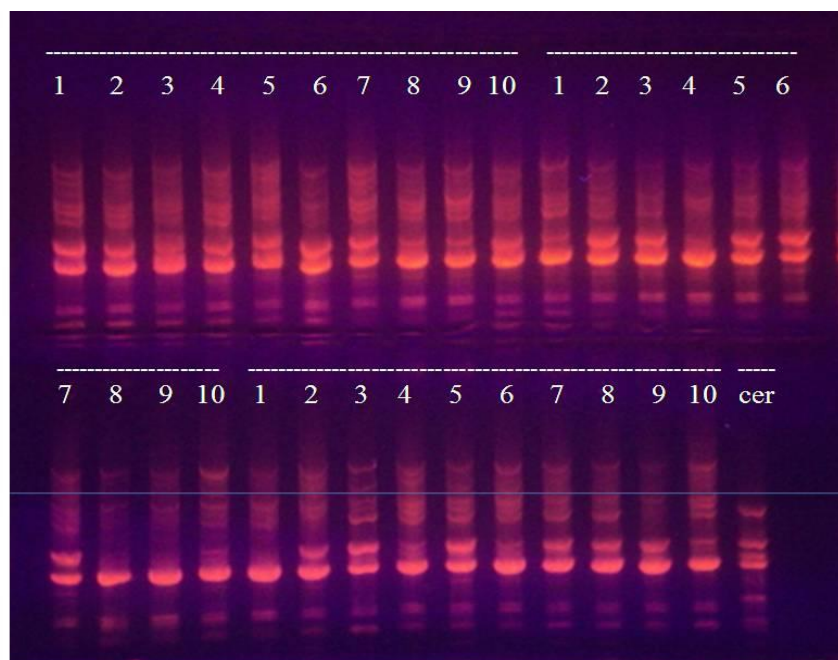


Fig. 2. Reação de PCR-RAPD com DNAs de mangaba utilizando o primer OPAA-17.

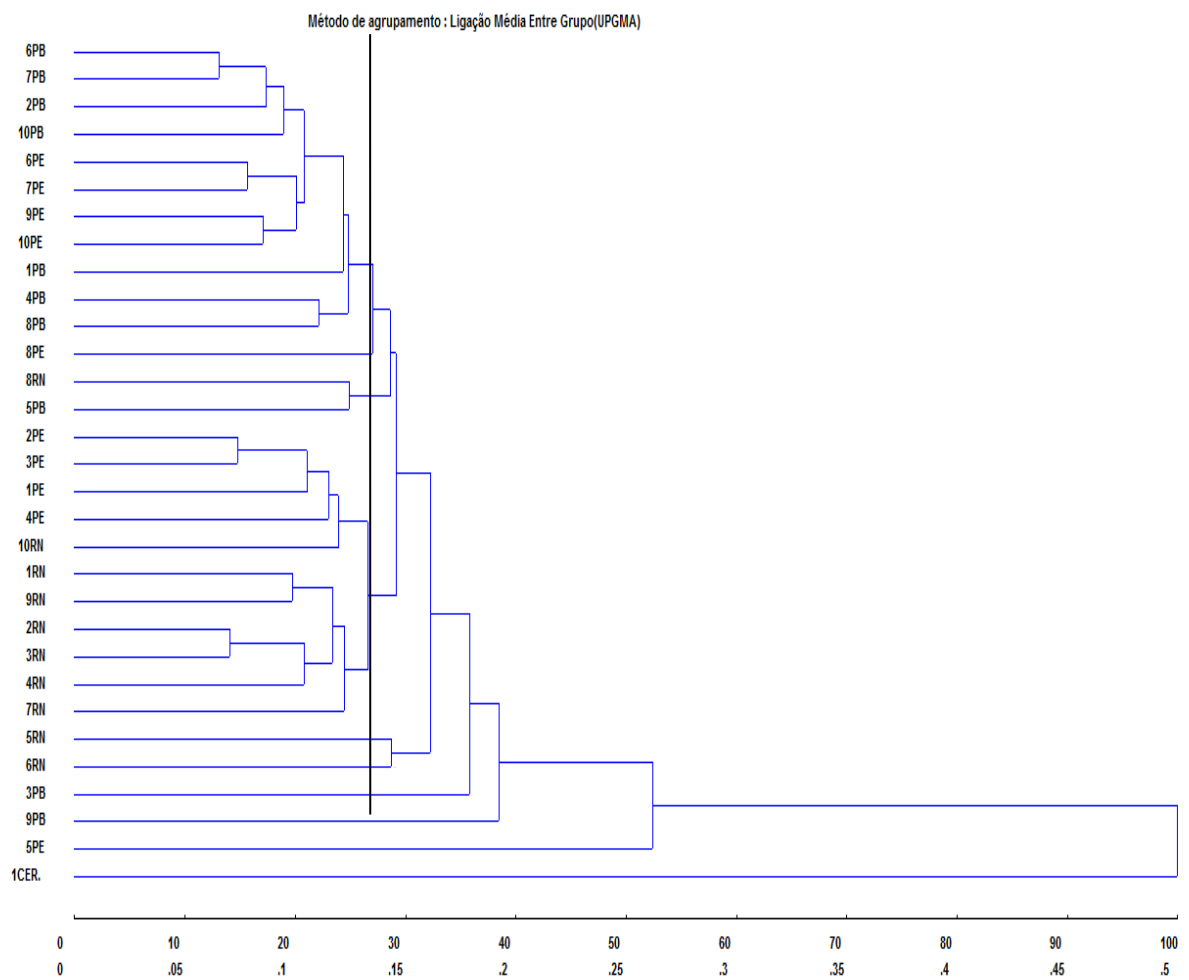


Figura 3. Padrão de dissimilaridade genética obtido entre 31 genótipos de Mangaba definidos pelo método de UPGMA. Mossoró-RN, UFERSA, 2012.

Conforme o dendrograma da Figura 03, onde são analisados os trinta e um genótipos, e, se utiliza o método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method*), pode-se observar que, existe uma similaridade (proximidade) genética bem acentuada entre os genótipos 6PB e 7PB, enquanto que, verifica-se uma relevante dissimilaridade genética entre os genótipos 3RN e 1CER.

As dissimilaridades entre os acessos variaram de 0.06531 a 0.52536, apresentando distância genética média de 0.295335. Os valores de similaridade, ou seja, dos genótipos com maiores semelhanças genéticas foram os acessos 6PB e 7PB oriundos do município de Rio Tinto - PB. Em contrapartida, os materiais que apresentaram as maiores distâncias genéticas entre si foram os acessos 3RN, oriundo do município de Nízia Floresta – RN, e o 1CER, do município de Barra do Garças – MT, localizado no bioma cerrado que foi de 0,52536.

Este resultado é justificado pelo fato de serem acessos de localidades distintas, de variedades botânicas também diferentes, de ecossistemas com fatores climáticos antagonicos, o que pode contribuir na dissimilaridade genéticas destes acessos.

Rodrigues et al, (2010), estudando a estrutura genética e fluxo gênico de duas populações de mangabeira no Estado de Pernambuco encontraram divergência genética entre as populações (θ), relativamente baixa de 0,076, ou seja, 7,6 % da variabilidade genética encontram-se entre as populações e que 94% encontram-se dentro das populações. As populações utilizadas neste estudo apresentaram alta variabilidade genética dentro, e baixa entre populações. As espécies tipicamente alógamas apresentam alta variabilidade genética dentro de populações, sendo que a divergência entre populações é reduzida com o aumento do fluxo gênico.

Analizando-se os valores de dissimilaridade, assim como, o dendrograma gerado (Figura 3), onde se observou que os genótipos 6PB e 7PB demonstraram acentuada similaridade, pode-se concluir que este caso é justificado pelo fato destes

materiais serem oriundos da mesma localidade (Rio Tinto-PB). A proximidade física dos acessos contribui e proporciona essa similaridade através de cruzamentos naturais, polinização realizada por insetos polinizadores, e, também, proporcionado pela acentuada contingência de materiais, o que influencia o intercambio de genes.

Para Ferreira e Grattapaglia (1998), a estimativa da distância genética baseada na análise de DNA elimina complicações advindas da avaliação fenotípica com influência do ambiente e baixo número de polimorfismo.

A partir das análises de agrupamento foi possível separar os 31 genótipos em 06 grupos distintos em que se observa a presença de apenas 01 indivíduo nos grupos 1, 2, 3 e 4 (Tabela 3). A análise do dendrograma (Figura 3) permitiu a formação de 06 grupos, quando se considerou um ponto de corte com 30 % de dissimilaridade, abaixo do corte com percentual usado (50%) em virtude das diferenças genéticas serem bastante reduzidas, o que reduziria ainda mais o número de grupos.

Observando-se o referido dendrograma e utilizando-se a análise média entre grupos (UPGMA), este exibe coeficientes de dissimilaridade que variaram de 13,05% e valor de 0,0653, entre os genótipos 6PB e 7PB com distância de 86,95%, e, de 100% com valor de 0,5003 entre os genótipos 1RN e 1CER respectivamente.

O grupo 01 foi formado pelo genótipo 1CER, o grupo 2 pelo genótipo 5PE, o grupo 3 pelo genótipo 9 PB, e, o grupo 4 pelo genótipo 3PB.

O grupo 5 foi composto pelos genótipos 6RN e 5RN, enquanto que, o grupo 6 foi formado por 25 genótipos, ou seja, pelos demais genótipos estudados: 7RN; 4RN; 3RN; 2RN; 9RN; 1RN; 10RN; 4PE; 1PE; 3PE; 2PE; 5PB; 8RN; 8PE; 8PB; 4PB; 1PB; 10PE; 9PE; 7PE; 6PE; 10PB; 2PB; 7PB e 6PB.

O grupo 6 composto por 25 genótipos já citados apresenta uma média de dissimilaridade entre si de 0,4980 com uma distância média de 72,40%.

O coeficiente de dissimilaridade entre o genótipo 1 CER e 5PE (grupo 1 e 2), é de 0,4987 apresentando uma distância genética de 47,57%. Entre os genótipos 1CER e 9PB (grupo 1 e 3), é de 0,4717 com distância genética de 61,55%. O genótipo 3PB do

grupo 4, apresentou valor de dissimilaridade de 0,49811, e, uma distância genética de 64,17% em relação ao genótipo 1CER do grupo 1.

O grupo 5 formado pelos genótipos 6RN e 5RN apresentam coeficientes de dissimilaridade de 0,1434 entre si, e 28,67% de distância genética. Entre estes genótipos (5RN e 6RN) e o genótipo do grupo 1 (1CER) demonstram coeficientes de 0,52128 e 0,49064 respectivamente, e uma distância genética de 71,33%.

Os resultados apresentados pelo método de agrupamento (UPGMA) mostram que as divisões dos genótipos são coerentes, podendo ser consideradas bastante seguras, uma vez que se observa para o dendrograma, um coeficiente de correlação cofenético de 0.98, o que indica um bom ajuste entre a matriz de dissimilaridade e a representação gráfica obtida, ou seja, este valor assegura um elevado grau de confiabilidade entre as distâncias nas matrizes, e o agrupamento dos genótipos nos dendrogramas.

Segundo Barros (2005), grupos formados por apenas um indivíduo, apontam na direção de que tais indivíduos sejam mais divergentes em relação aos demais, como é observado no presente trabalho.

De acordo com o dendrograma, onde os acessos foram agrupados, observa-se que quase todos os genótipos de Pernambuco, do Rio Grande do Norte, e da Paraíba estão próximos geneticamente entre si, compondo o grupo 06, ficando apenas o genótipo 5PE no grupo 02, um genótipo no grupo 03 (9PB), um outro genótipo (3PB) no grupo 04, dois genótipos (5RN e 6RN) no grupo (05), enquanto que, os outros acessos (1RN; 2RN; 3RN; 4RN; 7RN; 8RN; 9RN e 10RN) se agruparam no grupo próximo (06), assim como, um mesmo número de genótipos da Paraíba (5PB, 8PB, 4PB, 1PB, 10PB, 2PB, 7PB e 6PB), também neste grupo, ficando o Estado de Pernambuco com o maior número de genótipos compondo este grupo, com os genótipos: 01PE, 02PE, 03PE, 04PE, 06PE, 07PE, 08PE, 09PE e 10PE, conforme tabela 3.

Tabela 3. Agrupamento de 31 acessos de mangabeiras, pelo método de Tocher, com base na dissimilaridade expressa pelo Complemento Aritmético do Índice de Jaccard.

Grupos	Acessos
01	1 CER
02	5PE
03	9PB
04	3PB
05	6RN e 5RN
06	7RN; 4RN; 3RN; 2RN; 9RN; 1RN; 10RN; 4PE; 1PE; 3PE; 2PE; 5PB; 8RN; 8PE; 8PB; 4PB; 1PB; 10PE; 9PE; 7PE; 6PE; 10PB; 2PB; 7PB e 6PB.

Analizando-se a tabela 3., percebe-se que os genótipos 6RN e 5RN, mesmo em grupos diferentes dos demais genótipos oriundos do Rio G. do Norte, como componentes do grupo 5, demonstram grande similaridade genética, apresentado coeficientes de dissimilaridade de 0,14343. Este fato se justifica por serem acessos da mesma região geográfica (Parnamirim – RN), onde os efeitos da proximidade física dos acessos facilitam os cruzamentos naturais, realizados por insetos polinizadores, ou mesmo, uma dispersão feita com base na mesma matriz.

Da mesma forma, analisando-se a mesma tabela onde os genótipos oriundos do RN participantes do grupo 6, composto dos genótipos 1RN; 2RN; 3RN; 4RN 7RN; 8RN; 9RN e 10RN, também demonstraram considerável proximidade, fato este, demonstrado no dendrograma e ratificado nos valores encontrados nos coeficientes de dissimilaridade, e, garantido pelo coeficiente cofenético fator este que, dá maior segurança e veracidade aos dados apresentados.

Os dados encontrados nos mostra que, a dispersão da cultura da mangaba nos Estados do Rio Grande do Norte, Pernambuco e Paraíba ocorre sem grande variabilidade, e que, também, a segregação da cultura é muito pequena.

Estes dados nos mostram que, para se implantar um programa de melhoramento desta espécie nos Estados, deverão ser obtidos de germoplasma já caracterizados, de outras localidades, outras origens, realizar caracterização molecular noutros não conhecidos, que sejam diferentes geneticamente, com variabilidade significativa, para fins de cruzamentos e que sejam obtidos de genótipos com características promissoras ou desejáveis para reprodução ou multiplicação, e que satisfaça a um bom melhoramento genético da espécie.

Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram que, a maioria dos acessos da Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte são muito próximos geneticamente, como pode ser observado na composição dos grupos e seus respectivos coeficientes, onde o grupo 6 foi formado por 25 genótipos num total de 30 (RN, PB e PE). Os valores do coeficiente de dissimilaridade do grupo 6, variaram de 0,47566 a 0,52536 evidenciando a proximidade genética entre os componentes do grupo.

Esta proximidade dos dados pode ser atribuída ao fato de que, possivelmente devido a uma mesma origem genética por conseqüente dispersão, ou mesmo por apresentarem baixa segregação, e, ocasionado pela polinização entomófila.

A análise de polimorfismo de DNA em indivíduos de oito populações naturais da espécie no Cerrado detectou elevados níveis de diversidade genética, dos quais cerca de 7% a 9% referindo-se à variação entre as populações, sugerindo que um elevado número de populações naturais deve ser amostrado quando da realização de programas de coleta destinados à conservação genética da espécie (SILVA, 2006).

Capinan et al. (2007), empregando marcadores moleculares RAPD, estudaram a diversidade genética da cultura da mangaba em três populações naturais na Bahia, constatando que 16,1% da variabilidade genética estavam entre populações e 83,9% encontravam-se dentro de populações, valores semelhantes àqueles encontrados por

Moura (2003), trabalhando também com mangabeiras. Da mesma forma, o presente trabalho apresenta resultados onde há divergência entre genótipos que variaram de 13,05% a 100%, entre acessos oriundos do Rio Grande do Norte e do bioma cerrado.

Rezende *et al.* (2003) detectaram maior diversidade entre populações dentro de regiões do que entre regiões, para os caracteres altura das plantas, diâmetro do caule e número de frutos em populações naturais de *H. speciosa*.

Analisando-se os dados observa-se que os genótipos de maior aproximação genética entre si foram os genótipos 6PB e 7PB, com coeficiente de dissimilaridade de 0,06531, enquanto que as mais distantes geneticamente foram as 3RN e 1 CER, com um coeficiente de 0,52536. Os valores dos coeficientes de dissimilaridade dos genótipos 6PB e 7PB em relação ao 1CER, é de 0,49635 e 0,48352 respectivamente.

Nos genótipos estudados dos Estados da Paraíba, Rio Grande do Norte e Pernambuco, encontraram-se maiores e menores distâncias genéticas em relação ao Cerrado. O maior valor encontrado entre genótipos da Paraíba e do Cerrado foi de 0,49635 referente ao genótipo 6PB, enquanto que o menor ficou com o 9PB com o coeficiente de 0,4717. Dos coeficientes de dissimilaridade dos genótipos de Pernambuco em relação ao do Cerrado, o maior ficou com o genótipo 9PE apresentando valor de 0,51625, e o menor valor encontrado foi o do 3PE com 0,49635. Os genótipos do Rio Grande do Norte tiveram como maior valor encontrado o 3RN com um coeficiente de 0,52536, e o menor valor ficou com o genótipo 8RN com valor de 0,48889.

A distância genética do acesso do Cerrado com as demais analisadas pode ser considerada como um resultado normal ou aguardado, pois mesmo sendo a mesma espécie, trata-se de uma variedade botânica distinta (*Hancornia speciosa* var. *Gardneri*), e que esta espécie é monotípica, onde existem apenas variedades botânicas, e que vegetam em ecossistemas e regiões diferentes, têm morfologia diferenciada. No entanto, no seu habitat natural, estas plantas que têm proximidade com genótipos

também encontrados nos tabuleiros costeiros do Nordeste, e que aqui, se pode encontrar apenas a variedade (*Hancornia speciosa*, var. *speciosa*), .

Apesar da dissimilaridade genética com alto percentual (100%), em relação ao menor valor (13,05%), o acesso do cerrado (1CER) apresenta um valor de dissimilaridade em relação ao acesso oriundo de Pernambuco (5PE) em torno de (0,49807) 53%. Este dado demonstra que, mesmo com a máxima dissimilaridade, este acesso, que pertence à outra variedade botânica, detém quantidades de genes da espécie, que são comuns as variedades estudadas.

A similaridade máxima encontrada entre os acessos pode ser devido à limitação do marcador molecular RAPD, que, por ser um marcador de natureza dominante, não é capaz de discriminar adequadamente a ocorrência de heteromorfismo intralocos (SILVA, 1996).

Os grupos 2, 3 e 4, com os acessos 5PE, 9PB e 3PB, respectivamente, se mostram os mais próximos do acesso oriundo do Cerrado, localizado no grupo 1 (1CER), apresentam coeficientes de dissimilaridades com valores de 0,49807 (5PE), 0,4717 (9PB), e 0,49811 (3PB).

Analizando-se estes valores, percebe-se que as diferenças são significativas quando comparadas a outros valores encontrados neste trabalho, que mostram uma maior proximidade genética entre os acessos, a exemplo dos acessos 6PB e 7PB, com o coeficiente de dissimilaridade entre ambos de 0,06531. No entanto, com relação ao acesso 1CER estes apresentam coeficientes de distância genética de 0,49635 e 0,48352 respectivamente.

Também verificando os dados referentes aos valores encontrados na análise estatística, e, transferido para o dendrograma equivalente, observa-se que os valores encontrados das distâncias genéticas para os acessos 6RN e 5RN, que compõem o grupo 5, em relação ao acesso 1CER são de 0,49064 e 0,52128 respectivamente. São valores que expressam um significativo coeficiente de dissimilaridade, enquanto que,

entre os acessos citados do grupo 5, este coeficiente é de apenas 0,14343, considerado relativamente pequeno e de grande similaridade.

Os acessos 05RN e 06RN mostram-se bastante próximos geneticamente, ou mesmo, semelhantes entre si. Estudos relativos à caracterização morfológica complementar, assim como outros para a verificação da existência de valores agronômicos de produção, ou qualquer outro desejável, e, que seja de interesse do melhorista, poderá ser interessante em programa de aperfeiçoamento da espécie com outros genótipos de valores ou atributos opostos, o que complementará outros caracteres de importância para a espécie.

A similaridade entre indivíduos de regiões próximas pode ser explicada pela circulação de genes dentro de populações de plantas, que estão condicionadas pelo grau de compatibilidade genética entre os indivíduos da população. Em populações de plantas alógamas, como a mangaba, os indivíduos que estão próximos, normalmente têm menor probabilidade de cruzarem do que plantas que estão mais distantes, contribuindo para a proximidade genética entre populações Loveless & Hamrick, (1964).

A discriminação entre materiais muito aparentados com uso de marcadores RAPD pode ser alcançada quando se aumenta o número de bandas polimórficas, por meio do uso de um maior número de oligonucleotídeos iniciadores (WELSH et al., 1991; FERREIRA & GRATAPLAGLIA, 1995) ou uso de outros marcadores moleculares não dominantes como microssatélites e RFLP (THOMAS et al, 1998; BASTIANEL, 1999).

Estudando populações de mangabeiras com marcadores moleculares RAPD, Moura (2003) encontrou uma variação significativa entre as populações. A variação genética entre populações ocorre quando há alguma restrição ao fluxo gênico, pelos efeitos da deriva genética e adaptações específicas ao meio ambiente via seleção.

Pelos resultados encontrados nos coeficientes de dissimilaridade, foram observadas as médias dos acessos destes agrupamentos com relação ao genótipo que apresentou a maior dissimilaridade, (1CER).

Tabela 4. Médias de coeficiente de dissimilaridade dos grupos formados no dendrograma com 31 acessos estudados.

Grupos	Médias
2	0,5154
3	0,5059
4	0,4981
5	0,4717
6	0,4980

Pelos valores médios de dissimilaridade dos acessos dentro dos seus respectivos grupos, e comparando-se em relação ao genótipo 1CER que foi o de maior distância genética, percebe-se que estes valores estão assemelhados ao do maior valor de dissimilaridade entre os acessos estudados que foi de 0,52536 entre os acessos 3RN e 1CER.

Com os valores médios encontrados por grupo e, relacionando-se com o valor máximo de distância genética obtido, constata-se que, apesar de haver dissimilaridades entre os acessos estudados, em maior e menor percentual, o genótipo oriundo do bioma cerrado se apresenta com valor de dissimilaridade superior aos demais, nos indicando que, trata-se de material genético de fundamental importância para programa de melhoramento.

Quanto mais divergentes forem os genitores, maior a variabilidade resultante na população segregante, e maior a probabilidade de reagrupar os alelos em novas combinações favoráveis (BARBIERI et al, 2005).

Os resultados obtidos neste estudo mostraram que, a maioria dos genótipos é muito próximo geneticamente, o que poderá ser entendido como, possivelmente, devido a uma mesma origem genética, a proximidade geográfica, ou, provavelmente, por apresentarem pouco nível de segregação.

Essa variabilidade ocorreu provavelmente pelo fato de a mangabeira ser uma espécie alógama, de flor hermafrodita e auto-incompatível, portanto, de fecundação cruzada (DARRAULT; SCHLINDWEIN, 2006).

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados encontrados pode-se concluir que:

- 1- A técnica utilizando-se marcadores moleculares RAPD é eficiente na identificação de polimorfismos entre os genótipos avaliados;
- 2- Há variabilidade entre os acessos estudados da Paraíba, Rio Grande do Norte e Pernambuco;
- 3- A divisão dos acessos em grupos, com a linha de corte em 30%, demonstrou a baixa variabilidade dos acessos, e, evidenciou ainda mais a dissimilaridade do acesso do bioma cerrado;
- 4- O acesso do Cerrado apresenta uma grande dissimilaridade, dos demais estudados, por ser de outra variedade botânica, e que, este atributo poderá ser de grande utilidade para futuros cruzamentos da espécie;
- 5- A importação de genótipos de variedades distintas, de outras regiões e ecossistemas, enriquecerão o acervo dos programas de melhoramento genético, pela possível variabilidade;

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBIERI, R.L.; LEITE, D.L.; EVA CHOER,E.; SINIGAGLIA, C. Divergência genética entre populações de cebola com base em marcadores morfológicos. **Ciencia Rural**, v.35, n.2, p. 303 – 308, 2005.

BARROS, A.K.A. **Cruzamento dialélico entre Genótipos de Melão**. 2005. 75p. (Dissertação de Mestrado) UFERSA, Mossoró.

BASTIANEL, M. **Análise de uma população segregante de tangerine “Le” [*Citrus reticulate* x (*C. tangerina* x *C. paradisi*)] através de RAPD e marcadores morfológicos**. 1999. 91f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

BORÉM, A.; CAIXETA, E.T. **Marcadores Moleculares**. Minas Gerais: Folha de Viçosa, 2006. 374 p.

CAPINAN, G. C. S. Seleção de germoplasma de mangabeira (*Hancornia speciosa* gomes) definidos por marcadores morfológicos e moleculares. 2007. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2007.

CHAVES, L. J.; NAVES, R. V. O cerrado do Brasil: uma fonte potencial de recursos genéticos. In: ENCONTRO SOBRE TEMAS DE GENÉTICA E MELHORAMENTO, 15., 1998, São Paulo, **Anais...** São Paulo: ESALQ, v. 15, p. 74-86, 1998

CRUZ, C.D. **Programa GENES: análise multivariada e simulação**. Viçosa: UFV, 2006. 175p.

BORÉM, A. **Melhoramento de Plantas**. Viçosa: UFV, 1997. 547 p.

DARRAULT, R.O.; SCHLINDWEIN, C. Polinização de *Hancornia speciosa* (APOCYNACEAE) In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 2003, Aracajú, SE. **Anais...** Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. CD-ROOM.

DARRAULT, R. O; SCHLINDWEIN, C. Polinização. **In:** Silva Junior, J. F.; Ledo, A. S. (ORG.) **A cultura da mangabeira**. Editora Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju - SE, 43-56 p. 2006

DIAS, L. A. Contribuições do melhoramento. **In:** Dias, L. A. (Ed). **Melhoramento genético do cacaueiro**. Viçosa, Editora Folha de Viçosa. 2001. p. 493-527.

DOYLE, J. J. T.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Ithaca, v. 12, p. 13 - 18, 1990.

ESPÍNDOLA , A. C. de M.; CARVALHO, N.S.G. de; ALMEIDA,C.C. de S. Prospecção, coleta e manutenção de germoplasma de mangabeira em Alagoas. **In:** SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 2003, Aracajú, SE. **Anais...** Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. CD-ROOM.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; K.P.; BELLON, G.; FONSECA, K.G.; PEIXOTO,J. R. Cruzamentos interespecíficos e retro cruzamentos visando à resistência do maracujazeiro a doenças. **In:** CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 4., 2007, São Lourenço CBMP, 2007. 4p. 1 CD-ROOM.

FALEIRO, F.G.; ANDRADE, R.P.; KARIA. C.T.; CORDEIRO, M.C.R.; SOUZA, T.L.P.O.; MÉRIDA, J.L.; Similaridade genética de acessos de *Arachis pintoi* com diferentes níveis de produtividade de matéria seca com base em marcadores RAPD. **In:** REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Brasília: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003a. 1 CD-ROOM.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998, 220p.

FEREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília: EMBRAPA, 1995. 220p.

FERREIRA, F.R.; FERREIRA, S.A.N.; CARVALHO, J.E.U. Espécies frutíferas pouco exploradas, com potencial econômico e social para o Brasil. *Revista brasileira de Fruticultura*, v.9, n. extra, p. 11-12, 1987.

GIACOMETTI, D.C. Recursos genéticos de fruteiras nativas do Brasil. **In:** SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS, 1992, Cruz

das Almas, BA. **Anais...** Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 1993. P. 13 – 27.

HAWKES, J. G. Germplasm collection, preservation, and use. In: FREY, K. J., ed. **Plant Breeding II**. Ludhiana: Kalyan Publishers, 1982. p. 57-83.

LEDERMAN, I. E.; SILVA JÚNIOR, J. F da; BEZERRA, J. E. F.; ESPÍNDOLA, A. C. de M. **Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes)**. Jaboticabal: São Paulo. 2000. 35p. (Série frutas Nativas).

LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v.15, p. 65-95, 1984.

MATIOLI, S.R. **Métodos baseados em PCR para análise de polimorfismos de ácidos nucleicos**. In: MATIOLI, S.R. (Editor). **Biologia Molecular e Evolução**. Ribeirão Preto, SP: Holos, 2001. 200 p.

MILACH, S. C. K. Marcadores de DNA. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v., p. 14-17, 1998.

MICHELMORE, R.W.; PARAN, I.; KESSELI, R.V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genome regions by using segregating populations. **Proceedings Nature Academy Science.**, v. 88, p. 9828-9832, 1991.

MOURA, N.F. **Estrutura genética de subpopulações de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomez) nos cerrados do Brasil Central**. 2003. 70p. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos - Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2003.

NASS, L.L. Utilização de recursos genéticos vegetais no melhoramento. In: Nass, L.L.; Valois, A.C.C.; Melo, I.S.; Valadares-Inglis M.C. (Eds.) **Recursos genéticos e melhoramento – plantas**. Editora: Fundação MT, Rondonópolis, p. 29-55, 2001.

OLIVEIRA, A. C.; FIGUEIREDO, R. W.; MAIA, G. A.; ALVES, R. E.; SOUZA FILHO, M. S. M.; SOUZA, P. H. M. Efeito do tipo de corte nas características físico-químicas e microbiológicas do melão ‘Cantaloupe’ (*Cucumis melo* L. híbrido Hy-Mark) minimamente processado. **Revista de Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.4, p.1095-1101, 2007.

PARENTE, T.V.; Borgo, L.A.; Machado, J.W.B. Características físico-químicas de frutos de mangaba (*Hancornia speciosa*, Gomes), do cerrado da região Geoeconômica do Distrito Federal. **Ciência e Cultura**, v. 37, n. 1. p. 95-98, 1985.

PATERINIANI, E. Plant breeding contributions in Brazil: history and perspectives. In: BORÉM, A.; GIÚDICE, M.P.; SAKIYAMA, N.S., ed. Plant breeding in the turn of the millennium. Viçosa: UFV, 1999. 355-379.

RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V.; WILLIAMS, G.K.; RAPD markers – a new technology for genetic mapping and plant breeding. **Genome**, v. 37. p. 645-649, 1994.

RAMOS, S.R.R.; QUEIROZ, M.A.; ROMÃO, R.L.; SILVA JUNIOR, J.F. Recursos genéticos vegetais: manejo e uso. **Magistra**. V.20, n.3, 205-217, 2007.

REZENDE, C. F.; NAVES, R. V.; CHAVES, L. J.; MOURA, N. F.; AGUIAR, A. V. Caracterização de ambientes com alta densidade e ocorrência natural de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomez) no cerrado. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 2003, Aracaju. **Anais...Aracaju**: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. CD-ROOM.

RISTERUCCI, A.M.; GRIVET, L.; N'GORAN, J. A. K.; PIERETTI, I.; FLAMENT, M. H.; LANAUD, C. A high-density linkage map of *Theobroma cacao* L. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 5-6, n. 101, p. 948-955, 2000a.

RODRIGUES, F. F. G.; NASCIMENTO, E. M. M. do.; FURTADO, C. A. N.; COSTA, J. G. M. Análise físico-química de espécies de spondias oriundas do cariri cearense. **Cadernos de Cultura e Ciência**, Ano IV, v. 1, nº 2, p. 44-52. 2010.

SILVA, B.A. **O uso de marcadores moleculares e descritores morfológicos na caracterização de clones de limão cravo** (*Citrus limonia* Osb.). 1996. 83f.. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

SILVA JUNIOR, J.F. da; LÉDO, A. da S. (Ed.). Botânica. In: SILVA JUNIOR, J.F. da; LÉDO, A. da S. (Ed.). **A cultura da mangaba**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. p.25-33.

SKROCH, P.W.; TIVANG, J.; NIENHUIS, J. Analysis of genetic relationships using RAPD marker data. In: SYMPOSIUM ON APPLICATIONS OF RAPD TECHNOLOGY TO PLANT BREEDING, 1992, Minneapolis. **Proceedings**. Minneapolis: Crop Science Society of America, 1992. p.26-30.

THOMAS, M.R. et al. Sequence - Tagged site markers in grapevine and citrus. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Tokyo, v. 67, n. 6, p. 1189 - 1192, 1998.

VALLS, J.F.M.; Caracterização morfológica, reprodutiva e bioquímica de germoplasma vegetal. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1., Jaboticabal, FCAV/UNESP, p. 106 -128, 1988.

VIEIRA NETO, R. D. Mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS, 1993, Cruz das Almas. **Anais...** Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 1993. p. 109 - 116.

WELSH, J. et al. Parentage determination in maize hybrids using the arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 82, p. 473 - 476. 1991.

WILKINSON, M.J. The Application and Constraints of New Technologies in Plant Breeding. In: **Proceedings of the International Workshop on New Technologies and Cocoa Breeding**, Ingenic, Malaysia, p. 27-39, 2000.

CAPÍTULO III

**QUALIDADE FISICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE FRUTOS E
POLPAS DE MANGABA COM E SEM BOAS PRÁTICAS DE CAMPO E DE
FABRICAÇÃO.**

RESUMO

QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE FRUTOS DE MANGABEIRA COLHIDOS COM E SEM BOAS PRÁTICAS AGRÍCOLAS E DE POLPAS DE MANGABA PROCESSADAS COM E SEM BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO.

Este estudo teve como objetivos avaliar frutos e polpas de mangaba, no que se referem as suas características físico-químicas e microbiológicas com a presença e ausência das Boas Práticas de Campo, e Boas Práticas de Fabricação. Na realização do trabalho, foram coletados frutos de mangabeiras no Assentamento Camocim, município de Pitimbu-PB, utilizando-se as boas práticas de campo, e, no método tradicional, sob a forma de coleta sem procedimentos de higiene e precauções. No mesmo princípio, no processamento dos frutos, também foram usadas as boas práticas de fabricação seguidas da pasteurização das polpas, do despulpamento de frutos sem tratamento térmico, do envase e do armazenamento. Após a colheita dos frutos e polpas nos respectivos locais de origem, estes foram levados para o Laboratório de Biologia e Tecnologia de pós-colheita da UFPB/CCA para as avaliações físico-químicas e microbiológicas com uma amostra de dez frutos para cada avaliação, onde, análises de pH, acidez, sólidos solúveis e a relação sólidos solúveis/acidez titulável, foram realizadas nos frutos colhidos nos dois sistemas. No sistema de boas práticas agrícolas foram obtidos valores iguais a 2,76 (pH), 2,29 (acidez titulável), 11,58 (SS), e a relação sólidos solúveis/acidez titulável (SS/AT) igual a 5,07. Nos frutos colhidos sem Boas Práticas agrícolas, os valores encontrados foram: 2,95 (pH), 1,4 (acidez), 11,03 (SS), e SS/AT = 8,61. As avaliações microbiológicas foram com relação a bolores e leveduras, aeróbios mesófilos, coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus* e *Salmonella*. Essas avaliações foram feitas em frutos de mangabeira colhidos com e sem boas práticas agrícolas e em polpas de frutos de mangabeira processados com (CBP) e sem boas práticas (SBP) de fabricação. Os frutos colhidos com e sem boas práticas agrícolas apresentaram os respectivos resultados: aeróbios mesófilos estiveram ausentes (CBP), e 1×10^{-2} UFC.g⁻¹ (SBP) bolores e leveduras 8×10^1 UFC. g⁻¹ (CBP), e 11×10^1 UFC.g⁻¹ (SBP), coliformes totais e termotolerantes tiveram valores < 0,3 nos dois sistemas (CBP e SBP); enquanto que, *Staphylococcus* foi ausente (CBP) e (SBP) 3×10^2 UFC.g⁻¹, a *Salmonella* esteve ausente também nos sistemas estudados. As

mesmas análises foram realizadas para polpas de mangaba com e sem boas práticas de fabricação, e, apresentaram os seguintes resultados com e sem Boas Práticas em: aeróbios mesófilos 3×10^1 UFC.g⁻¹ (CBPF), 18×10^1 (SBPF); bolores e leveduras ausentes para ambos os casos, coliformes totais $< 0,3$ e $< 2 \times 10^3$ (CBPF e SBPF), os termotolerantes $< 0,3$ (CBPF e SBPF); *Staphylococcus* e *Salmonella* estiveram ausentes em ambos os sistemas, onde conclui-se pela grande necessidade de adoção e regulamentação das boas práticas agrícolas e de fabricação na colheita e processamento de frutos.

Palavras chave – microbiologia, polpa, frutos, qualidade.

ABSTRACT

PHYSICOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL QUALITY OF FRUITS OF MANGABA TREE HARVESTED WITH AND WITHOUT GOOD FIELD PRACTICES AND OF PULPS OF MANGABA PROCESSED WITH AND WITHOUT GOOD MANUFACTURING PRACTICES

This study had as objectives to evaluate the physicochemical and microbiological characteristics of fruits and pulp of mangaba on the presence and absence of good field practices and good manufacturing practices. In carrying out this work, fruits of mangaba tree were collected from Camocim Settlement located at the municipality of Pitimbu-PB, using the good field practices, and using the traditional method, in the form of collection without hygiene procedures and precautions. On the same principle, during the processing of fruits, the good manufacturing practices were used followed by pasteurization of pulp, the pulping of fruits without heat treatment, packing and storage. After the harvest of fruits and pulps, they were taken to the Laboratory of Biology and Technology of Postharvest UFPB / CCA for physicochemical and microbiological evaluations with samples of ten fruits. Analyses of pH, acidity, soluble solids and soluble solids / titratable acidity, were done in fruits harvested in both systems. In the system of good field practices, values equal to 2.76 (pH), 2.29 (titratable acidity), 11.58 (SS), and 5.07 soluble solids / titratable acidity (SS / TA). In fruits harvested without Good Field Practices the values were: 2.95 (pH), 1.4 (acidity), 11.03 (SS), and 8.61 (SS / TA). The microbiological analyses were done for yeasts and molds, mesophilic aerobic, thermotolerant coliforms, *Staphylococcus* and *Salmonella*. These assessments were made in mangaba fruits harvested with and without good field practices, as well as in fruit pulps of mangaba tree processed with good manufacturing practices (WGMP) and without good manufacturing practices (WOGMP). Fruits harvested with (WGFP) and without (WOGFP) good field practices presented the respective results: mesophilic aerobic were absent (WGFP) and 1×10^{-2} CFU g⁻¹ (WOGFP), yeasts and molds 8×10^1 CFU. g⁻¹ (WGFP) and 11×10^1 CFU g⁻¹ (WOGFP), total and fecal coliforms had values <0.3 in both systems (WGFP and WOGFP), whereas, *Staphylococcus* was absent (WGFP) and 3×10^2 CFU g⁻¹ (WOGFP), *Salmonella* was absent also in the systems studied. The same analyses were performed for pulps with (WGMP) and without (WOGMP) good manufacturing practices, and presented the following respective results: mesophilic aerobic 3×10^1 CFU g⁻¹ (WGMP), 18×10^1 (WOGMP), yeasts and molds were absent in both cases, total

coliforms <0.3 and $<2 \times 10^3$ (WGMP and WOGMP), the thermotolerant <0.3 (WGMP and WOGMP), *Staphylococcus* and *Salmonella* were absent in both systems.

Keywords - microbiology, pulp, fruit.

CAPÍTULO III

QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE FRUTOS E POLPAS DE MANGABA COM E SEM BOAS PRÁTICAS AGRÍCOLAS E DE FABRICAÇÃO

3.1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de frutas in natura, porém, por ser perecível, grande parte dessas frutas sofre deterioração em poucos dias, tendo sua comercialização dificultada, especialmente a longas distâncias. A produção de polpas de frutas congeladas tem se destacado como uma importante alternativa para o aproveitamento dos frutos durante a safra, permitindo a estocagem das polpas fora da época de produção dos frutos frescos (BRUNINI; DURIGAN; OLIVEIRA, 2002).

As frutas têm grande importância na nutrição humana devido ao grande conteúdo de vitaminas e sais minerais. Porém são importantes micro habitats para uma grande variedade de micro-organismos, devido sua natureza apresentar alta concentração de açúcares simples, baixo pH, alta atividade de água e intensa visitação por insetos (FAZIO, 2006).

Por ser perecível, grande parte dessas frutas sofrem rápida deterioração, tendo sua comercialização dificultada, especialmente a longas distâncias (SANTOS *et al.*, 2008).

Aliado a isto, a produção de alimentos é sazonal, principalmente a de origem vegetal, evidenciando a necessidade do desenvolvimento de métodos essenciais que

prolonguem o período de armazenamento destes alimentos (FERNANDES *et al.*, 2010).

A alta perecibilidade dos frutos e sua sazonalidade impulsionam o desenvolvimento de processos tecnológicos, dentre os quais se podem destacar a produção de polpas, que é uma atividade agroindustrial importante na medida em que agrega valor econômico à fruta, evitando desperdícios e minimizando as perdas que podem ocorrer durante a comercialização do produto *in natura*, além de permitir estender sua vida útil com manutenção da qualidade (EVANGELISTA & VIEITES, 2006).

A saúde tem como um dos seus fatores determinantes a alimentação, a qual depende da qualidade sanitária e do teor nutricional dos alimentos que a compõem, indispensáveis à satisfação das necessidades fisiológicas do indivíduo. A qualidade sanitária do alimento depende do controle exercido sobre os perigos químicos, físicos e biológicos, que permeiam todas as etapas da cadeia alimentar, iniciada na produção e finalizada no consumo (ROBBS, 2002; ROSA E CARVALHO, 2004).

Segundo a legislação brasileira do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, polpa é o produto não fermentado, não concentrado ou diluído, obtido pelo esmagamento de frutos polposos (BRASIL, 2000). Além disso, devem ser preparadas com frutas sãs, limpas, isentas de matéria terrosa, de parasitas e detritos de animais ou vegetal. Não deverão conter fragmentos das partes não comestíveis da fruta, nem substâncias estranhas à sua composição normal, devendo ser observada também a presença ou ausência de sujidades, parasitas e larvas (SANTOS *et al.*, 2004).

A polpa de fruta tem grande importância como matéria-prima, podendo ser produzida nas épocas de safra, armazenadas e processadas nos períodos mais propícios ou segundo a demanda do mercado consumidor, como doces em massa, geléias, gelados comestíveis, néctares entre outros (BUENO *et al.*, 2002).

As polpas de frutas apresentam como características gerais: elevada atividade de água, potencial de óxido-redução positivo e baixo potencial hidrogeniônico ou pH. Destes fatores, a elevada acidez restringe a microbiota deterioradora, que se limita principalmente a bolores e leveduras; sendo principalmente estes os mais importantes agentes de deterioração de polpas e sucos de frutas (FAZIO, 2006).

A legislação brasileira vigente que fixa limite para bolores e leveduras em polpa de frutas é a Instrução Normativa nº1, de 07 de janeiro de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), porém, a Resolução RDC nº 12, de 02/01/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2001) que apresenta o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, não menciona a contagem de bolores e leveduras em polpa de frutas. Da mesma forma, a contagem de aeróbios mesófilos em polpas de frutas é desconsiderada pela legislação brasileira.

No Brasil, o órgão governamental responsável pelo controle dos alimentos, no que tange a saúde pública, é a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, ligada ao Ministério da Saúde. No Mundo, a Organização Mundial da Saúde - OMS e a Food and Agriculture Organization- FAO, compostas pela maioria dos países, subscrevem as diretrizes elaboradas pelo painel de especialistas no Codex Alimentarius, que compila normas básicas e recomendações sobre alimentos.

A ANVISA, através da Instrução Normativa nº 12 de 10/09/99, regulamentou os padrões de identidade e as características mínimas de qualidade para polpas de frutas destinadas ao consumo como bebida, estabelecendo valores máximos de 1 NMP.g^{-1} de coliformes e $5 \times 10^3 \text{ UFC.g}^{-1}$ de bolores e leveduras. A resolução RDC nº 12, de 02/01/2001, que estabelece os padrões microbiológicos para alimentos, estabelece valor máximo de 10^2 UFC.g^{-1} para coliformes termotolerantes, porém não estabelece padrões para bolores e leveduras.

O termo *alimento seguro* significa ausência total de microrganismos capazes de ocasionar toxinfecções alimentares. Milhares de tipos de organismos estão

naturalmente presente em nosso ambiente. Alguns causam alterações benéficas ao alimento, modificando suas características originais de forma a transformá-lo em um novo alimento como na fabricação de produtos fermentados (FRANCO E LANDGRAF, 2002).

Segurança alimentar pressupõe a garantia de suprimentos abundantes de alimentos com qualidade e que não apresentem riscos à saúde.

A microbiota que contamina os produtos de frutas é normalmente proveniente das condições da matéria-prima e da lavagem às quais estas são submetidas, além das condições higiênico-sanitárias dos manipuladores, equipamentos e ambiente industrial.

A maior parte da microbiota presente nas frutas reside em sua parte externa, sendo o seu interior praticamente estéril, a menos que haja uma ruptura em alguma parte da casca. As frutas e seus derivados são em geral alimentos ácidos e a elevada acidez restringe a microbiota deterioradora, especialmente os microrganismos patogênicos. A microbiota normalmente presente constitui-se em bolores, leveduras, bactérias lácticas e outros microrganismos ácido tolerantes como bactérias acéticas, *Zymomonas* e algumas espécies de *Bacillus* (SIQUEIRA; BORGES, 1997).

Os bolores são importantes agentes fitopatogênicos, causando sensíveis perdas ou reduções nas produções de sucos e frutas. Em função de seu desenvolvimento nestes alimentos, podem comprometer de forma significativa a qualidade dos produtos derivados destas matérias-primas. A deterioração se faz perceptível apenas quando o crescimento de bolor for visível ou o alimento apresentar um número elevado de leveduras, sendo que a deterioração por leveduras costuma não ser prejudicial à saúde (FRANCO; LANDGRAF, 2003; SANTOS; RIBEIRO, 2006).

O mercado de polpas tem apresentado expressivo crescimento, com grande potencial mercadológico, especialmente pela variedade de frutas e sabores agradáveis. Porém, a grande variedade de sabores não contemplados na legislação, aliado ao crescimento do mercado informal, podem levar à comercialização de produtos sem uniformidade e sem controle sanitário adequado.

No comércio internacional de alimentos as exigências sanitárias dos países compradores também determinam os padrões. Para frutas e seus derivados, medidas sanitárias e fitossanitárias são acordadas entre países.

As boas práticas agrícolas são indispensáveis para a obtenção de uma matéria-prima de qualidade, principalmente do ponto de vista das contaminações por produtos químicos e de natureza microbiológica. As principais fontes de contaminação microbiológica são o uso inadequado de esterco não curtido na adubação, a água de irrigação contaminada e as mãos de manipuladores não adequadamente lavadas e limpas.

O uso de sistemas de garantia de qualidade que visam o equilíbrio dos ecossistemas e o uso racional dos recursos naturais contribui para a qualidade pós-colheita dos produtos. Ao contrário, os produtos serão expostos a doenças ou pragas no campo, deteriorando mais rapidamente na fase pós-colheita.

Medidas de controle preventivo como o cultivo protegido, a higiene no campo, com a remoção e destruição de material vegetal como folhas, ramos e frutos doentes e infectados, bem como espaçamento adequado e boa condução das árvores, adubação balanceada em nutrientes, reduzem o ataque de pragas e doenças e aplicações de agrotóxicos, aumentando a qualidade e o período de conservação pós-colheita dos mesmos.

A produção de alimentos com segurança exige cuidados especiais, para que se eliminem, quase na sua totalidade, os riscos de contaminação provocados por perigos físicos, químicos e biológicos a que esses alimentos estão sujeitos. Para atingir este objetivo, as indústrias de alimentos vêm redirecionando seus sistemas de gestão da qualidade para torná-los cada vez mais preventivos e menos corretivos.

Diante desta situação, o Sistema APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle), associado às Boas Práticas de Fabricação (BPF), tem-se revelado como ferramenta básica do sistema moderno de gestão da qualidade nas indústrias de bebidas, não só por garantir a segurança dos produtos, mas também por reduzir os

custos e aumentar a lucratividade, através da diminuição das perdas e do retrabalho. Além disso, estas ferramentas da qualidade aperfeiçoam processos e torna desnecessárias boa parte das análises laboratoriais realizadas no sistema de controle de qualidade tradicional, tornando o processo de controle transparente e confiável.

As Boas Práticas de Fabricação são um conjunto de princípios e regras para o correto manuseio de alimentos, abrangendo desde as matérias-primas até o produto final, de forma a garantir a segurança e a integridade do consumidor.

A adoção das Boas Práticas de Fabricação é requisito fundamental em um Programa de Segurança de Alimentos, e sua utilização como instrumento de fiscalização pela Vigilância Sanitária passou a ser regulamentada pela Portaria 1428 do Ministério da Saúde, publicada em 1993 e exigida a partir de 1994. As Portarias 326 (Ministério da Saúde) e 368 (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), possibilitaram a regulamentação e definiu a obrigatoriedade dos estabelecimentos industriais produtores de alimentos implantarem o Programa de Boas Práticas, como também definiram o escopo e a abrangência do programa. Várias outras Portarias e Regulamentos foram publicados posteriormente, possibilitando um aprimoramento das referências para os estabelecimentos iniciarem os seus trabalhos de implantação do Programa de Boas Práticas.

Independente da legislação específica, considerando a obrigatoriedade de implementação destes programas, as indústrias de alimentos e os serviços de alimentação que desejavam se manter competitivos no mercado nacional e mesmo internacional, proporcionando ao consumidor produtos com qualidade e segurança, iniciaram os trabalhos de implementação do Programa de Boas Práticas de Fabricação desde o início da década de 90.

A principal vantagem da adoção do Programa de Boas Práticas é a garantia de produtos de melhor qualidade e mais seguros, sendo o maior beneficiário a saúde pública. Além disso, as organizações que adotam as BPF podem obter maior lucro e uma imagem de respeito no mercado, além de proporcionarem um ambiente de

trabalho melhor, mais agradável, limpo e seguro, com funcionários com melhor estado psicológico, maior motivação e produtividade.

Assim, a fim de harmonizar as mais diferentes normas internacionais ligadas à segurança dos alimentos e, conseqüentemente, à qualidade dos alimentos, foi publicada em setembro de 2005 a ISO 22000 que especifica requisitos de gestão da segurança de alimentos. Além de estabelecer requisitos de gestão reconhecidos no mundo inteiro, a ISO 22000 aborda os conceitos de Boas Práticas de Fabricação, os princípios de APPCC e requisitos específicos de gestão alinhados com outras normas como a ISO 9001 (Sistema de Gestão da Qualidade) e ISO 14001 (Sistema de Gestão Ambiental), permitindo incorporá-la a um Sistema Integrado de Gestão.

O conceito de qualidade de frutas e hortaliças envolve vários atributos. Aparência visual (frescor, cor, defeitos e deterioração), textura (firmeza, resistência e integridade do tecido), sabor e aroma, valor nutricional e segurança do alimento fazem parte do conjunto de atributos que definem a qualidade.

O valor nutricional e a segurança do alimento do ponto de vista da qualidade microbiológica e da presença de contaminantes químicos ganham cada vez mais importância por estarem relacionados à saúde do consumidor, portanto, são decisivos enquanto critérios de compra por parte do consumidor asseguram a segurança alimentar.

“Segurança Alimentar e Nutricional é a garantia do direito de todos ao acesso a alimentos de qualidade, em quantidade suficiente e de modo permanente, com base em práticas alimentares saudáveis e respeitando as características culturais de cada povo, manifestadas no ato de se alimentar. Esta condição não pode comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, nem sequer o sistema alimentar futuro, devendo se realizar em bases sustentáveis. É responsabilidade dos estados nacionais assegurarem este direito e devem fazê-lo em obrigatória articulação com a sociedade civil, dentro das formas possíveis para exercê-lo”.

Os coliformes constituem um grupo de enterobactérias presentes nas fezes e no ambiente, como o solo e as superfícies de vegetais, animais e utensílios. Sua pesquisa

em alimentos é utilizada como indicador seguro das condições higiênicas do produto e ainda presença de enteropatógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2003; RODRIGUES *et al.*, 2003).

Diferentes microrganismos estão associados a enfermidades transmitidas por alimentos, dentre os quais se destacam os gêneros *Salmonella*, *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Shigella* e *Vibrio*. O gênero *Escherichia*, juntamente com os gêneros *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella* constituem o grupo denominados **coliformes**.

Apesar da diversidade e disponibilidade de produtos no mercado interno, sua comercialização está limitada, principalmente por serem altamente perecíveis e, geralmente, são manuseados sob condições ambientais que aceleram a perda de qualidade, e a otimização das condições, principalmente de logística, podem aumentar o custo substancialmente, tornando-se inviável a comercialização. Além das perdas quantitativas registradas na pós-colheita, as perdas qualitativas dos produtos poderão comprometer seu aproveitamento e rentabilidade.

Portanto, qualidade da fruta ou hortaliça está relacionada a fatores envolvidos nas fases pré-colheita e pós-colheita, ou seja, em fases da cadeia produtiva. Dentre eles, destacamos os problemas de manuseio, como danos mecânicos e exposição dos produtos em temperaturas elevadas prejudiciais a sua conservação, o uso indiscriminado de agrotóxicos, as contaminações microbiológicas dos produtos provenientes principalmente de fontes de contaminação no cultivo e da falta de higiene e sanitização no manuseio e processamento dos mesmos.

Diante do exposto, este capítulo teve como objetivos avaliar a qualidade de frutos e polpas de mangaba através de análises físico-químicas e microbiológicas de frutos e polpas, colhidos e produzidos com e sem Boas Práticas Campo, e, com e sem Boas Práticas de Fabricação, tomando como base a legislação brasileira.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado no Laboratório de Biologia e Pós-colheita do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, localizado em Areia – PB.

Os materiais analisados foram frutos de mangaba colhidos com e sem Boas Práticas Agrícolas (BPA), e, polpas de mangaba produzidas com e sem Boas Práticas de Fabricação (BPF). Os frutos foram colhidos em pomar comercial de produtores do Assentamento CAMOCIM, município de Pitimbu – PB, tendo como coordenadas geográficas, S 07° 26' 46'' e W 34° 49' 38''.

As polpas são oriundas dos frutos do pomar deste assentamento, e que são processadas no CIAF – Centro de Industrialização da Agricultura Familiar, pertencente ao MDA, Ministério do Desenvolvimento Agrário, localizada no distrito de Mata Redonda, município de Alhandra – PB.

A colheita foi realizada conforme metodologia descrita por Lima (2012), entre 6 e 8 horas da manhã, com CBP e sem SBP, Boas Práticas Agrícolas, priorizando-se frutos de toda extensão da copa no estágio de maturação utilizados para comercialização. A colheita CBP foi manual, utilizando-se de tesoura de corte sanitizada com solução de cloro a 200 µL.L⁻¹ na colheita de cada fruto, adotando-se cuidados no manuseio, tais como: roupas limpas, lavagem das mãos dos colhedores, utilização de luvas e máscaras descartáveis, e acondicionamento dos frutos em sacos de papel esterilizados em estufa a 70 °C por 24 horas.

Os frutos colhidos Sem Boas Práticas Agrícolas foram coletados do chão, na forma tradicional de coleta utilizado pelos extrativistas, sem nenhuma prática de higiene nestes frutos, acondicionados em sacos de papel também esterilizados, e, acomodados em recipiente refrigerado de isopor, e transportadas para o Laboratório de Biologia e Pós-colheita do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Areia - PB.

Os resultados correspondem à média de três períodos de avaliação, e em cada uma dessas, incluíram-se os procedimentos com e sem boas práticas. Para cada período de análise, para frutos **Sem Boas Práticas**, foram coletados três repetições de 3 kg de mangaba, fornecido por pessoal envolvido na cadeia produtiva da mangaba, utilizando-se os procedimentos usuais de coleta dos frutos. Para os frutos colhidos **Com Boas Práticas Agrícolas** foram adotados procedimentos de colheita conforme Lima et al. (2012), sendo colhidos três repetições de 3 kg.

No laboratório, os frutos foram selecionados quanto à maturação, tamanho, ausência de doenças e danos aparentes, e tiveram o pedúnculo cortado, com faca de aço inox sanificada. Os frutos foram lavados com água corrente para remoção de sujidades e látex e, para a redução da temperatura de campo, foram imersos em água destilada previamente fervida e resfriada a 10 °C, durante 30 minutos, e colocados a secar ao ar.

O processamento dos frutos foi feito Com e Sem as Boas Práticas de Fabricação, consistindo em processamento realizado utilizando-se todos os cuidados, prevenções e higiene, pasteurização, contidas nas regras de Boas Práticas de Fabricação. O processamento Sem Boas Práticas de Fabricação foi executado sem os cuidados preconizados no método anterior realizado, fazendo-se apenas a lavagem dos frutos.

Após o processamento, utilizando-se os dois métodos, com e sem Boas Práticas de Fabricação, as polpas das mangabas foram embaladas em sacos de 500g, depois congeladas e transportadas em recipiente apropriado (caixa de isopor) com gelo, para melhor conservação, até o Laboratório de Biologia e Pós-colheita do CCA da UFPB, localizado em Areia – PB, para as análises microbiológicas de frutos e polpas, conforme preconizado.

3.3. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

O material utilizado para as análises microbiológicas foram: frutos colhidos utilizando-se e não as Boas Práticas Agrícolas, e, polpas de frutos de mangabeiras processadas com e sem as Boas Práticas de Fabricação.

Os métodos utilizados foram realizados segundo descritos por Silva *et al*, 2007. Todo o preparo do material para análise foi feito segundo as recomendações dos métodos microbiológicos, com a esterilização de todos os utensílios e meios de cultura necessários para a manipulação das amostras. A manipulação, pesagem, diluições e inoculações foram feitas dentro de uma câmara asséptica de fluxo laminar.

Todas as vidrarias utilizadas como: pipeta, espátulas, alça de Drigalski, vidro relógio e béckeres, foram previamente esterilizados em autoclave a 121 °C por 30 minutos, conforme recomendações técnicas.

3.3.1. *Preparo de Diluições Seriadas*

As diluições seriadas das amostras foram realizadas em Água Peptonada Tamponada, seguindo-se as instruções dadas pelo fabricante, ou seja, 20 g do meio diluídos em 1000 ml de água destilada, seguido de homogeneização e autoclavagem.

No momento da análise, as amostras de polpas de frutas foram descongeladas a temperatura ambiente, procedendo-se a seguir com o preparo de diluições seriadas até 10^{-3} .

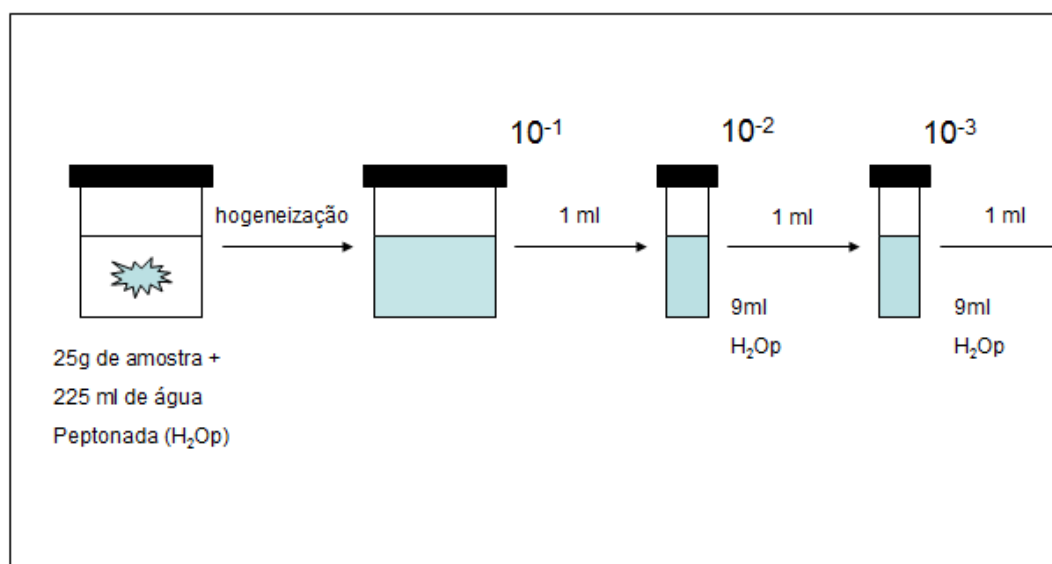


Fig 1. Esquema geral do preparo de diluições seriadas.

3.3.2. Análise de Bolores e Leveduras

Para a determinação de bolores e leveduras nas amostras de polpas de frutas, utilizou-se o meio Agar Batata Dextrose (BDA) seguindo-se as instruções dadas pelo fabricante, ou seja, 39 g do meio diluídos em 1000 ml de água destilada, seguido de homogeneização, com posterior autoclavagem.

O meio de cultura, após ser acidificado com ácido tartárico 10 % (1 ml de ácido para cada 100 ml de meio), foi vertido ($\pm$ 20 ml) em placas de petri estéreis.

Conforme metodologia descrita por Silva *et al.* (2007), utilizou-se o método de plaqueamento direto em profundidade das diluições seriadas (10⁻¹ até 10⁻³) previamente preparadas. Para tal, inoculou-se 0,1 ml de cada diluição na superfície do meio BDA solidificado nas placas de petri e, com auxílio de uma alça de Drigalski, espalhou-se o inóculo cuidadosamente em toda sua superfície, até completa absorção.

Após a incubação das placas em incubadoras do tipo B.O.D. (modelo CP 602, Solab) sob 25 °C por 5 dias, as colônias de bolores e leveduras foram contadas e os resultados foram expressos pelo número de Unidades Formadoras de Colônia por grama de amostra (UFC.g⁻¹).

A contagem foi feita utilizando-se o método de plaqueamento em superfície (spread plate). Para o preparo das diluições, 25 g da polpa foi diluída em 225 mL de água peptonada 0,1%, em seguida (diluição 1:10, ou 10⁻¹), em seguida 1mL da primeira diluição (10⁻¹) foi transferido para um tubo com 9 mL do mesmo diluente (diluição 10⁻²), repetindo-se o procedimento até a diluição 10⁻³. A inoculação foi realizada transferindo-se 0,1mL de cada diluição para a superfície das placas de Petri previamente preparadas com o meio de cultura Ágar Batata Dextrose Acidificado, espalhando-se o inóculo com uma alça de Drigalski até que o excesso de líquido seja absorvido. Sem inverter as placas, incubou-se a 25°C durante 5 dias.

As etapas deste processo podem ser visualizadas na Figura 2.

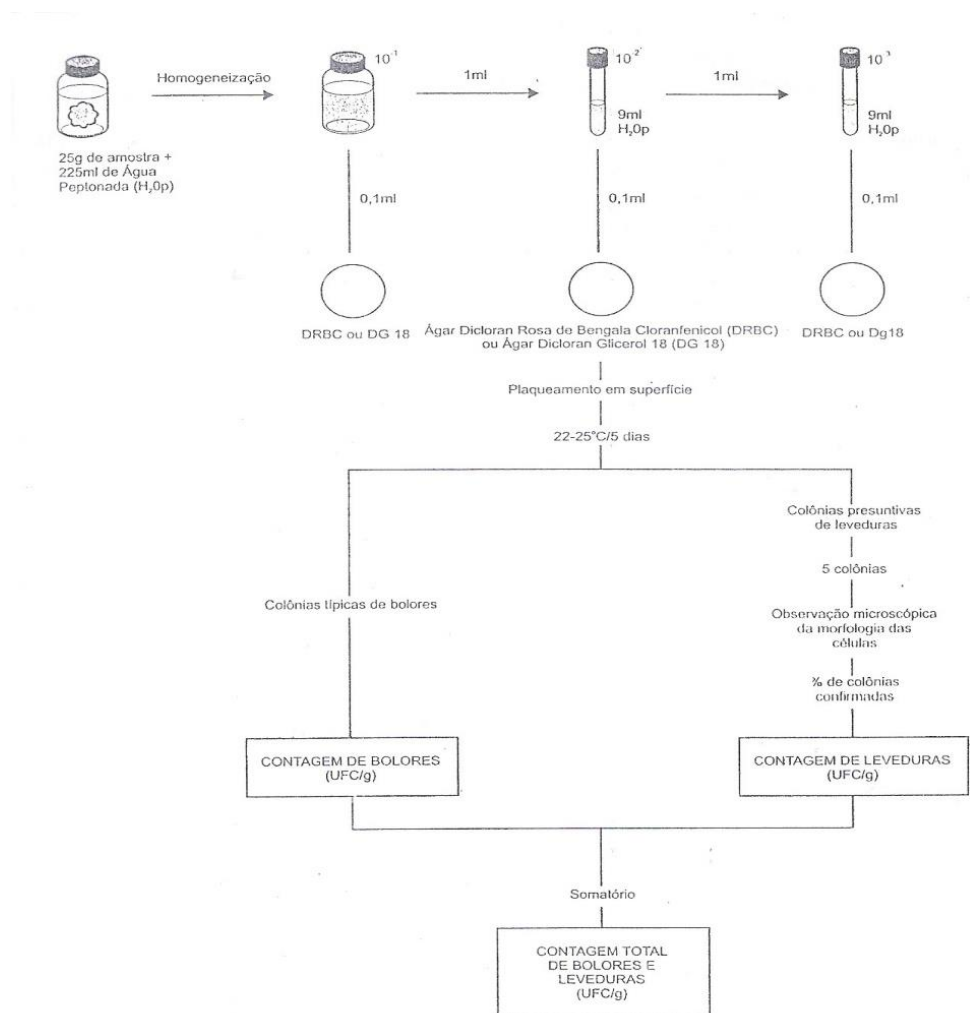


Fig. 2 Esquema geral de análise para contagem de bolores e leveduras em placas (Beuchat & Cousin, 2001).

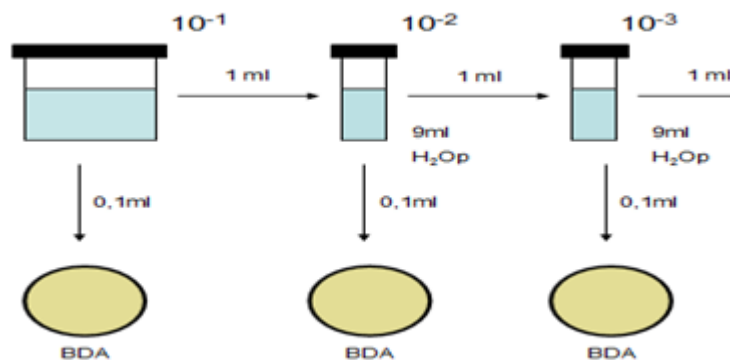


Figura 3. Inoculação das diluições seriadas em placas de petri com meio de cultura BDA.

A contagem das colônias e cálculo dos resultados foi feita selecionando-se placas com número entre 15 e 150 colônias, com o auxílio de uma lupa, em um contador de colônias. O número de unidades formadoras de colônias (UFC) por grama da amostra foi calculado através do somatório do número total de bolores e leveduras, multiplicando-se por dez, o número de colônias, e pelo inverso da diluição inoculada, usando-se notação exponencial e apenas uma casa decimal depois da vírgula, na apresentação dos resultados.

3.3.3. *Análise de Aeróbios Mesófilos*

O método clássico de contagem total de aeróbios mesófilos em alimentos é a contagem padrão em placas. O meio de cultivo recomendado e utilizado foi o Ágar Padrão para contagem (PCA), incubado a $35 \pm 1^{\circ}/48 \pm 2h$.

A contagem foi feita utilizando-se o método de plaqueamento em profundidade (pour plate). Para o preparo das diluições, 25 g da polpa foi diluída em 225 mL de água peptonada 0,1%, em seguida (diluição 1:10, ou 10^{-1}), em seguida 1mL da primeira

diluição (10^{-1}) foi transferido para um tubo com 9 mL do mesmo diluente (diluição 10^{-2}), repetindo-se o procedimento até a diluição 10^{-3} .

A inoculação foi realizada transferindo-se 1mL de cada diluição para placas de Petri separadas, estéreis e vazias. Em seguida foi realizado a adição de cerca de 15 mL do meio de cultura (PCA- Ágar Padrão para Contagem) previamente fundido e resfriado à temperatura de aproximadamente 45°C nas placas de Petri, misturando-se o meio com o inóculo, movimentando suavemente as placas em superfície plana em movimentos circulares para a homogeneização. Aguardou-se a completa solidificação do meio de cultura, inverteram-se as placas e incubou-se a 35°C durante 48 horas.

A contagem das colônias e cálculo dos resultados foi feita selecionando-se placas com número entre 25 e 250 colônias, com o auxílio de uma lupa, em um contador de colônias. O número de unidades formadoras de colônias (UFC) por grama da amostra foi calculado multiplicando-se o número de colônias pelo inverso da diluição inoculada, usando-se notação exponencial e apenas uma casa decimal depois da vírgula, na apresentação dos resultados. O esquema geral de análise para contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos em placas encontra-se descrito na **fig. 4**, onde se procedeu da seguinte forma:

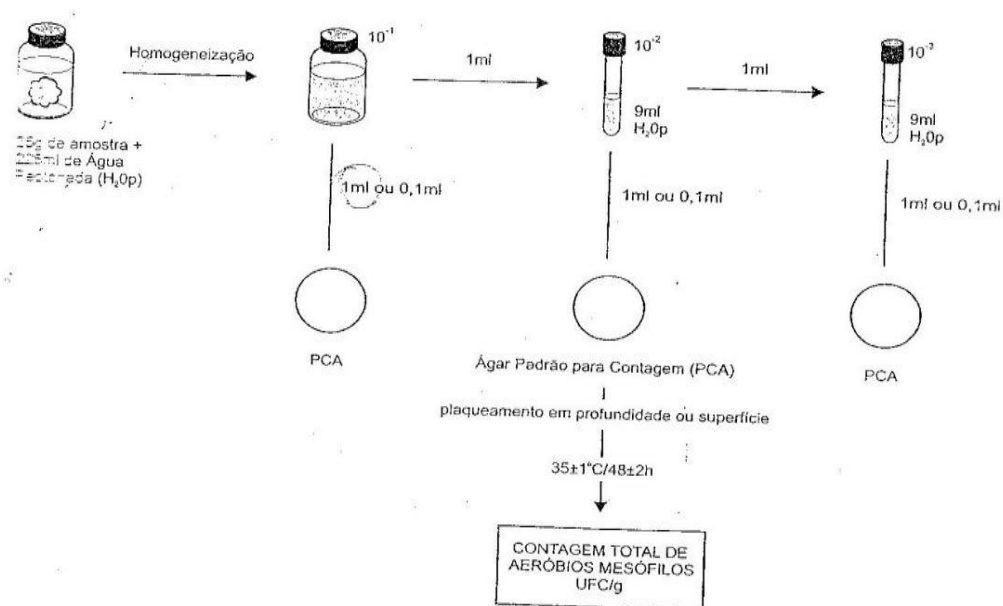


Fig. 4. Esquema geral de análise para contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos em placas (MORTON, 2001).

3.3.4. Análise de Coliformes Totais e Termotolerantes

A contagem dos coliformes totais e tolerantes foi feita utilizando-se o método do Número Mais Provável (NMP).

Para o preparo das diluições, 25 g da polpa foi diluída em 225 mL de água peptonada 0,1%, em seguida (diluição 1:10, ou 10^{-1}), em seguida 1mL da primeira diluição (10^{-1}) foi transferido para um tubo com 9 mL do mesmo diluente (diluição 10^{-2}), repetindo-se o procedimento até a diluição 10^{-3} .

A contagem através do NMP inclui as seguintes etapas:

1º) Teste presuntivo, em que três alíquotas de 1 mL de três diluições de amostra são inoculadas em uma série de três tubos de Caldo Lauril Sulfato Triptose

(LST) por diluição. O LST contém lactose e a observação do crescimento de gás a partir da lactose, após 24-48h de incubação a 35° C é considerada suspeita (presuntiva) da presença de coliformes.

Em caso positivo, passa-se para a etapa subsequente, em caso negativo, já é considerado que não há coliformes totais e termotolerantes.

2°) Para a confirmação dos coliformes termotolerantes, uma alçada de cada tubo suspeito é transferida para tubos de Caldo Verde Brilhante Bile 2% (VB) e Caldo *E. coli* (EC), meios seletivos que contém lactose. A observação de crescimento com produção de gás nos tubos de VB, após 24-48 h de incubação a 35°C, é considerada confirmativa da presença de coliformes totais.

Crescimento com produção de gás nos tubos de EC, após 24 h de incubação a 45°C, e considerada confirmativa da presença de coliformes termotolerantes.

Os cálculos dos resultados em séries múltiplas de três tubos inoculados com alíquotas de 0,1 - 0,01 e 0,001g de amostra, são calculados segundo a orientação prevista por Silva et al., (2007).

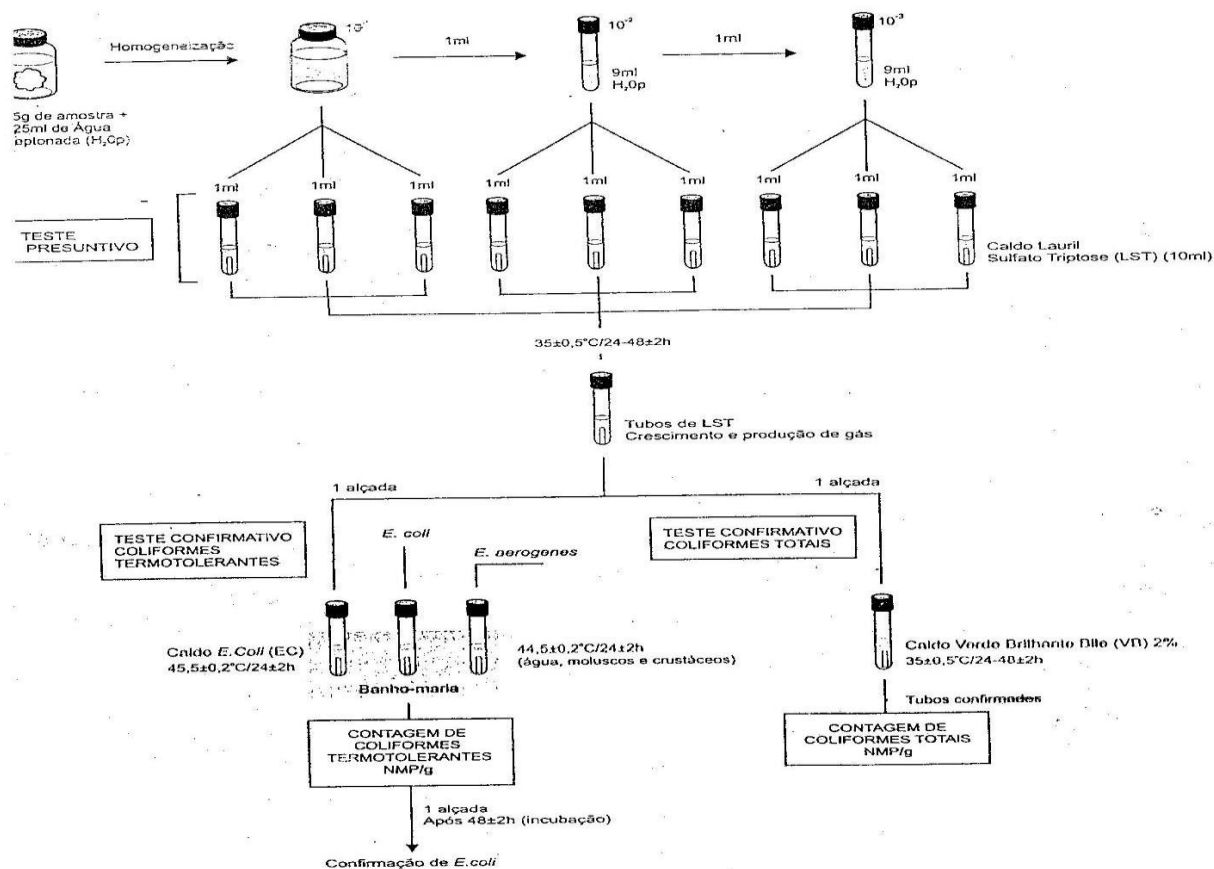


Figura. 5. Esquema geral de análise para coliformes totais e termotolerantes e confirmação de *E. coli*.

3.3.5. Análise para *Staphylococcus aureus*

A contagem foi feita utilizando-se o método de plaqueamento em superfície (spread plate). Para o preparo das diluições, 25 g da polpa foi diluída em 225 mL de água peptonada 0,1%, em seguida (diluição 1:10, ou 10^{-1}), em seguida 1mL da

primeira diluição (10^{-1}) foi transferido para um tubo com 9 mL do mesmo diluente (diluição 10^{-2}), repetindo-se o procedimento até a diluição 10^{-3} .

A inoculação foi realizada transferindo-se 0,1mL de cada diluição para a superfície das placas de Petri previamente preparadas com o meio de cultura Ágar Baird Parker, espalhando-se o inóculo com uma alça de Drigalski até que o excesso de líquido seja absorvido. Inverteram-se as placas e incubou-se à 35°C durante 48 horas.

A contagem das colônias e cálculo dos resultados foi feita selecionando-se placas com número entre 20 e 200 colônias, com o auxílio de uma lupa, em um contador de colônias.

O número de unidades formadoras de colônias (UFC) por grama da amostra foi calculado através da contagem somente das colônias típicas de *Staphylococcus aureus*, que são circulares, pretas ou cinzas escuras, multiplicando-se por dez o número de colônias, e pelo inverso da diluição inoculada, usando-se notação exponencial e apenas uma casa decimal depois da vírgula, na apresentação dos resultados.

3.3.6. Análise para *Salmonella*

O método utilizado para análise de presença/ausência de *Salmonella* descrito por Silva et al., 2007 foi o método BAM/FDA (2006).

Para um pré-enriquecimento, 25 g da amostra foi transferida para 225 mL de Caldo Lactosado, fazendo-se uma diluição 1:10, incubou-se à 35°C durante 24 h. Após o período de pré-enriquecimento, foi feito o enriquecimento seletivo, transferido-se 0,1 mL de caldo com a amostra para 10 mL do Caldo Rappaport-Vassilidis Modificado (RV), incubando-se a 42°C, e 1 mL para 10 mL de Caldo Tetrationato (TT), incubando-se a 35°C durante 24 h. Para o plaqueamento diferencial, agitou-se os tubos de enriquecimento seletivo e estriou-se uma alçada do caldo TT em placas de Ágar Entérico Hectoen (HE), Ágar Bismuto Sulfito (BS) e Ágar Xilose Lisina (XLD).

Repetiu-se este procedimento com o caldo RV e incubaram-se as placas invertidas a 35°C durante 48 horas.

Após a identificação das colônias típicas em cada meio de cultura do plaqueamento diferencial, selecionaram-se duas de cada placa, para confirmação preliminar, e, na ausência de colônias típicas selecionaram-se as atípicas.

Com o auxílio de uma agulha de inoculação, tocou-se levemente a massa das células, no centro da colônia e inocular em um tubo inclinado de Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI), por estrias na rampa e picadas no fundo da placa. Com o mesmo inóculo, sem flambar a agulha, inoculou-se a cultura em um tubo de Ágar Lisina Ferro (LIA), com duas picadas no fundo e estrias na rampa, incubou-se os tubos a 35°C, durante 24 hs.

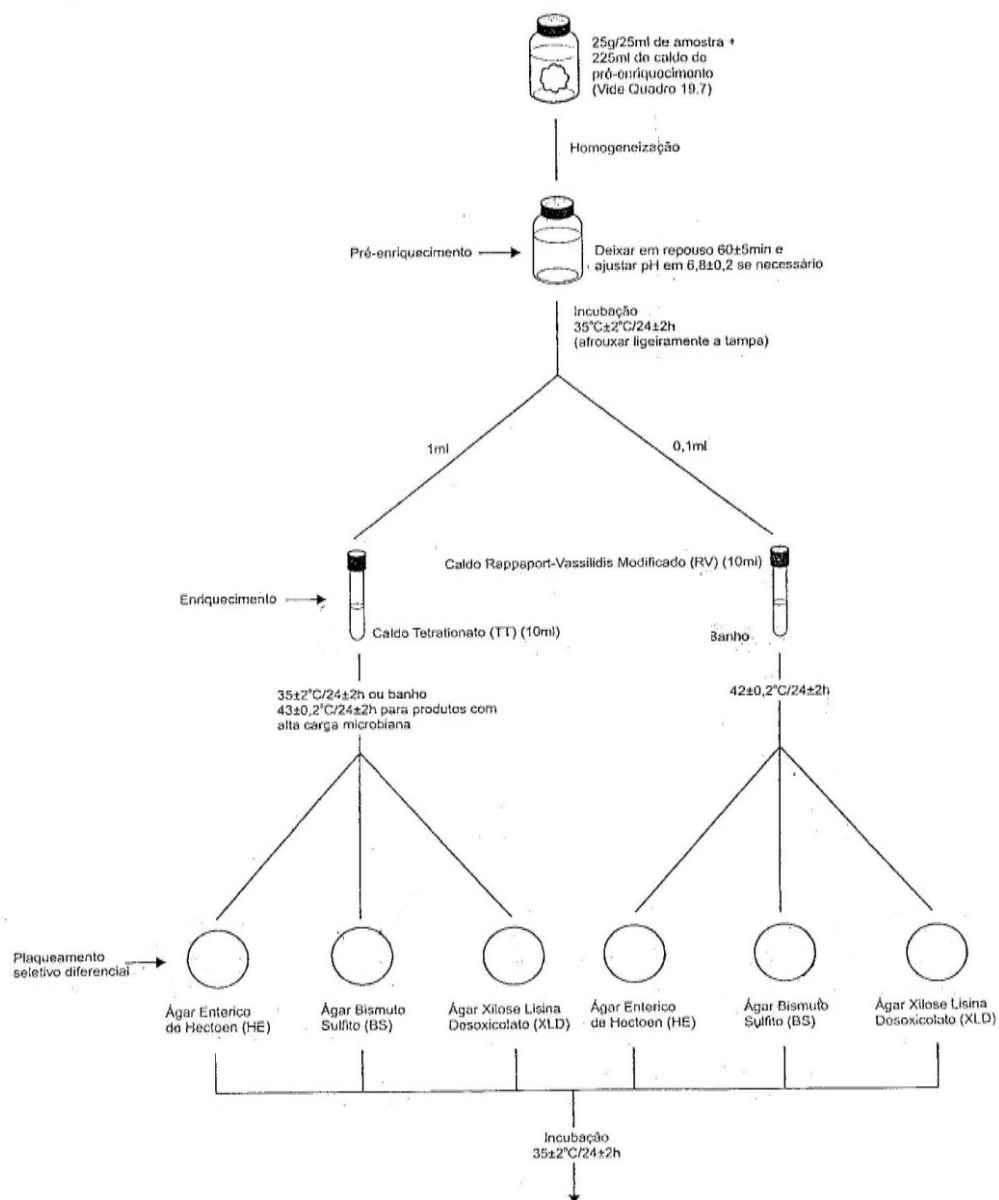


Figura 6. Esquema da análise de Salmonella pelo método BAM/FDA (2006).

3.4. ANÁLISE QUÍMICA DE FRUTOS E POLPAS DE MANGABA

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS

A análise de caracterização química de frutos e polpas de mangaba foi realizada em triplicata, para após, obter-se a média dos valores encontrados.

pH

O potencial hidrogeniônico (pH) foi medido diretamente na polpa, e, também dos frutos, utilizando-se um potenciômetro (Mettler DL 12) com membrana de vidro, conforme AOAC (1992), aferido com tampões de pH 7 e 4.

Acidez Total Titulável – ATT

Obteve-se a acidez total titulável diluindo-se um 1 g de polpa em 50 mL de água destilada em um titulador potenciométrico (Mettler DL 12) até pH 8,1 com solução de NaOH (0,1 N) e expressa em percentagem de ácido cítrico, segundo metodologia do IAL (1985).

Sólidos Solúveis Totais - SST

Em conformidade com a metodologia recomendada pela AOAC (1992), depois da filtração da polpa em papel de filtro, realizou-se a leitura (°Brix) em um refratômetro digital de marca (Atago PR-101) com escala variando de 0 a 45 °Brix.

Relação SST / ATT

Obtido pelo quociente entre as análises de Sólidos solúveis totais e Acidez total titulável.

3.5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para essas análises, tomou-se como referência a legislação vigente, a RDC N° 12 de 02 de janeiro de 2001 (ANVISA, 2001), e também, do Ministério da Agricultura, a Instrução Normativa n° 1, de 07 de janeiro de 2000 (BRASIL, 2000).

Reconhece-se que, alterações microbiológicas são indesejáveis em todo e qualquer tipo de alimento, bem como, a presença de patógenos e micro-organismos indicadores, provenientes de más condições higiênico-sanitárias, quer seja na colheita, manuseio, no processamento ou armazenamento.

A utilização das Boas Práticas de Fabricação e Boas Práticas de campo, inevitavelmente são ferramentas indispensáveis a manutenção dos padrões microbiológicos e de qualidade, que é um apelo da sociedade, e, também, garante a competitividade e sustentação do produto nos mercados interno e externo.

Tabela 1. Resultados das análises microbiológicas de polpa de mangaba

Contagem Microbiana	Polpa		Padrão Microbiológico e Físico-Químico para polpa
	CBP	SBP	
Mesófilos aeróbios (UFC.g ⁻¹)	3x10 ¹	1,88x10 ⁴	Indefinido
Bolores e leveduras (UFC.g ⁻¹)	2,1x 10 ¹	6,95 x10 ³	<2,0x10³(tratada termicamente) e 5x10³ (não tratada termicamente)
Coliformes a 30°C (NMP.g ⁻¹)	<0,3	<2x10 ³	Indefinido
Coliformes a 45°C (NMP.g ⁻¹)	<0,3	<0,3	<1
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC.g ⁻¹)	0	0	<10³
<i>Salmonella</i> (ausência em 25 g de polpa)	-	-	ausência em 25 g de polpa

Tabela 2. Resultados das análises microbiológicas de frutos de mangabeiras

Contagem Microbiana	Fruto		Padrão Microbiológico e Físico-Químico para fruto
	CBP	SBP	
Mesófilos aeróbios (UFC.g ⁻¹)	0	1,6x10 ³	Indefinido
Bolores e leveduras (UFC.g ⁻¹)	8x10 ¹	2,3x10 ³	<2,0x10³
Coliformes a 30°C (NMP.g ⁻¹)	<0,3	3 x 10 ³	Indefinido
Coliformes a 45°C (NMP.g ⁻¹)	<0,3	<0,3	<1
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC.g ⁻¹)	0	3,0x 10 ³	<10³
<i>Salmonella</i> (ausência em 25 g de polpa)	-	-	-

3.5.1. Contagem de Bolores e Leveduras

A contagem das unidades formadoras de colônias de bolores e leveduras obtidas, após a análise das amostras de frutos e polpas de frutos de mangabeiras congeladas estão demonstradas nas Tabelas 1 e 2, na qual, também, são apresentados os resultados das análises microbiológica especificadas nos resultados laboratoriais das referidas amostras.

Análise de Bolores e Leveduras em Polpas

Verificando os resultados das análises para bolores e leveduras que constam na Tabela 1, é possível observar que as amostras de polpa de mangaba continham a

presença destes micro-organismos nas duas formas de processamento, com e sem boas práticas de fabricação.

Observando-se a mesma tabela, verifica-se que o aparecimento de bolores e leveduras nas polpas de mangaba analisadas, tem significativas diferenças nos resultados em relação aos sistemas utilizados, o que pode ser atribuída aos efeitos da utilização das boas práticas de fabricação, que minimiza as contaminações microbiológicas, assim como, também prima pela boa qualidade da matéria-prima empregada na fabricação do produto, através das boas práticas agrícolas, que também previne o aumento das contaminações ao longo da cadeia de manipulação que pode ter efeito multiplicador, assim como a destruição de microrganismos promovida pela pasteurização, resfriamento e congelamento subsequentes.

As agroindústrias deverão escolher qualquer uma das duas legislações para seguir, esta escolha deverá ser em função do padrão de qualidade do produto que será oferecido ao seu consumidor.

Lima et al. (2001) investigaram a qualidade microbiológica de 43 amostras comerciais de polpas congeladas de diversos tipos de frutas, constatando que 25,5% delas apresentaram-se em desacordo com os padrões legais vigentes.

Santos et al. (2004) realizaram uma análise qualitativa de polpa congelada de cupuaçu e obtiveram contagens de bolores e leveduras inferiores a 10 UFC.g⁻¹, coliformes a 30 e 45 °C inferiores a 0,3 NMP.g⁻¹ e ausência de *Salmonella* em 25 g de polpa. Os resultados obtidos pelos autores atenderam aos padrões legais estabelecidos pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento.

As polpas de frutas concentradas ou não, com ou sem tratamento térmico, refrigeradas ou congeladas, possuem parâmetros somente para coliformes a 45 °C e para *Salmonella ssp.*, com no máximo 10² UFC.g⁻¹ e ausência em 25 g, respectivamente, não apresentando assim, limite para a contagem padrão total e para bolores e leveduras. Contudo, a literatura reporta resultados de numerosos estudos que apresentam elevadas contagens destes micro-organismos, demonstrando ser discutível

a não adoção destes critérios na avaliação da qualidade de sucos, refrescos, néctares e polpas de frutas na Resolução RDC 12 de 02 de Janeiro de 2001 da ANVISA (SEBASTIANY *et al.*, 2009).

A aplicação de tratamentos mais severos, através do aumento do tempo e da temperatura aplicados aos alimentos, é necessária para inativar os fungos resistentes ao calor. Entretanto, este tratamento resulta em alterações indesejáveis, o que inclui escurecimento e desenvolvimento de sabores e odores impróprios, além de perdas nutricionais. Estas alterações tornam a aplicação de tratamentos térmicos mais severos inviável em produtos à base de frutas (WELKE *et al.*, 2009).

A maioria dos alimentos é conservada pela utilização de métodos combinados, sendo que nas polpas de frutas os métodos mais utilizados são a pasteurização e o congelamento. Os métodos de conservação devem ser aplicados aos alimentos ajustando-se os parâmetros (tempo, temperatura) corretamente, pois falhas nestas etapas afetam a qualidade do produto, bem como sua vida útil pode ser reduzida (WELKE ET al., 2009)..

A pasteurização é o tratamento mais utilizado para reduzir a contaminação microbiana e, conseqüentemente, garantir a segurança dos alimentos. Este tratamento térmico é capaz de inativar a maioria dos micro-organismos acidofílicos, mas é ineficiente para a inativação de fungos termorresistentes.

Portanto, os resultados apresentados nesta análise estão de acordo com a legislação brasileira vigente (BRASIL, 2001).

Em trabalho desenvolvido por Beuchat (1981) foi determinada a porcentagem de redução de células viáveis resultante de tratamento térmico durante 20 minutos, e com temperaturas que variaram de 45 a 53^o C, onde obteve-se reduções que oscilaram de 50 a 98%.

De acordo com os resultados apresentados, evidenciam-se ainda mais a importância das Boas práticas de fabricação, que trata com rigor e bastante critério de higiene e sanitização dos frutos, desde a entrada destes na agroindústria, onde se faz

necessário uma criteriosa lavagem, empregando-se todos os métodos de higienização para que se obtenha uma matéria-prima de qualidade, e que, estes, venham resultar num produto de excelência e com alto valor biológico.

A limpeza criteriosa das máquinas e equipamentos, também é de fundamental importância não só na higiene da unidade de produção, mas, também, na qualidade do produto final.

Análise de Bolores e Leveduras em frutos

Também se observando os resultados das análises para bolores e leveduras, com relação aos frutos colhidos com e sem boas práticas de campo (Tabela 2), verifica-se que, houve contaminação nas duas formas de colheita e práticas culturais, com e sem boas práticas de campo (8×10^1 UFC g^{-1} e $2,3 \times 10^3$ UFC. g^{-1} , respectivamente). Tal fato pode-se atribuir à exposição dos frutos no campo onde, apesar de que, em uma das colheitas se ter utilizado as boas práticas de campo, estas não foram suficientes para impedir este tipo de contaminação. Também, existe a possibilidade de ter havido contaminação no laboratório durante o manuseio, e execução das análises.

Baixas contagens de bolores e leveduras são normais em alimentos *in natura* e congelados, não sendo, portanto, significativas. Somente quando o crescimento de bolor for visível ou o alimento apresentar um número elevado de leveduras, o consumidor será capaz de reconhecer a deterioração, mesmo assim, esta deterioração por leveduras não é prejudicial à saúde, porque o crescimento de bolores e leveduras é mais lento do que o de bactérias em alimentos apresentando alto valor de atividade de água (FRANCO; LANDGRAF, 2005; JAY, 2005).

Algumas medidas podem ser aplicadas para minimizar a contaminação das frutas com fungos e/ou micotoxinas termorresistentes. Durante a colheita, deve-se evitar o contato das frutas com o solo, onde os esporos fúngicos estão presentes. Antes

do processamento, as etapas de lavagem com sanitizantes à base de cloro e a separação das frutas com deterioração visível contribuem significativamente na redução da contaminação no produto final (HASAN, 2000 *apud* WELKE *et al.*, 2009)

3.5.2. *Contagem de Bactérias Aeróbias Mesófilas*

Apesar da importância desta análise, em nenhuma das legislações brasileiras, ANVISA (2001) e MAPA (2000), as quais definem padrões microbiológicos para polpa de frutas, possuem limites determinados e específicos para a contagem total de aeróbios mesófilos.

Os resultados das análises para contagem de aeróbios mesófilos em polpas de mangaba e frutos de mangabeira estão nas **Tabelas 1e 2**.

Conforme a Tabela 2 observa-se os valores encontrados em polpas de mangaba, com e sem Boas Práticas de Fabricação (3×10^1 e $1,88 \times 10^4$ UFC. g⁻¹, (respectivamente), de aeróbios mesófilos diferenciaram-se entre si. Analisando-se estes valores de forma quantitativa, percebe-se que, a utilização de boas práticas no processamento da polpa proporcionou uma diminuição alta em termos percentuais de contaminação por aeróbios mesófilos, quando comparado a não utilização das Boas Práticas.

Feitosa *et al.* (2006) analisaram 43 amostras de polpa de frutas (acerola, cajá e caju) congeladas e observaram que a contagem padrão de bactérias mesófilas das polpas apresentou uma grande variação nos resultados, oscilando de < 10 UFC.g⁻¹ a $7,2 \times 10^4$ UFC.g⁻¹. Os autores concluíram que as amostras apresentam-se em condições higiênicas insatisfatórias.

Estudos conduzidos por Monteiro *et al.* (2005) avaliaram a qualidade de polpa de maracujá pasteurizada em três faixas de temperatura (69-72 °C, 73-76 °C e 77-82 °C) durante 30 segundos e observaram que as polpas apresentaram comportamento semelhante quanto ao crescimento de micro-organismos mesófilos aeróbios, independente do tratamento térmico, com contagem média de $5,0 \times 10^2$ UFC.g⁻¹.

Lima (2010) avaliou a qualidade de polpa de acerola orgânica antes e depois de pasteurizada, e, encontrou resultados para aeróbios mesófilos de $4,6 \times 10^2$ e $3,8 \times 10^1$ UFC. g⁻¹, respectivamente, concluindo que o processo de pasteurização foi eficiente.

A contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos encontrados em um alimento tem sido um dos indicadores microbiológicos e de qualidade dos alimentos mais comumente utilizados, indicando se a limpeza, a desinfecção e o controle da temperatura durante o processo de tratamento industrial, transporte e armazenamento foram realizados de forma adequada. A significativa diferença entre o número de aeróbios mesófilos em relação às duas práticas utilizadas demonstra claramente os efeitos e a eficácia das Boas Práticas de Fabricação na agroindústria, fato este que ratifica a necessidade da sua utilização.

Analizando-se também frutos de mangabeira colhidos com e sem Boas práticas de campo, observa-se na Tabela 2 que, os frutos colhidos utilizando-se as BPC, não houve valores de contaminação, enquanto que, os frutos colhidos Sem Boas Práticas de campo apresentaram $1,6 \times 10^3$ UFC. g⁻¹. Analisando-se estes valores de forma quantitativa, percebe-se que, a utilização de boas práticas no processamento da polpa proporcionou uma eliminação de 100% de contaminação por aeróbios mesófilos quando comparado a não utilização das boas práticas. Este fato torna mais evidente a necessidade da conscientização de produtores e da agroindústria com relação as práticas culturais em apreço.

Embora não existam na legislação padrões para bactérias mesófilas totais e coliformes totais, de forma geral, é preconizado que alimentos contendo contagens microbianas da ordem de $10^5 - 10^6$ UFC.g⁻¹, estes são impróprios para o consumo

humano devido à perda do valor nutricional, alterações sensoriais, riscos de deterioração e/ou presença de patógenos.

As frutas frescas chegam à indústria alimentícia com uma contagem total em sua superfície entre 10^4 a 10^6 UFC. g^{-1} do produto, porém, a contagem pode ser ainda maior se os frutos não forem manipulados de maneira adequada (PAO & BROWN, 1998 *apud* CARVALHO, 2006).

Há de se presumir que, o teor de umidade ideal, a composição química e nutricional das polpas de frutas, contribui significativamente para o aparecimento e ataque das bactérias, pelo fato de ser o ambiente ótimo para sua proliferação. Portanto, não se constatou presença desses patógenos nos frutos colhidos com Boas Práticas agrícolas, ou seja, colhidos diretamente nas plantas. No caso dos frutos colhidos Sem as Boas Práticas, estes foram coletados diretamente no solo, onde existem umidade e cobertura morta, formando um microclima, e, com isto, uma provável presença de microrganismos, conforme se apresenta na Tabela 2.

3.5.3. Análise de Coliformes Totais e Termotolerantes

O teste de coliformes totais identifica todas as bactérias coliformes que ocorrem naturalmente no ambiente, sendo que a maioria é considerada inofensiva, no entanto, algumas das bactérias são nocivas e indicam contaminação fecal.

Os resultados das análises para coliformes totais (30°C) em polpas de mangaba e frutos de mangabeira estão na Tabela 1.

A Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001) não estabelece padrões microbiológicos para coliformes totais para polpa de frutos. Para uma interpretação mais coerente dos resultados obtidos neste estudo, baseou-se nos padrões

microbiológicos estabelecidos para polpas de frutas a 45° C (termotolerantes), onde a tolerância para a amostra indicativa é de <1 (BRASIL, 2001).

Apesar da falta de regras definidas para estas análises, e, tomando-se como base os padrões estabelecidos para coliformes termotolerantes (45° C), os valores apresentados indicam que as polpas fabricadas nesta unidade de processamento estão com bom padrão microbiológico, demonstrando que, mesmo as polpas que não foram preparadas dentro das recomendações de uso das Boas Práticas de Fabricação, estas, se encontram em boas condições de consumo, o que demonstra boas práticas de higiene, uma manipulação correta durante o processamento dos frutos, higienização nas máquinas e equipamentos, assim como, nas instalações do processamento. (tabela 3.)

Dantas et al. (2012) estudando as qualidades microbiológicas de polpas de frutas de quatro (04) fabricantes diferentes, para Coliformes a 35°C, foram encontrados nas marcas, B, C e D, valores que variaram de 3,6 NMP/g (marca B) e 3 a 3,6 NMP/g (marca C) até, 3 NMP/g (marca D), evidenciando que não estão sendo satisfeitas as condições de higiene e sanitização dentro dos padrões requeridos ao processamento de alimentos.

De acordo com Kiehl (2004) a média das amostras coletadas deve conter menos de 10 NMP g⁻¹ de sólido, não mais que 20 % podem exceder a 1000 NMP g⁻¹ e nenhuma amostra deve exceder a 10⁴ NMP g⁻¹ de sólido.

Contaminação por coliformes totais e termotolerantes em polpa de maracujá também foi encontrada por Leite et al. (2000) e Lima et al. (2001), estando, provavelmente, associada à manipulação inadequada durante o processamento da matéria-prima, ou à contaminação de equipamentos.

A presença de coliformes nos alimentos é de grande importância para a indicação de contaminação durante o processo de fabricação ou mesmo no pós-processamento.

Analisando-se a Tabela 2, observa-se que os valores encontrados nas análises para coliformes totais em frutos colhidos Com e Sem Boas Práticas de Campo,

apresentaram resultados bastante diferentes em valores numéricos (CBP = $<0,3$ SBP = 3×10^3) refletindo os níveis de contaminação microbiológica para cada situação.

Mubiru et al. (2000) relataram que em solo úmido a 25 °C coliformes fecais sobreviveram por oito semanas, e sob temperaturas variando entre 6,5 e 19,6 °C, puderam ser detectados por até noventa e nove dias.

Segundo Franco et al. (2007), os micro-organismos indicadores são grupos ou espécies que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação fecal, sobre a provável presença de patógenos, ou sobre a deterioração potencial de um alimento, além de poder indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento.

Como a atual Legislação Brasileira não estabelece limite para coliformes totais em nenhum tipo de alimento, a classificação em satisfatório/insatisfatório para este indicador foi realizada com base no padrão utilizado para coliformes fecais ou termotolerantes, que é permitido em até 10^2 UFC.mL⁻¹ o limite máximo recomendado para este tipo de alimento.

Presume-se que os valores encontrados nas análises dos frutos colhidos sem as Boas práticas de campo, coletados no solo, em condições ideais de contaminação microbiana, justificam os valores exibidos na tabela 2, diferentemente dos frutos colhidos com Boas Práticas, o que reforça ainda mais a necessidade da conscientização do uso destas práticas, quando trabalhos de difusão destas tecnologias deveriam ser mais efetivos em toda cadeia produtiva, junto à população, de forma que, aumentassem ainda mais as exigências do consumidor que clama por produtos de qualidade e, também que esta difusão iniciasse desde o produtor até o consumidor, que é o grande beneficiário.

Os resultados das análises para coliformes termotolerantes (45⁰) em polpas de manga e frutos de mangabeira estão expostos nas Tabelas 1 e 2.

Coliformes Termotolerantes em Polpas

Na contagem de coliformes podem-se diferenciar dois grupos: os coliformes totais, utilizados para avaliar as condições higiênicas, limpeza e sanificação, e os coliformes termotolerantes, que são indicadores de contaminação fecal (SIQUEIRA, 1995)

Os resultados encontrados na Tabela 1, ($<0,3$) para coliformes termotolerantes em polpa de frutos de mangabeira, nos dois sistemas utilizados (CBP e SBP), estão de acordo com as recomendações da Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001), que estabelece padrões microbiológicos para polpas de frutas a 45° C (termotolerantes), onde a tolerância para a amostra indicativa é de <1 (BRASIL, 2001).

Contaminação por coliformes totais e termotolerantes em polpa de maracujá também foi encontrada por Leite et al. (2000) e Lima et al. (2001), estando, provavelmente, associada à manipulação inadequada durante o processamento da matéria-prima, ou à contaminação de equipamentos.

De acordo com os resultados da tabela 1, as polpas de mangaba processadas apresentaram ótimo padrão microbiológico, tendo-se como uma consequência dos resultados obtidos dos frutos, onde estes se apresentaram, também, dentro dos padrões recomendados, tudo isso associado às boas condições de higiene por parte dos manipuladores, das máquinas em bom estado de higiene, e, do próprio ambiente de processamento.

Da mesma forma, os resultados da análise para coliformes termotolerantes nos frutos colhidos com e sem boas práticas de campo, também se apresentaram nos padrões microbiológicos recomendados pela RDC nº12, de 02-01-2001(ANVISA, 2001) para frutos, que determina o limite de $<5 \times 10^2$, o que demonstra a boa qualidade da matéria prima na sua origem, proporcionado por ambiente livre de contaminação,

mesmo tendo sido colhido sem o uso das Boas práticas de campo, mostrando-se em condições higiênicas ideais para fabricação de polpas de mangaba.

Castelli et al., (2011) realizando análise higiênico sanitária em frutos e hortaliças, em doze amostras, onde foram isolados coliformes totais em todas as amostras, com valores máximo de 3×10^3 NMP.g-1. Porém, não foi confirmada a presença de coliformes termotolerantes (45°), estando, portanto, dentro dos padrões estabelecidos pela legislação (ANVISA, 2001), que estabelece limite de 10^2 NMP.g-1 para hortaliças, 5×10^2 NMP.g-1 para frutas e 10^3 NMP.g-1 para raízes, tubérculos e similares.

Também realizando análises microbiológicas em hortaliças, Bruno et al. (2005) encontraram 53,3% das amostras de hortaliças com contaminação superiores a 10^3 NMP.g-1, e destas, 13,3% das amostras apresentaram contagem de coliformes termotolerantes acima do padrão recomendado pela legislação vigente.

De forma semelhante, Pinheiro et al. (2005) encontraram 28% das amostras de frutos minimamente processados, contaminados por coliformes termotolerantes com valores superiores a $5,0 \times 10^2$ NMP.g-1.

O bom desempenho dos números encontrados atribui-se as boas condições dos ambientes do sistema de produção de frutos, assim como, ao local onde este é processado, ou seja, pode-se considerar que, ainda é ambiente livres de contaminação por parte desses patógenos, pelo menos por enquanto, o que determina a boa qualidade do produto final.

Análise de staphylococcus

O *Staphylococcus aureus* é um microrganismo potencialmente patogênico que cresce com facilidade em ambientes úmidos, podendo ser encontrado frequentemente

no ar, fezes, esgotos, alimentos e, principalmente, na mucosa nasal do homem e animais (CARVALHO & SERAFINI, 1996).

Sua presença em alimentos pode indicar manipulação em condições sanitárias insatisfatórias e possível fonte de perigo de intoxicação alimentar (RIBEIRO, 1998, ANDRÉ *et al.*, 1999), podendo, a contaminação, originar-se dos manipuladores, dos utensílios ou dos equipamentos (RIBEIRO, 1998).

Os resultados das análises para *Staphylococcus* em polpas de mangaba e frutos de mangabeira estão expostos na Tabela 1 e 2.

Avaliações de *Staphylococcus aureus* em polpas

Observando-se a Tabela 1, percebe-se que houve ausência total de valores numéricos para *staphylococcus* nas polpas, com e sem boas práticas de fabricação, confirmando atributos de qualidade, e, demonstrando que, mesmo nas polpas sem o tratamento térmico, as polpas de mangaba não apresentaram indícios desse patógeno.

A contagem de *S. aureus* em alimentos é feita para confirmar o seu envolvimento em surtos de intoxicação alimentar e para o controle da qualidade higiênico-sanitária do processo de produção, uma vez que este microrganismo serve como indicador de contaminação durante o processamento ou das condições de sanificação das superfícies que entram em contato com os alimentos (SILVA *et al.*, 1997).

Dantas et al., (2012) estudando a qualidade microbiológica de polpa de frutas, observou resultados com a presença de *Staphylococcus aureus*, onde obteve uma variação de $1,6 \times 10^3$ a $4,6 \times 10^3$ UFC/g (marca A), $1,6 \times 10$ a $9,3 \times 10$ UFC/g (marca B), $17,6 \times 10$ a $1,1 \times 10^4$ UFC/g (marca C), $1,6 \times 10$ a $40,1 \times 10$ UFC/g (marca D).

Nascimento et al. (2006) estudando polpas de frutas comercializadas no Maranhão, não detectaram presença desses micro-organismos em 100% das polpas de frutas analisadas.

Alimentos submetidos a tratamento térmico podem não apresentar células viáveis de *S. aureus*, e, ainda assim, conter toxinas estafilocócicas que são bastante termorresistentes. (ICMSF, 1982, JAY, 1994, SILVA *et al.*, 1997).

As boas condições higiênico-sanitárias da agroindústria de processamento dos frutos de mangabeira, onde foram colhidos materiais para as análises, poderão estar contribuindo com os resultados alcançados, assim como, com a qualidade microbiológica das polpas de mangaba.

Avaliações de *Staphylococcus aureus* em frutos

O *Staphylococcus aureus* é capaz de sobreviver por longos períodos em objetos inanimados secos e é relativamente resistente ao calor e a altas concentrações lipídicas e salinas, sendo capaz de crescer em concentrações de sal entre 7 e 10%, e algumas cepas são capazes de crescerem em concentrações de sal igual a 20% (JAY, 1994).

Na tabela 2 onde é mostrado os resultados das análises de *staphylococcus* para frutos colhidos com e sem boas práticas de campo, (0 e 3×10^3 respectivamente) observa-se que, nos frutos colhidos utilizando-se as boas práticas de colheita (campo), onde não existe contato físico do colhedor com o fruto, e, a colheita é feita com os frutos ainda presa às plantas, sem nenhum contato com a microbiota do solo, estes se apresentam isentos deste patógeno.

Ao contrário do caso anterior, nos frutos colhidos sem o uso de boas práticas de campo, observou-se valor igual a 3×10^3 , quando o valor máximo permitido deve ser de $<10^3$, ratificando o que Carvalho & Serafini (1996) afirmam que, em ambientes úmidos existem grandes possibilidades de contaminação, e que, também, o qual nos confirma que a falta de procedimentos higiênicos sanitários, possibilita ao ataque de patógenos que se proliferam por meio de vários vetores ou gradientes.

Com os resultados encontrados, pode-se afirmar que, a ausência da metodologia das Boas práticas de colheita de frutos, associado às condições ótimas para sua multiplicação, podem ter contribuído para o aparecimento destes microrganismos.

Análise para *Salmonella*

A *Salmonella* é um gênero da família Enterobacteriaceae. São bacilos gram negativas, anaeróbicas facultativas, não formam esporos e tem forma de bastonetes curtos (1 a 2 μm) a maioria é móvel com flagelos (CASTRO, 2000; JAY; LOESSNER e GOLDEN, 2005).

A dose infecciosa varia de acordo com a idade e saúde da vítima, com o alimento e ainda com a linhagem da *Salmonella*. As doses infecciosas podem variar de 20 até 10⁶ células. A contaminação do alimento ocorre devido ao controle inadequado de temperatura, de práticas de manipulação permitindo que o microrganismo se multiplique no alimento até atingir doses infecciosas (FORSYTHE, 2002).

Dentre as enfermidades de origem alimentar, as *Salmonellas* sp. tem sido apontadas como as responsáveis pela maioria dos surtos onde o agente etiológico foi detectado (BRYAN, 1988).

Os resultados das análises para *salmonella* em polpas de mangaba e frutos de mangabeira estão na Tabela 1 e 2.

Observando-se a Tabela 6, percebe-se ausência total de *salmonella* em polpas, fabricadas com e sem Boas Práticas de fabricação, assim como, em frutos colhidos com e sem Boas Práticas de campo.

A legislação brasileira para esses fins, a RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001(ANVISA, 2001), determina que, a *salmonella ssp.*, deverá estar com, no máximo, 10² UFC.g⁻¹ e ausência em 25 g, respectivamente, e, também, ausente em frutos *in*

natura. Os resultados obtidos estão em sua totalidade de acordo com a legislação em vigor (ANVISA, 2001).

Bruno et al. (2005) estudando microbiologia de polpas de frutas encontraram 66,6% das amostras com presença de *Salmonella* sp., sendo consideradas impróprias para o consumo.

Bordini *et al.* (2007) avaliaram a incidência de *Salmonella* em manga produzidas no Brasil destinada ao mercado interno e externo onde 2 das 67 destinada ao mercado interno apresentaram resultados positivos.

Parish (1998) estudou microbiologia em laranjas e não detectou *Salmonella* nas 375 amostras de superfície de frutas de laranja e suco nos EUA.

Alimentos crus de origem animal são as maiores fontes de *Salmonella*. Se as técnicas de manipulação e higiene não forem adequadas, o manipulador, ao entrar em contato com o alimento contaminado, poderá servir como agente disseminador deste microrganismo aos equipamentos, utensílios e alimentos já processados. Outra forma de contaminação é através de manipuladores infectados (FELIPE *et al.*, 1995).

A refrigeração adequada é o meio mais seguro de prevenção do crescimento deste microrganismo em alimentos (SOUZA, 1997).

Estes resultados encontrados (tabela 2) são de fundamental importância na confirmação e determinação da qualidade biológica do produto e da matéria prima, demonstrando elevado nível de cuidados na higiene da industrialização, dos manipuladores, e, ausência total de contaminação em nível de campo.

3.5.4. Avaliação Química de Frutos e Polpas

Na Tabela 3, estão os resultados encontrados para as caracterizações e avaliações químicas de polpas produzidas Com e Sem Boas práticas de fabricação, assim como, frutos de mangabeiras colhidos Com e Sem Boas práticas de campo.

pH e Acidez Total Titulável (AT)

De acordo com os resultados obtidos (Tabela 3.) as polpas de mangaba Com e Sem boas Práticas de Fabricação tiveram seus níveis de pH dentro dos parâmetros satisfatórios recomendados pela legislação, apresentando-se com valores de 2,92 (CBP) e 2,88 (SBP), respectivamente.

O pH é estabelecido como atributo de qualidade pela legislação. Segundo Chitarra e Chitarra (1990), o pH é parâmetro que mede de uma forma geral a acidez de frutas e alimentos, sendo este o indicador do tipo de tratamento necessário para se conservar alimentos. O aumento do pH está diretamente relacionado com o decréscimo da acidez ocorrida com o avanço da maturação dos frutos.

A acidez titulável de uma fruta é dada pela presença de ácidos orgânicos que decrescem em função do avanço da maturação devido à oxidação no ciclo dos ácidos tricarboxílicos, sendo fundamentais na síntese de compostos fenólicos, lipídios e aromas voláteis (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Os resultados encontrados para as polpas de mangaba fabricadas Com e Sem Boas Práticas, 1,27 (CBP) e 1,21 (SBP), também se encontram dentro dos limites recomendados pela IN nº 1 de 07/01/2000.

Sólidos Solúveis Totais (SST)

Os resultados das caracterizações químicas de polpa de frutos foram avaliados e foi tomado por referência a Instrução Normativa Nº 1 de 07 de Janeiro de 2000, onde, nos seus anexos, faz a regulamentação técnica dos padrões de identidade e qualidade para polpa de mangaba em seu Anexo XVI, Brasil (2000).

Observando-se a Tabela 3 percebe-se que, os valores encontrados na referida tabela, para sólidos solúveis totais, 8,7 (CBP) e 7,9 (SBP), apenas está em conformidade com as determinações da IN nº 1 de 07/01/2000, as polpas fabricadas

com boas práticas, estando a produzida sem boas práticas um pouco abaixo do nível recomendado.

A determinação dos sólidos solúveis totais é expressa em porcentagem ou em graus Brix (°Brix). Deve-se salientar que a medição apenas do teor de sólidos solúveis não é um indicativo seguro de maturação, devendo ser associado a outras características físicas ou determinações químicas como a acidez, obtendo, assim, uma avaliação mais precisa do grau de maturação (CHITARRA, 2006).

De acordo com o Ministério da Agricultura e Abastecimento, o padrão mínimo de sólidos solúveis totais em frutos é de 6,00 °Brix (BRASIL, 1999).

Melo et al. (1999), obtiveram °Brix de 10,8, para pitanga e De Godoy et al. (2009), obtiveram em suas pesquisas média de 8,24 °Brix em acerola.

Outros autores também pesquisando características químicas de frutos de mangabeiras do Litoral do Nordeste e da Região do Cerrado, encontraram valores diversos:

Parente et al., (1985) pesquisando características físico-química de frutos maduros de mangabeira, obtidos na região do cerrado, encontraram em média 38,70g de peso; 2,71cm de diâmetro; 3,64 cm de comprimento, 10-35 sementes por fruto e 7,5 de °Brix.

Ferreira (1998) caracterizando plantas e frutos de mangabeiras da região do Litoral da Paraíba encontraram valores que oscilaram de 10,80 a 18,98° Brix.

Ferreira et al. (1995) estudando características físicas e químicas de plantas nativas do município de Baía da Traição – PB, encontraram médias em amostras de dez frutos por planta, que variaram de 12,15 a 17,48° Brix.

Os resultados das avaliações químicas comprovaram que a polpa CBP está em concordância com o que preconiza o anexo XVI de Brasil (2000), e, ao mesmo tempo, mostra que o produto está em ótimas condições de consumo e comercialização.

Relação SST/ATT

A relação SST/ATT, de acordo com Chitarra e Chitarra (2005) indica o grau de doçura de um fruto ou de seu produto, evidenciando qual o sabor predominante, o doce ou o ácido, ou ainda se há equilíbrio entre eles. Essa relação é uma das formas mais utilizadas para a avaliação do sabor, sendo mais representativo que a medição isolada de açúcares ou da acidez. A relação entre sólidos solúveis e acidez titulável fornece um indicativo do sabor da fruta, pois relaciona a quantidade de açúcares e ácidos presentes.

Neste estudo, os valores encontrados para polpas (CBP e SBP), foram de 8,06 e 7,72, respectivamente. Estes valores obtidos foram baixos, para os padrões recomendados, o que se pode atribuir como reflexo dos resultados demonstrados nas análises de acidez, que foram de 1,09 e 1,03, para polpas com e sem boas práticas. Estes valores mesmo superiores aos recomendados pela legislação, não contribuíram para um melhor desempenho deste item.

De acordo com Villachica (1996), os frutos mais ácidos e os menos doces são empregados na fabricação de sorvetes, sucos, doces em latas, tortas, entre outros, pelo sabor diferenciado e quanto ao processamento, por implicar em menores custos à empresa, justificado pela não necessidade da adição de acidulantes para reduzir o pH.

Tabela 3. Avaliações Químicas de Polpas e frutos de Mangabeiras.

	p/ polpa		Padrão químico	Frutos	
	CBP	SBP		CBP	SBP
pH	2,92	2,88	2,8	2,76	2,95
Acidez	1,27	1,21	0,7	2,29	1,4
SS	8,76	7,93	8,0	11,58	12,03
SS/AT	8,06	7,72	11,4	5,94	10,09

***CBP**= Com boas práticas de campo ou fabricação ***SBP**= Sem boas práticas de campo ou fabricação.

Fonte: Laboratório de Fisiologia e pós-colheita de frutos – CCA/UFPB.

CONCLUSÕES

- As polpas analisadas Com Boas Práticas de Fabricação, apresentaram níveis toleráveis de contaminação com relação a bolores e leveduras, demonstrando a eficiência e necessidade do uso das Boas Práticas;

- Os frutos apresentaram níveis de contaminação de bolores e leveduras acima do permitido (SBP= $2,3 \times 10^3$), provavelmente por contaminação natural em campo, ou, na manipulação até chegar ao ou no laboratório;

- Com referência a aeróbios mesófilos, as polpas Com e Sem Boas Práticas apresentaram valores de 3×10^1 e $1,88 \times 10^4$ respectivamente;

- Os frutos colhidos com boas práticas, também confirmaram a superioridade na qualidade, no entanto, frutos colhidos sem Boas práticas apresentaram níveis acima do permitido, confirmando de forma incontestável a qualidade dos produtos manipulados com as Boas Práticas de Campo e Fabricação;

- As Boas Práticas de Campo e de Fabricação tiveram reflexos positivos no estudo realizado, em todos os parâmetros avaliados a necessidade da adoção, e regulamentação do seu uso.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abreu, M. C.; Nunes, I. F. S.; Oliveira, M. M. A. Perfil microbiológico de polpas de frutas comercializadas em Teresina, PI. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 112, p. 78-81, 2003.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the AOAC**. 12.ed. Washigton D.C., 1975. p. 391 - 410.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists - **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 10.ed. Washington, 1992. 1115 p.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 16 ed. Washington, D.C., 1985.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3 ed. Washington DC. P.1219, 1992

ANDRÉ, M.C.D.P.B., SERAFINI, A.B., VIEIRA, J.D.G., CAMPOS, M.R.H., CORREA, M.H.S. Aspectos higiênico-sanitários de utensílios utilizados em salas de abate de matadouros de Goiânia. **Higiene Alimentar**, v.13, n.60, p.68-73, 1999.

BACTERIOLOGICAL ANALYTICAL MANUAL – U.S.Food and Drug Administration (FDA). Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov>. Acesso em:07 junho 2007.

BEUCHAT, L. R. Synergistic effects of potassium sorbate and sodium benzoate on thermal inactivation of yeasts. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 3, p. 771-776, 1981.

BEUCHAT, L. R. 7 COUSIN, M. A. Yeasts and molds. In: DOWNES, F. P., and K. ITO (ed.), *Compendium of methods for the microbiological examination of Foods*, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D. C, 2001. Chapter 20, p. 209-215.

BORDINI, M.E.B.;RISTORI, C.A.;JAKABI, M.; GELLI, D.S. Incidence, Internalization and behavior of Salmonella in mangoes, var. Tommy Atkins. **Food Control**, Guildeford, v.18, p.1002-1007, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária ANVISA. Resolução RDC nº 12, de 02/01/2001. **Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para**

alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 janeiro de 2001.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 12, de 10 de setembro de 1999. Aprova os Padrões de Identidade e Qualidade para Polpas de Frutas. Brasília, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa Nº 1, de 7 de janeiro de 2000. **Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de frutas.** Diário Oficial da União, Nº 6, Brasília, 10 de janeiro de 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº. 12**, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico que dispõe sobre Padrões Microbiológicos sanitários para Alimentos. Brasília, 2001.

BRUNO, L. M.; QUEIROZ, A. A. M. de; ANDRADRE, A. P. C. de; VASCONCELOS, N. M. de; BORGES, M. de F. Avaliação Microbiológica de Hortaliças e Frutas Minimamente Processadas Comercializadas em Fortaleza (CE). **B. CEPPA**, Curitiba, v. 23, n. 1, jan./jun. 2005.

BRUNINI, M. A.; DURIGAN, J. F.; De OLIVEIRA, A. L. Avaliação das alterações em polpa de manga “Tommy-Atkins” congeladas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 651-653, 2002.

BUENO, S. M.; GRACIANO, R. A. S.; FERNANDES, E. C. B.; GARCIA-CRUZ, C. H. **Avaliação da qualidade de Polpas de Frutas Congeladas.** Revista Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, v. 62, n. 2, p. 121-126, 2002.

CARVALHO, C.O., SERAFINI, A.B. Grupos de microrganismos isolados da orofaringe, nasofaringe e das mãos dos trabalhadores do restaurante da Universidade Federal de Goiás. **Higiene Alimentar**, v.10, n.45, p.19-24, 1996.

CARVALHO, A.A.T. **Atividade Inibitória de Bovicina HC5 sobre Bactérias Deteriores de polpa de manga.** Tese apresentada para obtenção de título de *Meginter Scientiae* grau de mestre. Universidade Federal de Viçosa: Minas Gerais, 2006.

CASTRO, G.P.P. **Colonização e trânsito intestinal de *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium em frangos de corte no pré-abate.** 86 p. Dissertação

(Mestrado em Tecnologia dos Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de Frutos e Hortaliças: Fisiologia e manuseio**. 2^o. ed. Rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005. 785p.

CHITARRA, A. B. **Tecnologia de pós-colheita para frutas tropicais**. Instituto Frutal, Fortaleza, 309p. 2006.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL-FAEPE, 1990. 320p.

DANTAS JÚNIOR, O. R. **Qualidade e capacidade antioxidante total de frutos de genótipos de umbuzeiro oriundos do semi-árido nordestino**. UFPB/Areia/Agronomia. Tese de Doutorado. 2008. Disponível em: <http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/>. Acesso em: 21 ago. 2012.

EVANGELISTA, R.M.; VIEITES, R.L. **Avaliação da Qualidade de Polpa de Goiaba Congelada, Comercializada na Cidade de São Paulo**. Segurança Alimentar e Nutricional, Campinas, 2006.

FAZIO, M.L.S. **Qualidade Microbiológica e Ocorrência de Leveduras em Polpas Congeladas De Frutas**. Dissertação para obtenção do grau de mestre. Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2006.

FELIPE, M.R., DEOLINDO, J.P., MAFRA, D., MATOS, C.H. Manipuladores de alimentos portadores de *Salmonella* spp.: implicações na produção de alimentação coletiva. **Higiene Alimentar**, v.9, n.40, p.18-20, 1995.

FERNANDES, T.N.; RESENDE, J.V.; CRUVINEL, R.S.R.;RENO, M.J. **Relação entre o Comportamento reológico e a dinâmica do congelamento e descongelamento de polpa de morango adicionada de sacarose e pectina**. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, 2010.

FERREIRA, E.G. Contribuição ao Estudo da Mangabeira (*Hancornia speciosa*Gomes):Caracterização de Plantas e de Frutos, do Município de Baía da Traição, PB. Campina Grande, PB: UEPB, 1998. 29 p. (Monografia Especialização).

FERREIRA, E. G.; LIMA, E. M.; FREIRE, J. L. de O.; SILVA, A. Q. da.; SILVA, H. Caracterização de Plantas Nativas e de Frutos de Mangaba. In: Congresso Latino Americano de Horticultura, 7. Foz do Iguaçu-PR. **Anais...** Sociedade Brasileira de Olericultura, 1995. p 82.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Trad. Maria Carolina Minardi Guimarães e Cristina Leonhardt – Porto Alegre: Artmed, p 216, 211, 2002.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003. 182 p.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2002.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo, Ed.Atheneu, 2007. p27-171

IBGE. Extração vegetal e silvicultura: produto alimentício – mangaba (fruto), quantidade produzida. 2010. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=se&tema=extracaovegetal2010&titulo=Extra%E7%E3o%20vegetal%20e%20silvicultura%202010>>.

IBGE. Extração vegetal e silvicultura: produto alimentício – mangaba (fruto), quantidade produzida. 2012. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=se&tema=extracaovegetal2012&titulo=Extra%E7%E3o%20vegetal%20e%20silvicultura%202012>>.

ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). **Microorganisms in foods 1** – Their significance and methods of enumeration. 2.ed. Toronto: University of Toronto Press, 1982, 436p.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. ed. 6, Porto Alegre: Artmed, 2005.

JAY, J.M. **Microbiología Moderna de los alimentos**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1994. 804p.

KIEHL, E. J. **Manual de compostagem: maturação e qualidade do composto**. 4.ed. Piracicaba: E. J. Kiehl, 173p, 2004.

LEITE, C. C. et al. Avaliação Microbiológica de polpas congeladas de frutas produzidas no Estado da Bahia. **Higiene Alimentar**, v. 11, n. 78-79, p. 69-73, 2000.

LIMA, R.M.T. **Avaliação da Estabilidade, química, físico-química e microbiológicas de polpa de acerola orgânica Pasteurizada e Não Pasteurizada**. Dissertação para obtenção do grau de mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Ceará, 2010.

LIMA, J. R.; MARTINS, S. C. S.; SILVA, J. L. A. Avaliação de polpas de frutas congeladas comercializadas no Estado do Ceará através de indicadores microbiológicos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 88, p. 62-66, 2001.

LIMA, A.B de, SILVA. S de. M.; ROCHA. A.; NASCIMENTO, L.C. do.; RAMALHO. F.S. **conservação pós-colheita de manga ‘Tommy Atkins’ orgânica sob recobrimentos bio orgânicos**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, SP, v. 34, n. 3, p. 704-710, Setembro 2012.

MELO, E. A.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, P. P. Formulação e avaliação físico-químico e sensorial de geléia mista de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e acerola (*Malpighia* sp). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, PR, v. 17, n. 1, p. 33-44, 1999.

MONTEIRO, M.; AMARO, A.P.; BONILHA, P.R.N. **Avaliação Físico-Química e Microbiológica da Polpa de Maracujá Processada e Armazenada sob Refrigeração**. Alimento e Nutrição, Araraquara, 2005.

MORTON R. D. Aerobic plate count. In: DOWNES, F. P., and K. ITO (ed.), *Compendium of methods for the microbiological examination of Foods*, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D. C, 2001. Chapter 7, p. 63-67.

MUBIRU, D.N.; COYNE, M.S.; GROVE. J.H. Mortality of *Escherichia coli* O157:H7 in two soils with different physical and chemical properties. **Journal Environmental Quality** n.29:1821–1825, 2000.

NASCIMENTO, A.R.; FILHO, J.E.M.; MARINHO, S. C.; MARTINS, A. G. L. A.; SOUZA, M. R.; SILVA, W. A. S. S.; CASTILLO, F. A.; OLIVEIRA, M. B.; Incidência de microrganismos contaminantes em polpas de frutas comercializadas *in natura* em feiras livres da cidade de São Luís/MA. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 249-258, 2006.

NETTO, F. M. **Determinação da vida de prateleira – Erros e limitações**. In: Reações de transformação e vida de prateleira de alimentos processados. Moura, S. C. S. R.; Germer, S. P. M. Campinas: ITAL. 3^a ed. p. 83-92, 2004. (Manual Técnico nº 6).

PARENTE, T. V.; BORGIO, L. A.; MACHADO, J. W. B. Característico físico químicos de frutos de mangaba do cerrado da região geoeconômica do Distrito Federal. Planaltina: **Ciência e Cultura**, Campinas, v. 37, n. 1, p. 95 - 98 1985.

PARISH, M. E. Coliforms. *Escherichia coli* and *Salmonella* Serovars associated with a citrus-processing facility implicated in a salmonellosis outbreak. *Journal of Food Protection*, Ames, v.62, p.280-284, 1998.

PINHEIRO, N. M. de S.; FIGUEIREDO, E. A. T. de; FIGUEIREDO, R. W. de; MAIA, G. A.; SOUZA, P. H. M. de. Avaliação da Qualidade Microbiológica de Frutos Minimamente Processados Comercializados em Supermercados de Fortaleza. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 27, n. 1, p. 153-156, Abril 2005.

RIBEIRO, L.L. **Análise de perigos e pontos críticos de controle no preparo de pratos à base de creme de maionese caseiro em restaurante Self-service**. Lavras: UFLA, 1998. 53p. (Dissertação de mestrado).

ROBBS, P. G.; CAMPELO, J. C. F. Produção segura na cadeia do leite. In: PORTUGAL, J. A.; NEVES, B. S.; OLIVEIRA, A. C. S.; SILVA, P. H. F.; BRITO, M. A V. P. (Ed.). **Segurança alimentar na cadeia do leite**. Juiz de Fora: Epamig; Instituto de Laticínios Cândido Tostes; Embrapa Gado de Leite, p. 54-76, 2002.

RODRIGUES, K. L.; GOMES, J. P.; CONCEIÇÃO, R. C. S.; BROD, C. S.; CARVALHAL, J. B.; ALEIXO, J. A. G. Condições higiênico-sanitárias no comércio ambulante de alimentos em Pelotas-RS. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 3, n. 23, p. 447-452, 2003.

ROSA, O.O.; CARVALHO, E.P. **Implementação do sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC) para o controle de qualidade de produtos minimamente processados**. *Rev. Hig. Alim.*, v. 18, n. 123, 2004.

SANTOS, C.A.A.;1, COELHO, A.F.S.; CARREIRO, S.C. **Avaliação Microbiológica de polpa de frutas congeladas**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, 2008.

SANTOS, F. A. et al. Análise qualitativa de polpas congeladas de frutas produzidas pelo SUFRUTS, MA. **Higiene Alimentar**, v. 15, n. 119, p. 14-22, 2004.

SANTOS, J.; RIBEIRO, G. A. Avaliação microbiológica de sucos de laranja “in natura”, comercializados na cidade de Pelotas, RS. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 147, p. 40-44, 2006.

SEBASTIANY, E.; REGO, E.R.; VITAL, M.J.S. **Qualidade microbiológica de Polpas de frutas congeladas**. *Revista Instituto Adolfo Lutz*. São Paulo, 2009.

SILVA, N.; JUNQUEIRA,V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 3ª edição. São Paulo: Livraria Varela, 2007.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997. 317 p.

SIQUEIRA, R. S.; BORGES, M. F. Microbiologia de frutas e produtos derivados. In: TORREZAN, R. (Coord.). **Curso de processamento de frutas**. Rio de Janeiro: EMBRAPA/CTAA, 1997. p. 2-13.

SIQUEIRA, R.S. **Manual de Microbiologia de Alimentos**, Brasília: EMBRAPA-SPI; Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 1995, 159p.

SOUZA, J. M. **Qualidade microbiológica de massas de pizza semi-prontas: pontos críticos na produção e comercialização**. 1997, 122f. (Dissertação de mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais.

VILLACHICA, H.; CARVALHO, J. E. U.; MULLER, C. H.; SIAZ, S. C.; ALMANZA, M. **Frutales y hortalizas promisoras de la Amazonia**. Lima: SPT-TCA, 1996. p152 - 156. (SPT-TCA, 44).

WELKE, J. E.; HOELTZ, M.; DOTTORI, H. A.; NOLL, I.B. **Ocorrência de Fungos Termorresistentes em Suco de Maçã**. Braz. J. Food Technol., II SSA, janeiro 2009.