



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA**

**EPIDEMIOLOGIA E CONTROLE ALTERNATIVO DA  
PODRIDÃO DOS FRUTOS DE MAMOEIRO CAUSADA POR  
*Phytophthora palmivora* NA PÓS-COLHEITA**

**THIAGO ALVES SANTOS DE OLIVEIRA**

**BRASÍLIA - DF  
2012**

**THIAGO ALVES SANTOS DE OLIVEIRA**

**EPIDEMIOLOGIA E CONTROLE ALTERNATIVO DA  
PODRIDÃO DOS FRUTOS DE MAMOEIRO CAUSADA POR  
*Phytophthora palmivora* NA PÓS-COLHEITA**

Tese apresentada à Universidade de Brasília,  
como parte das exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Fitopatologia, para obtenção do  
título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Dr. Luiz Eduardo Bassay Blum

**BRASÍLIA - DF  
2012**

**THIGO ALVES SANTOS DE OLIVEIRA**

**EPIDEMIOLOGIA E CONTROLE ALTERNATIVO DA PODRIDÃO DOS FRUTOS  
DE MAMOEIRO CAUSADA POR *Phytophthora palmivora* NA PÓS-COLHEITA**

Tese apresentada à Universidade de Brasília, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 29/02/2012

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Sueli Correia Marques de Mello  
Examinador (Embrapa/Cenargen)

---

Prof. Dr. Alexei de Campos Dianese  
Examinador (Embrapa/Cerrados)

---

Prof. Dr. Osvaldo Kiyoshi Yamanishi  
Examinador (UnB/FAV)

---

Prof. Dr. José Ricardo Peixoto  
Examinador (UnB/FAV)

---

Prof. Dr. Luiz Eduardo Bassay Blum  
Orientador (UnB/FIT)

A Deus, senhor da minha vida.

**AGRADEÇO**

A todos os Professores da UnB,  
UFRPE e da UESB, que em muito  
contribuíram para esse momento.

**DEDICO**

Aos meus pais Jaime e Ariadenes,  
aos meus irmãos Saulo e Lucas e  
minha esposa Elizabeth.

**OFEREÇO**

## AGRADECIMENTOS

À Universidade de Brasília (UnB), Programa de Pós-graduação em Fitopatologia (PPGF) pelo apoio institucional e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos;

Ao meu orientador Prof. Dr. Luiz Eduardo Bassay Blum pelos ensinamentos, dedicação e confiança, sobretudo na execução dos experimentos em outro estado;

Aos professores do PPGF-UnB em especial ao Prof. Adalberto Café Filho, pelos ensinamentos e trocas de experiências nas disciplinas e conversas informais;

Aos colegas do PPGF-UnB e o secretário Ribamar Frazão pela presteza e apoio;

A Dr<sup>a</sup> Sueli Corrêa M. Mello (Embrapa-Cenargen) pela confiança e oportunidade de parceria com Carlos Mattos (Michelin/BA), importante experiência profissional;

Ao Dr. Givaldo Rocha Niella, a minha gratidão pela oportunidade de executar meus experimentos na CEPLAC/BA, a quem tenho grande estima e verdadeira amizade;

A Dr<sup>a</sup>. Edna Dora M. Newman Luz, pessoa amabilíssima e representativa da Fitopatologia que tive a honra de trabalhar, agradeço os ensinamentos e dedicação;

A Giltembergue M. Tavares, amigo e companheiro deste a graduação, que contribuiu bastante neste trabalho;

Aos colegas e técnicas dos laboratórios de Fitopatologia e Biocontrole da CEPLAC/BA pela acolhida e suporte na execução dos experimentos;

Aos amigos: Magno Rodrigues, Leonardo Brauna, Niday Nunes e Roberta Pereira, pelos momentos descontraídos e experiências compartilhadas;

A Daniel Diego Costa Carvalho, cujo convívio revelou uma amizade sincera e minimizou a saudade de casa;

A DEUS, meus pais (Jaime e Ariadenes) e meus irmãos (Saulo e Lucas) meu agradecimento é eterno, pois juntos construímos nossa família sólida e fraterna;

A minha esposa Elizabeth Duarte pelo carinho e cumplicidade na execução deste trabalho. Foi na trajetória acadêmica que nos conhecemos e solidificamos nossa vida pessoal e profissional através do nosso imenso amor.

## RESUMO GERAL

OLIVEIRA, Thiago A. S. de. Universidade de Brasília, Fevereiro de 2012. **Epidemiologia e controle alternativo da podridão dos frutos de mamoeiro causada por *Phytophthora palmivora* na pós-colheita.** Orientador: Luiz Eduardo Bassay Blum.

O panorama mundial da fruticultura é bastante dinâmico, influenciado, sobretudo, pelas mudanças edafoclimáticas e pelas doenças de pré e pós-colheita. O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é apreciado no mundo todo e produzido nos países tropicais, principalmente nos estados brasileiros da Bahia e Espírito Santo. Os prejuízos pós-colheita são causados por doenças fúngicas, com destaque para a podridão dos frutos, causada por *Phytophthora palmivora*, de patossistema pouco estudado. Considerando que o controle químico geralmente é oneroso e impactante ao ambiente, procederam-se neste trabalho, estudos de componentes epidemiológicos e de controle alternativo da podridão dos frutos na pré e pós-colheita. Vinte um isolados de *P. palmivora* da Coleção de Phytophthora Arnaldo Gomes Medeiros do Centro de Pesquisa da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), foram avaliados quanto ao índice e potencial de velocidade de crescimento micelial, produção e potencial de produção de esporos; influência da temperatura, período de molhamento, concentração de inóculo, método de inoculação e estágio de maturação de *P. palmivora* na severidade da podridão dos frutos de mamoeiro na pós-colheita, assim como o biocontrole da doença com *Trichoderma* spp. e o controle com fosfitos e Acibenzolar-S-Metil. Os resultados obtidos sugeriram que os isolados de *P. palmivora* 356 e 1060 foram os mais agressivos e mais virulentos nos estudos *in vitro* e *in vivo*. O estágio de maturação e a concentração de inóculo influenciaram no aumento das lesões causadas por *P. palmivora*, assim como o período de molhamento entre 60-72 horas e a temperatura entre 25-30 °C. Entre os biocontroladores testados, o isolado de *Trichoderma* spp. 4088 apresentou 88,64% de controle, comportamento estatisticamente semelhante ao fungicida. Já o fosfito de potássio 240 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, 340 g L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 5% de C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub> (Reforce<sup>®</sup> + Acido Salicílico) foi eficiente no controle da doença quando aplicado aos 6 Dias Antes da Colheita (DAC) reduzindo a severidade da doença por meio de retardo na maturação na fruta, diferente do Acibenzolar-S-Metil cuja eficiência foram verificadas quando aplicados depois da colheita.

**Palavras-chave:** Doença pós-colheita, controle alternativo, Patogênese e *Carica papaya*.

## GENERAL ABSTRACT

OLIVEIRA, Thiago A. S. de. University of Brasília, in February 2012. **Epidemiology and alternative control of papaya fruit rot caused by *Phytophthora palmivora* in postharvest.**  
Advisor: Luiz Eduardo Bassay Blum.

The global picture of the horticulture is quite dynamic. This picture is influenced by climatic changes and the prevalence of pre and postharvest diseases. Papaya (*Carica papaya* L.) is produced and appreciated worldwide. This plant is cultivated in tropical countries, such as Brazil. Bahia and Espírito Santo are the most important Brazilian states in papaya production. Postharvest fungal diseases are the main cause of papaya fruit losses. Papaya fruit rot, caused by *Phytophthora palmivora*, is one of those important diseases. This study was conducted considering the importance of disease and the environmental and economic cost of the chemical control for this disease. Therefore, the main objectives of this work were: to understand the effects of epidemiological factors on disease development and evaluate alternative methods to chemical control. Twenty-one strains of *P. palmivora* [Laboratory of Phytophthora Collection, Arnaldo Medeiros, Centro de Pesquisa da Lavoura Cacaueira (CEPLAC)] were evaluated, considering the following variables: the index and speed potential of mycelial growth, spore production, production potential and growth spores, assessment of virulence through the injured area, latent period, lesion area, sporulation capacity, influence of temperature, wetness, inoculum concentration, method of inoculation of *P. palmivora* and fruit maturation stages in the severity of the papaya fruit rot, the effects of biocontrol by *Trichoderma* spp., and control by phosphites and Acibenzolar-S-Methyl (ASM). The results suggested that *P. palmivora* isolates 356 and 1060 were the most aggressive. Increases fruit maturation stage, pathogen concentration of inoculum, wet period from 60 to 72 hours, and temperature between 25-30 °C favored increments in disease. *Trichoderma* isolate 4088 showed 88.64% of disease control. Potassium phosphite 240 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, 340 g L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 5% de C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub> (Reforce<sup>®</sup> + Salicylic Acid) was effective in disease control when applied to the 6 Harvester Day Before (HDB). However, Acibenzolar-S-Methyl was effective when applied in postharvest.

**Keywords:** Postharvest diseases, Alternative control, Pathogenesis and *Carica papaya*.

## SUMÁRIO

## PÁGINA

<b>CAPÍTULO I - Variabilidade da agressividade e virulência de <i>Phytophthora palmivora</i> influenciando na severidade da podridão dos frutos de mamoeiro na pós-colheita</b> .....	09
RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	11
INTRODUÇÃO.....	12
MATERIAL E MÉTODOS.....	14
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
REFERÊNCIAS.....	28
<b>CAPÍTULO II - Temperatura, período de molhamento e concentração de zoósporos de <i>Phytophthora palmivora</i> afetando a severidade da podridão dos frutos do mamoeiro na pós-colheita</b> .....	32
RESUMO.....	33
ABSTRACT.....	34
INTRODUÇÃO.....	35
MATERIAL E MÉTODOS.....	37
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
REFERÊNCIAS.....	48
<b>CAPÍTULO III - Influência do método de inoculação e estágio de maturação na severidade da podridão dos frutos (<i>Phytophthora palmivora</i>) de mamoeiro na pós-colheita</b> .....	51
RESUMO.....	52
ABSTRACT.....	53
INTRODUÇÃO.....	54
MATERIAL E MÉTODOS.....	56
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
REFERÊNCIAS.....	64



<b>CAPÍTULO IV - Biocontrole de <i>Phytophthora palmivora</i> causador da podridão dos frutos de mamoeiro por <i>Trichoderma</i> spp. na pós-colheita</b> .....	68
RESUMO.....	69
ABSTRACT.....	70
INTRODUÇÃO.....	71
MATERIAL E MÉTODOS.....	73
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	76
REFERÊNCIAS.....	82

<b>CAPÍTULO V - Controle da podridão dos frutos de mamoeiro causada por <i>Phytophthora palmivora</i> com fosfitos e acibenzolar-S-metil na pré e pós-colheita</b> .....	86
RESUMO.....	87
ABSTRACT.....	88
INTRODUÇÃO.....	89
MATERIAL E MÉTODOS.....	91
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	94
REFERÊNCIAS.....	103
CONCLUSÕES GERAIS.....	109

# Capítulo I

---

---

**Variabilidade da agressividade e virulência de *Phytophthora palmivora* influenciando na severidade da podridão dos frutos de mamoeiro na pós-colheita**

## RESUMO

O mamão (*Carica papaya* L.) é suscetível a várias doenças que comprometem a produção, portanto, são necessários estudos que reduzam tais doenças. A podridão dos frutos (*Phytophthora palmivora* (Butler) Butler) de mamoeiro é uma das doenças que comprometem a cultura nas regiões produtoras (Bahia e Espírito Santo). Portanto, neste trabalho foram estudados Variabilidade da agressividade e virulência de *Phytophthora palmivora* influenciando na severidade da podridão dos frutos de mamoeiro na pós-colheita *in vitro* e *in vivo*. Vinte e um isolados foram utilizados para avaliações das características de crescimento micelial: (a) índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM); (b) potencial de velocidade de crescimento micelial (%IVCM); (c) produção de esporos (PE); (d) potencial de produção de esporos (%PE) e (e) potencial de crescimento dos isolados (%PC). O crescimento micelial máximo a 120h de cultivo, obtido pelo isolados testados de *P. palmivora* variou entre 27 e 81 mm para os isolados 355 e 356, respectivamente. Os IVCM mais elevados foram apresentados pelos seguintes isolados, 356, 363, 839, 1056, 1060 e 1189. Tais isolados apresentam alta velocidade de colonização no meio quando comparado com os demais e, por conseguinte, boa capacidade de se estabelecer no substrato alvo. Destaque os isolados 356, 1060, 839 e 363 que apresentaram ótimos %IVCM quando comparados com os demais isolados. Os isolados mais virulentos foram: 356, 357, 358, 359, 361, 363, 839, 1055, 1056, 1057, 1060 e 1189. Todavia, os mais agressivos foram os isolados 356 e 1060.

**Palavras-chave:** Podridão por *Phytophthora*; *Carica papaya*; Variabilidade na virulência.

## ABSTRACT

Papaya (*Carica papaya*. L.) production is compromised by several diseases; therefore, studies on disease control are needed. Fruit-rot caused by *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler is a disease that might significantly reduce papaya yield on main Brazilian production states (Bahia and Espírito Santo). For this reason, studies *in vivo* and *in vitro* on postharvest aggressiveness and virulence variability of disease on severity by papaya fruit. From the 21 pathogen isolates, the three more virulent and aggressive ones were selected for the following evaluations: (a) index of mycelia growth velocity (IMGV); (b) potential of mycelia growth velocity (%IMGV); (c) spore production (SP); (d) potential of spore production (%SP) and (e) potential of isolate growth (%PG). The maximum mycelia growth *in vitro* at 120h presented by *P. palmivora* ranged from 27 to 81 mm for 355 and 356 isolates, respectively. The highest IMGV *in vitro* were presented by the following isolates, 356, 363, 839, 1056, 1060, and 1189. The best %IMGV's were obtained by 356, 1060, 839, and 363 isolates. The most virulent isolates were: 356, 357, 358, 359, 361, 363, 839, 1055, 1056, 1057, 1060, and 1189. However, the most aggressive ones were, 356 and 1060.

**Keywords:** *Phytophthora* fruit-rot; *Carica papaya*; Virulence variability.

## INTRODUÇÃO

O cultivo comercial do mamoeiro (*Carica papaya* L.) apresenta relevância econômica nas regiões tropical e subtropical (SILVA, 2001). O Brasil é o maior produtor mundial, com produção estimada em 1,6 milhões de toneladas por ano (IBGE 2010), e um dos principais exportadores suprindo o mercado europeu em 30,2% desta oferta, seguido do México com 12,7%, a Nigéria com 12,2% e a Índia com 11,12% (FAO, 2010). As regiões sudeste e nordeste somam em média 83% da produção brasileira de mamão, destacando-se os estados da Bahia e Espírito Santo como os principais produtores (IBGE, 2010). O cultivo do mamoeiro no Brasil, além da importância econômica apresenta aspecto social como gerador de emprego e renda (OLIVEIRA et al., 2006).

O mamão é suscetível a várias doenças, entre as quais as podridões fúngicas causadas por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., *Phoma carica-papaya* (Tarr.) Punithalingam, *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler, *Stemphylium lycopersici* (Enjoji), *Geotrichum candidum* Link. Ex. Pers., *Cladosporium herbarum* (Pers.) Linnh ex Gray, entre outras, responsáveis por perdas consideráveis (SILVA, 2001; ZAMBOLIM et al., 2002; REZENDE; MARTINS, 2005; DANTAS; OLIVEIRA, 2006).

No Brasil, o primeiro registro de ocorrência de *P. palmivora* no mamoeiro foi em São Paulo no ano de 1951, mas há registros desta espécie em vários estados brasileiros como: Alagoas, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Maranhão, Minas Gerais, Pará e Pernambuco (MENDES et al., 1998). Inicialmente o agente causal da podridão dos frutos de mamoeiro foi considerado como *P. parasitica* (Dastur) isolado de frutos no Haváí (KO, 1994). Posteriormente observou-se que *P. palmivora* (espécie considerada polífaga e cosmopolita) é uma das principais patogênicas ao mamoeiro, sendo prevalente no Brasil em número de hospedeiros e relatada também em outras culturas de relevância econômica (LUZ; MATSUOKA, 2001).

Como os demais Oomycota, *P. palmivora* é dependente de água tanto no solo como na superfície das plantas para formação dos esporângios, liberação dos zoósporos e disseminação (LUZ, 2006). Assim, a chuva e o vento são seus maiores fatores de dispersão pois a chuva projeta o inóculo de um fruto para o outro, para o solo e deste para o ar, onde é disperso pelo vento, através das gotículas de água, para outras plantas (KO, 1994). Por esta razão a podridão dos frutos está relacionada a períodos chuvosos e solos pesados, excessivamente úmidos e mal drenados, onde a doença tem início quando esporângios disseminados pelo vento em dias chuvosos chegam à superfície dos frutos (SILVA, 2001).

Vários fatores relacionados ao fruto, ao patógeno, ao clima e às condições em pós-colheita determinam a incidência e a severidade das doenças (ECKERT, 1993). Segundo Oliveira et al., (2006) fazem-se necessários conhecimentos básicos da fisiologia pós-colheita de cada patossistema, das características do hospedeiro, do patógeno e das condições ambientais que favorecem o desenvolvimento da doença para então serem sugeridas medidas eficazes de prevenção e ou controle da mesma. Adicionalmente, tentativas de controle de doenças pós-colheita em frutas, baseadas em informações insuficientes sobre os patógenos, podem levar a pouca ou nenhuma redução do problema, bem como elevarem os custos de produção, sem aumento substancial na qualidade dos produtos (SILVEIRA et al., 2001).

Pesquisas envolvendo identificação, caracterização e quantificação de patógenos causadores de doenças pós-colheita em frutos são escassas e não sistemáticas (SILVEIRA et al., 2001). Nesse contexto, torna-se imprescindível a realização do presente trabalho, cujo objetivo é estudar os a variabilidade da agressividade e virulência do patógeno na severidade da podridão dos frutos de mamoeiro na pós-colheita.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção dos isolados

Foram utilizados 21 isolados de *P. palmivora* cedidos pela Coleção de Phytophthora Arnaldo Gomes Medeiros, sediada no CEPEC (Tabela 1). Os isolados foram repicados para placas de Petri (9 cm) contendo meio seletivo PARPH (KANNWISCHER; MITCHELL, 1978), acondicionados por cinco dias ao abrigo da luz a  $25 \pm 2$  °C. Posteriormente, discos (5 mm) das culturas dos isolados em meio seletivo foram transferidos para placas de Petri com meio Cenoura-Ágar (CA) as culturas foram acondicionadas em incubador sob luz contínua a  $25 \pm 2$  °C durante nove dias. Os fitopatógenos obtidos foram inoculados em frutas sadias no estágio de maturação 2 (RITZINGER; SOUZA, 2000) para observação dos sintomas característicos de *P. palmivora* e reisolados, em tubos de ensaio contendo meio CA, seguindo os postulados de Koch e preservados pelo método de Castellani para estudos posteriores.

### Estudo *in vitro* e *in vivo* das características de crescimento micelial e esporulação de isolados de *P. palmivora* de mamão

#### Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) e Potencial de Velocidade de Crescimento Micelial (%IVCM)

Para determinar o crescimento micelial e a taxa de crescimento dos isolados de *P. palmivora* foi aplicado o método baseado e modificado de Jackisch-Matsura e Menezes (1999). Cada patógeno foi cultivado em 10 placas de Petri com meio CA e incubados com alternância luminosa (12 horas claro/12 horas escuro) a  $25 \pm 2$  °C durante 10 dias.

O crescimento micelial radial foi quantificado as 72, 96 e 120 horas após a repicagem através das médias de dois diâmetros diametralmente opostos, previamente marcados na parte externa do fundo da placa de Petri com auxílio de paquímetro digital, sendo os resultados obtidos utilizados para o cálculo do IVCM segundo a fórmula abaixo, e o crescimento expresso em milímetros por 24 horas ( $\text{mm } 24\text{h}^{-1}$ ):  $IVCM = ((D^{72h} - 0) + (D^{96h} - D^{72h}) + (D^{120h} - D^{96h})) / 3$ , onde, IVCM = Índice de Velocidade de Crescimento Micelial,  $D^{72h}$  = Diâmetro (mm) médio em 72 h de incubação,  $D^{96h}$  = Diâmetro (mm) médio em 96 h de incubação,  $D^{120h}$  = Diâmetro (mm) médio em 120 h de incubação.

Os Potencias individuais de IVCM (%IVCM) de cada isolado de *P. palmivora* foram determinados tomando-se como 100% o maior valor de IVCM médio encontrado. Os isolados de *P. palmivora* utilizados tiveram suas capacidades de crescimento micelial avaliadas para determinar quais os isolados apresentaram maior rapidez em colonização do meio.

**Tabela 1.** Isolados de *Phytophthora palmivora* da Coleção de Phytophthora Arnaldo Gomes Medeiros Departamento de Fitopatologia do Centro de Pesquisa da Lavoura Cacaueira (CEPLAC) utilizados.

REFERÊNCIA	HOSPEDEIRO/SUBSTRATO	LOCAL DE COLETA
245	Fruto	Itabuna-BA
250	Fruto	Eunápolis-BA
355	Raiz	Mucuri-BA
356	Raiz	Mucuri-BA
357	Raiz	Mucuri-BA
358	Plântulas	Mucuri-BA
359	Fruto	Mucuri-BA
360	Raiz	Itabela-BA
361	Raiz	Itamarajú-BA
362	Raiz	Itamarajú-BA
363	Raiz	Itamarajú-BA
364	Solo	Itamarajú-BA
365	Plântulas	Itabela-BA
839	Fruto	Roraima-RO
847	Fruto	Linhares-ES
848	Solo	Linhares-ES
1055	Solo	Eunápolis-BA
1056	Solo	Eunápolis-BA
1057	Solo	Nova Viçosa-BA
1060	Solo	Prado-BA
1189	Solo	Itabuna-BA

### **Produção de Esporos (PE) e Potencial de Produção de Esporos (%PE)**

Para avaliação da concentração de esporos do patógeno (zoósporos mL<sup>-1</sup>) foram utilizadas 10 placas de Petri para cada isolado. Após 10 dias de crescimento nas condições supracitadas, foram adicionados 8 mL de água destilada esterilizada gelada na superfície do meio. As placas foram mantidas a 5 ± 2 °C por 20 minutos e depois a 25 ± 2 °C por 25 minutos para a liberação dos zoósporos e a concentração foi estimada em câmara de Neubauer



após paralisação dos zoósporos com 20 µL de solução fixadora FAA (formol, álcool e ácido acético). O potencial individual EP (%PIE) dos isolados de *P. palmivora* avaliados foi determinado considerando como 100% o maior valor médio de EP encontrado.

### **Potencial de crescimento (%PC)**

O potencial de crescimento dos isolados de *P. palmivora* foi determinado pela média aritmética de seus percentuais individuais de velocidade de crescimento micelial (%IVCM) e percentual de potenciais individuais de esporulação (%PE), utilizando a fórmula:

$$\%PC = (\%IVCM + \%PE) / 2$$

### **Avaliação da agressividade e virulência através de área lesionada e AACPD**

Para avaliação da agressividade e virulência foram utilizados mamões da variedade ‘Sunrise Solo’ no estágio 2 de maturação (RITZINGER; SOUZA, 2000). Os mamões, após lavagem com detergente e água corrente, desinfetados em hipoclorito de sódio (1%) e secos a temperatura ambiente receberam disco de papel filtro embebido em suspensão de  $5 \times 10^5$  zoósporos mL<sup>-1</sup> de *P. palmivora* na região equatorial da fruta, em epiderme intacta. A testemunha foi inoculada substituindo a suspensão por ADE.

A avaliação da virulência é a medida relativa que indica a quantidade de doença que um isolado de um patógeno ocasiona no hospedeiro, que foi determinada pela medida da área de lesão estipulada em 4000 mm<sup>2</sup> e pela área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) estipulada em 5500. A avaliação da agressividade foi determinada pela capacidade que um isolado com a mesma virulência possui em causar uma quantidade semelhante de doença em menos tempo (NELSON, 1973).

### **Condução dos experimentos e análise estatística**

Os experimentos foram conduzidos sob temperatura de  $25 \pm 2$  °C, umidade relativa de  $70 \pm 5\%$  aferida com sensor Datalogger (HOBO<sup>®</sup>). Estes ensaios foram repetidos duas vezes em dois períodos diferentes.

Após dois dias de incubação a câmara úmida foi retirada e a área de lesão provocada pelos fitopatógenos foi mensurada a partir dos diâmetros em dois sentidos diametralmente

opostos, durante cinco dias, a cada 24h. Medido com auxílio de paquímetro digital, e aplicado à fórmula:  $S = (\pi \times D1 \times D2) / 4$ , sendo, **S** = área da colônia, **D1** = diâmetro1, **D2** = diâmetro2.

A Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) foi calculada pela expressão:  $AACPD = \{S [(y_i + y_{i+1})/2] \cdot (t_{i+1} - t_i)\}$ , onde, **y<sub>i</sub>** e **y<sub>i+1</sub>** corresponderam aos valores de área de lesão obtidos nas duas avaliações consecutivas, e **t<sub>i+1</sub> - t<sub>i</sub>** o intervalo de tempo entre as avaliações.

Em todos os experimentos foi utilizado o delineamento estatístico inteiramente casualizado. Para análise de variância, os dados foram submetidos à separação de médias efetuada pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) utilizado o programa SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2008).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Estudo *in vitro* das características de crescimento micelial e esporulação de isolados de *P. palmivora*

#### **Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) e Potencial de Velocidade de Crescimento Micelial (%IVCM)**

O crescimento micelial máximo a 120 horas de cultivo, obtidos pelo isolados testados de *P. palmivora* variou entre 27,72 mm para o isolado 355 e 81,62 mm para o isolado 356 (Tabela 2). Os isolados 356 (16,32 mm 24h<sup>-1</sup>), 363 (15,73 mm 24h<sup>-1</sup>), 839 (16,07 mm 24h<sup>-1</sup>), 1056 (14,70 mm 24h<sup>-1</sup>), 1060 (16,08 mm 24h<sup>-1</sup>), 1189 (14,98 mm 24h<sup>-1</sup>), não diferiram estatisticamente entre si, mas diferiram dos demais. Portanto, esses isolados apresentaram a mais alta velocidade de colonização no meio, por conseguinte, boa capacidade de se estabelecer no substrato alvo. Para os isolados 356 e 1060, foi observado crescimento micelial de aspecto altamente cotonoso. Considerando que o meio de cultura tem efeito sobre o crescimento micelial de fungos, a diferença na taxa de crescimento dos isolados pode esta relacionada à influência dos microrganismos na metabolização dos nutrientes presentes no meio CA com velocidades diferentes e com isto afetar a síntese de macromoléculas essenciais ao crescimento (GRIFFIN, 1994).

Os resultados de IVCM (Tabela 2) foram transformados em valores percentuais para obtenção do potencial de velocidade de crescimento micelial (%IVCM) dos isolados avaliados, sendo considerado como 100% o maior valor apresentado que foi do isolado 356, e posteriormente calculado os valores percentuais dos demais isolados. Os isolados de *P. palmivora* 356, 1060, 839 e 363 não diferiram estatisticamente entre si, demonstrando ótimo %IVCM quando comparados com os demais isolados (Figura 1A).

#### **Produção de Esporos (PE) e Potencial de Produção de Esporos (%PE)**

Os resultados da produção de esporo em placa (Tabela 3) mostraram que os isolados 356 (5,32 x 10<sup>6</sup> zoósporos mL<sup>-1</sup>), 358 (4,03 x 10<sup>6</sup> zoósporos mL<sup>-1</sup>), 363 (4,91 x 10<sup>6</sup> zoósporos mL<sup>-1</sup>), 1055 (4,31 x 10<sup>6</sup> zoósporos mL<sup>-1</sup>), 1056 (4,72 x 10<sup>6</sup> zoósporos mL<sup>-1</sup>), 1060 (5,81 x 10<sup>6</sup> zoósporos mL<sup>-1</sup>) e 1189 (4,63 x 10<sup>6</sup> zoósporos mL<sup>-1</sup>) apresentaram maior produção de esporos, diferindo dos demais isolados.

**Tabela 2.** Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) *in vitro* de *Phytophthora palmivora*.

Isolados	Diâmetro Médio das Colônias (mm)			IVCM (mm 24h <sup>-1</sup> )*
	Cultivo 72h	Cultivo 96h	Cultivo 120h	
355	16,62	22,17	27,72	5,54 a
364	17,78	23,71	29,64	5,92 b
245	21,82	29,10	36,37	7,27 b
365	21,95	29,27	36,59	7,31 b
362	24,09	32,13	40,16	8,03 b
360	27,27	36,38	45,48	9,09 b
250	35,20	46,80	58,50	11,70 c
847	37,02	49,37	61,71	12,34 c
848	38,49	51,32	64,15	12,83 c
359	39,23	52,31	65,39	13,07 c
1057	39,82	53,10	66,37	13,27 c
357	40,59	54,12	67,65	13,53 c
1055	42,24	56,32	70,90	13,91 c
358	42,17	56,23	70,29	14,05 c
361	42,31	56,42	70,53	14,10 c
1056	44,11	58,82	73,52	14,70 d
1189	44,94	59,93	74,91	14,98 d
363	47,19	62,92	78,65	15,73 d
839	48,22	64,30	80,37	16,07 d
1060	48,23	64,31	80,38	16,08 d
356	48,97	65,30	81,62	16,32 d
CV (%)				11,19

\*Os resultados representam as médias das 10 repetições. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

Os isolados 245, 355, 360, 362, 364, 365 e 839 não liberaram zoósporos sob as condições de cultivo utilizado nesse estudo (Tabela 3). Já os isolados 356, 1056, 1060 e 1189, apresentaram melhor crescimento micelial e melhor esporulação quando comparado com os demais isolados.

Foi observada variabilidade quanto ao potencial de velocidade de crescimento micelial e produção de esporos, possivelmente por ser tratar de isolados adaptados aos seus respectivos locais de coleta (Figura 1B). Assim como Monteiro et al., (2004), que observaram para os mesmos isolados, diferenças nas temperaturas preferenciais de esporulação. Além disso, a esporulação é afetada pelas condições de cultivo, tais como fonte de carbono (FRIELL et al., 2008), luminosidade, injúrias ao micélio (CASAS-FLORES et al., 2004), fonte de nitrogênio e pH (STEYAERT et al., 2010a; 2010b).

**Tabela 3.** Produção de esporos (PE) *in vitro* de *Phytophthora palmivora*.

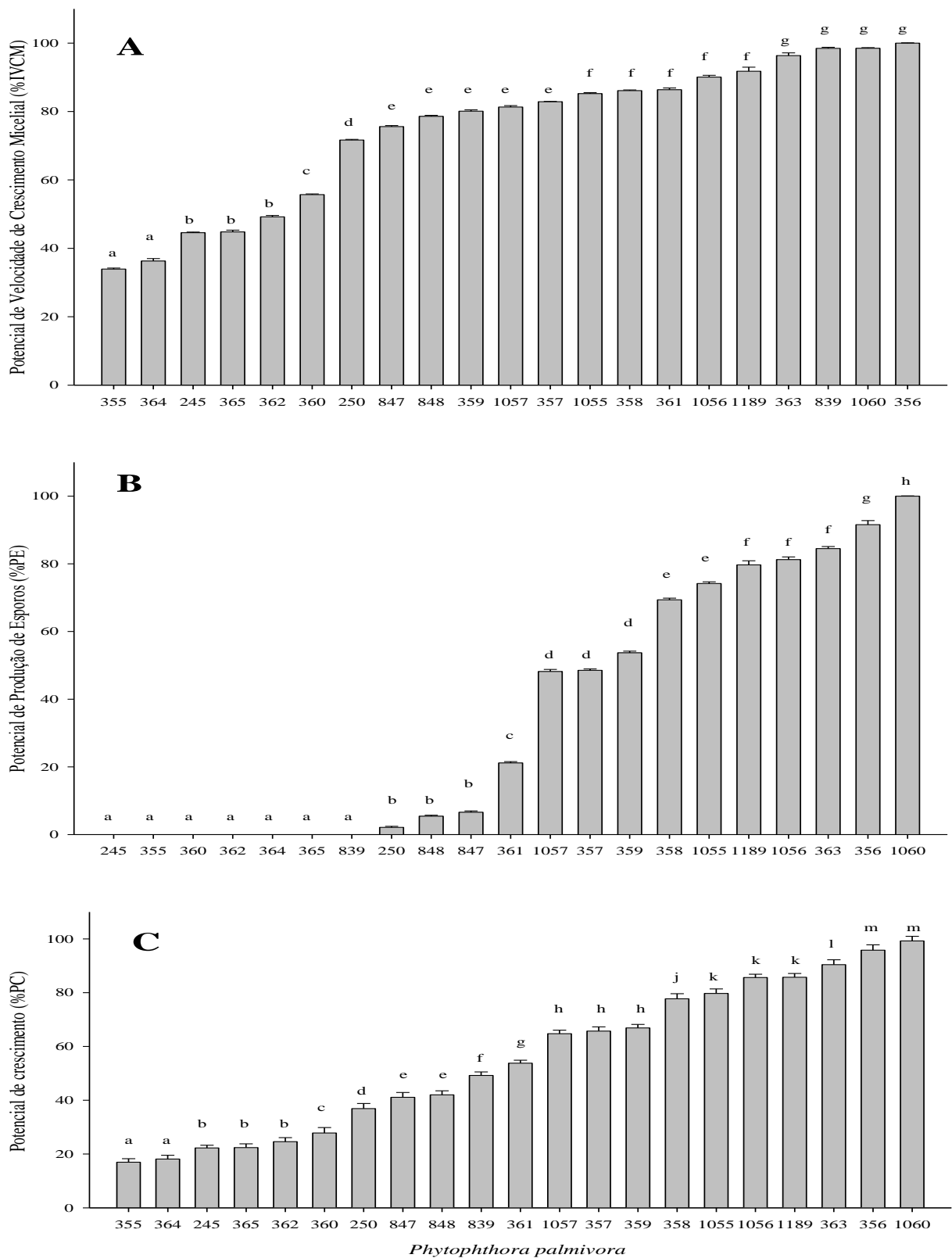
Isolados	PE (Concentração de zoósporos mL <sup>-1</sup> )
245	- a*
355	- a
360	- a
362	- a
364	- a
365	- a
839	- a
250	1,24 x 10 <sup>5</sup> a
361	1,23 x 10 <sup>6</sup> a
848	3,16 x 10 <sup>5</sup> a
1057	2,80 x 10 <sup>6</sup> b
357	2,82 x 10 <sup>6</sup> b
847	3,83 x 10 <sup>5</sup> a
359	3,12 x 10 <sup>6</sup> a
358	4,03 x 10 <sup>6</sup> c
1055	4,31 x 10 <sup>6</sup> c
1189	4,63 x 10 <sup>6</sup> c
1056	4,72 x 10 <sup>6</sup> c
363	4,91 x 10 <sup>6</sup> c
356	5,32 x 10 <sup>6</sup> c
1060	5,81 x 10 <sup>6</sup> c
CV (%)	14,63

\*Não liberaram zoósporos. Os resultados representam as médias de 10 repetições. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

### Potencial de crescimento (%PC)

A associação dos potenciais de velocidade de crescimento micelial (%IVCM) e potencial de esporulação (%PE) resultou no potencial de crescimento dos isolados avaliados (%PC). E os isolados 1060 e 356, apresentaram maiores %PC e diferiram estatisticamente dos demais (Figura 1C). Possivelmente, os isolados de maior %PC teriam maior capacidade de colonização na fruta em campo, por apresentarem bom crescimento micelial e esporulação (Figura 1C).

Pelos resultados apresentados nas Figuras 1, caso a seleção de um dos isolados avaliados fosse realizada pelo seu potencial de crescimento micelial, o isolado 356, 363, 839 e 1060 seria o mais agressivo, por apresentar um determinado crescimento total em relação aos demais isolados em menos tempo. Porém, se fosse feita pela capacidade de esporulação o mais agressivo seria o isolado 1060. No conjunto das características (Figura 1) os isolados 356 e 1060 foram os mais agressivos em relação ao estudo *in vitro*. Sendo observado, também que o isolado 839 apesar de ter um crescimento micelial muito rápido não produziu esporos.



**Figura 1.** Estudos *in vitro* dos potenciais de isolados de *Phytophthora palmivora*. A) Potencial de Velocidade de Crescimento Micelial (%IVCM); B) Potencial de Produção de Esporos (%PE); C) Potencial de crescimento (%PC). Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

**Estudo *in vivo* das características de crescimento micelial e esporulação de isolados de *P. palmivora* em mamão**

**Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) e Potencial de Velocidade de Crescimento Micelial (%IVCM)**

O crescimento micelial máximo a 120 horas de cultivo *in vivo* obtido pelo isolados testados de *P. palmivora* variou entre 31,43 mm para o isolado 362 e 71,46 mm para o isolado 356 (Tabela 4). O isolado 356 apresentou maior índice de velocidade de crescimento micelial diferindo dos demais. Apresentou também, alta velocidade de colonização na fruta quando comparado com os demais, comprovada pelo rápido desenvolvimento em meio de cultura e em mamão.

**Tabela 4.** Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) *in vivo* de *Phytophthora palmivora*.

Isolados	Diâmetros das Colônias (mm)			IVCM (mm 24h <sup>-1</sup> )*
	Cultivo 72h	Cultivo 96h	Cultivo 120h	
362	10,48	20,95	31,43	3,50 a
364	11,15	22,29	33,44	3,71 a
360	11,40	22,81	34,21	3,80 a
365	11,42	22,83	34,25	3,80 a
245	11,98	23,96	35,94	3,99 a
355	12,46	24,92	37,38	4,15 a
250	14,57	29,15	43,72	4,85 b
847	15,84	31,68	47,52	5,27 c
848	16,46	32,91	49,37	5,48 c
358	17,63	35,26	52,90	5,87 d
359	17,94	35,88	53,82	5,97 d
839	18,17	36,34	54,51	6,05 d
1057	18,80	37,60	56,40	6,26 e
357	19,04	38,07	57,11	6,34 e
1189	19,38	38,76	58,13	6,45 e
1055	19,56	39,11	58,67	6,51 e
361	19,70	39,40	59,10	6,56 e
1056	19,97	39,94	59,91	6,65 e
363	21,32	42,65	63,97	7,10 f
1060	22,04	44,07	66,11	7,34 f
356	23,82	47,64	71,46	7,94 g
CV (%)				8,32

\*Os resultados representam as médias das dez repetições. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

É relevante ressaltar que os isolados 356 e 1060 apresentaram crescimento micelial de aspecto altamente cotonoso quando crescidos em meio de cultura (CA) e na em fruta. Os resultados de IVCN (Tabela 4) foram transformados em valores percentuais para obtenção do potencial de crescimento micelial (%IVCM) dos isolados avaliados, sendo considerado como 100% o valor apresentado pelo isolado 356 e posteriormente calculado os valores percentuais dos demais isolados.

### Produção de Esporos (PE) e Potencial de Produção de Esporos (%PE)

Os resultados da produção de esporo em mamão (Tabela 5) mostraram que o isolado 356, apresentou maior produção de esporos, quando comparados com os demais. E os isolados 356 e 1060 se sobressaem em comparação aos outros isolados em relação à velocidade de crescimento micelial e esporulação tanto *in vivo* quanto *in vitro*.

**Tabela 5.** Produção de esporos (PE) *in vivo* de *Phytophthora palmivora*.

Isolados	PE (Concentração de zoósporos mL <sup>-1</sup> )
362	- a*
364	- a
245	7,40 X 10 <sup>4</sup> a
355	4,32 X 10 <sup>5</sup> a
1055	5,00 x 10 <sup>5</sup> a
363	5,20 x 10 <sup>5</sup> a
848	7,80 x 10 <sup>5</sup> a
1189	9,40 x 10 <sup>5</sup> a
365	1,16 X 10 <sup>6</sup> a
361	1,32 x 10 <sup>6</sup> a
250	1,46 x 10 <sup>6</sup> a
360	2,82 X 10 <sup>6</sup> a
1057	3,08 x 10 <sup>6</sup> a
839	3,52 X 10 <sup>6</sup> a
1056	8,12 x 10 <sup>6</sup> b
847	1,17 X 10 <sup>7</sup> c
359	1,20 X 10 <sup>7</sup> c
357	1,81 X 10 <sup>7</sup> d
358	3,58 X 10 <sup>7</sup> e
1060	5,44 X 10 <sup>7</sup> f
356	6,32 X 10 <sup>7</sup> g
CV (%)	27,56

\*Não liberaram zoósporos. Os resultados representam as médias de dez repetições. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).



Não houve liberação de zoósporos dos isolados 362 e 364 tanto nas condições de cultivo quanto nas *in vitro* aplicadas neste. Para obtenção de índices percentuais que expressem os potenciais de produção de esporos (%PE) em placa, foi tomado como 100% o valor apresentado por 356 e posteriormente efetuado os cálculos dos valores percentuais dos demais isolados.

### Potencial de crescimento (%PC)

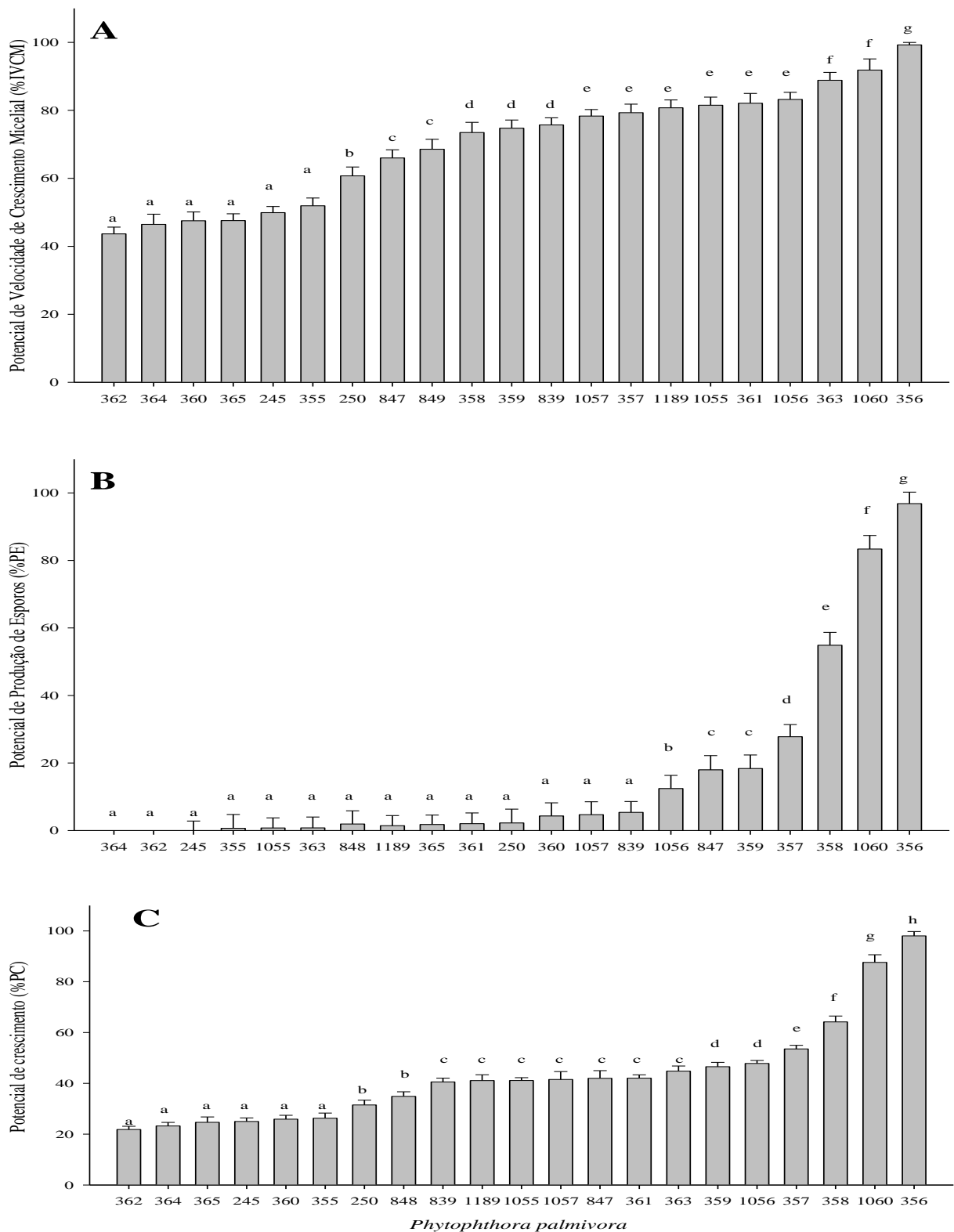
A associação dos potenciais de velocidade de crescimento micelial (%IVCM) e potencial de esporulação (%PE) *in vivo*, resultaram no potencial de crescimento dos isolados avaliados (%PC), estando os resultados apresentados na figura 6. Sendo o maior %PC obtido por 356, significativamente diferente dos demais ( $p \leq 0,05$ ).

Pelos resultados (Figuras 2), se a seleção de um dos isolados avaliados fosse realizada tanto pelo seu potencial de crescimento micelial quanto feita pela capacidade de esporulação seria o isolado 356. No conjunto das características (Figura 2C) 356 e 1060 se apresentaram como os mais agressivos em relação ao estudo *in vivo*.

**Tabela 6.** Matriz de correlação de crescimento micelial e esporulação de isolados de *P. palmivora* em mamão *in vitro* e *in vivo*. Na diagonal superior, correlação entre os componentes e na diagonal inferior, significância do teste.

	IVCM ( <i>in vitro</i> )	PE x 10 <sup>6</sup> ( <i>in vitro</i> )	IVCM ( <i>in vivo</i> )	PE x 10 <sup>6</sup> ( <i>in vivo</i> )
IVCM ( <i>in vitro</i> )	----	0,735 <sup>***</sup>	0,930 <sup>***</sup>	0,472 <sup>*</sup>
PE x 10 <sup>6</sup> ( <i>in vitro</i> )	<sup>(1)</sup> $p < 0,001$	----	0,846 <sup>***</sup>	0,698 <sup>**</sup>
IVCM ( <i>in vivo</i> )	$p < 0,001$	$p < 0,001$	----	0,660 <sup>**</sup>
PE x 10 <sup>6</sup> ( <i>in vivo</i> )	$p - 0,031$	$p - 0,01$	$p - 0,01$	----

IVCM = Índice de Velocidade de Crescimento Micelial; PE = Produção de Esporos; <sup>(1)</sup> Coeficiente de correlação de Pearson; \*Nível de significância de 5%; \*\* Nível de significância de 1%; \*\*\*Nível de significância < 1%;



**Figura 2.** Estudos *in vivo* dos potenciais de isolados de *Phytophthora palmivora*. A) Potencial de Velocidade de Crescimento Micelial (%IVCM); B) Potencial de Produção de Esporos (%PE); C) Potencial de crescimento (%PC). Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

A correlação do crescimento micelial e esporulação de isolados de *P. palmivora* em mamão *in vitro* e *in vivo* por meio do coeficiente de correlação de Pearson (Tabela 6), demonstram que a correlação foi positiva de 73,5% ( $p < 0,001$ ) entre Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) e Produção de esporo (PE) *in vitro* e de 66% ( $p - 0,01$ ) *in vivo*. Em relação ao IVCM *in vitro* e *in vivo* houve correlação positiva de 93% ( $p < 0,001$ ) e PE *in vitro* e *in vivo*, obtendo valores de 70% ( $p - 0,01$ ) e correlação, podendo afirmar que os isolados testados, quanto ao crescimento micelial e produção de esporos, se desenvolveram de forma estatisticamente iguais tanto em meio de cultura (CA) quanto na fruta. Para o IVCM *in vivo* e PE *in vitro* houve correlação significativa de 84,6% ( $p < 0,001$ ) (Tabela 6).

Nessas condições de estudo. Não existem relatos na literatura quanto ao estudo do desempenho desta natureza quanto às características avaliadas nesse patossistema.

### **Avaliação da agressividade e virulência através de área lesionada e AACPD**

Considerando a área de lesão estipulada em 4000 mm<sup>2</sup> em relação ao tempo, foi observado que o isolado 356 apresentou maior agressividade com área de lesão de 4008,54 mm<sup>2</sup> às 120 horas após inoculação, diferindo estaticamente dos demais isolados (Tabela 7). Portanto, houve variação quanto à agressividade entre os isolados oriundos do mesmo local de coleta. As quais podem ser explicadas por fatores externos, como diferenças edafoclimáticas das regiões de procedência, ou por fatores internos, sendo as diferenças entre espécies ou isolados da mesma espécie, resultado de suas características genéticas (RAM, 1993; PERREIRA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2008).

Os isolados 356, 357, 358, 359, 361, 363, 839, 1055, 1056, 1057, 1060 e 1189, provocaram severidade de doença semelhante no período de 144 horas após inoculação e foram os mais virulentos quando comparados aos demais isolados (Tabela 7). O isolado 356 apresentou maior AACPD, porém, o mesmo grau de virulência quando comparado com os demais isolados (Tabela 7).

Portanto, há variabilidade quanto à virulência e agressividade nos isolados do patógeno, sendo os mais virulentos: 356, 357, 358, 359, 361, 363, 839, 1055, 1056, 1057, 1060 e 1189, e os mais agressivos: 356 e 1060.

Poucos estudos foram realizados visando à compreensão do desenvolvimento da podridão dos frutos causada por *P. palmivora* porque esse tipo de infecção é considerado de baixa ocorrência para este patossistema. Contudo, neste estudo foi observado que a

variabilidade da agressividade e virulência influencia diretamente na infecção e severidade da podridão dos frutos e torna fundamental para o entendimento do ciclo da doença.

**Tabela 7.** Avaliação da agressividade e virulência através da mensuração da área lesionada por isolados de *Phytophthora palmivora* e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).

Isolado	Área lesionada (mm <sup>2</sup> )					AACPD
	48h	72h	96h	120h	144h	
362	0,00 a	88,85 a	355,41 a	799,68 a	1421,66 a	1954,78 a
364	0,00 a	100,03 a	400,12 a	900,27 a	1600,48 a	2200,67 a
365	0,00 a	104,63 a	418,54 a	941,71 a	1674,16 a	2301,97 a
360	0,00 a	104,73 a	418,94 a	942,61 a	1675,76 a	2304,17 a
245	0,00 a <sup>(1,2)</sup>	112,84 a	451,36 a	1015,57 a	1805,46 a	2482,50 a <sup>(3)</sup>
355	0,00 a	125,62 a	502,505 a	1130,63 a	2010,01 a	2763,77 a
250	0,00 a	168,47 b	673,91 b	1516,30 b	2695,65 b	3706,52 b
847	0,00 a	197,56 b	790,24 b	1778,06 b	3160,99 b	4346,37 b
848	0,00 a	214,70 b	858,83 b	1932,36 b	3435,32 b	4723,56 b
358	0,00 a	246,87 c	987,49 c	2221,86 c	3949,98 c	5431,22 c
359	0,00 a	254,42 c	1017,70 c	2289,82 c	4070,80 c	5597,35 c
839	0,00 a	259,80 c	1039,23 c	2338,28 c	4156,94 c	5715,80 c
1057	0,00 a	277,72 d	1110,89 d	2499,52 d	4443,59 d	6109,94 d
357	0,00 a	284,79 d	1139,19 d	2563,19d	4556,79 d	6265,59 d
1189	0,00 a	294,88 d	1179,52 d	2653,92 d	4718,08 d	6487,36 d
1055	0,00 a	300,39 d	1201,56 d	2703,51 d	4806,24 d	6608,58 d
361	0,00 a	305,11 d	1220,47 d	2746,06 d	4881,88 d	6712,59 d
1056	91,39 c	313,59 d	1254,36 d	2822,33 d	5017,47 d	6947,68 d
363	78,18 b	357,43 e	1429,74 e	3216,92 e	5718,97 e	7904,20 e
1060	103,27 d	381,45 e	1525,82 e	3433,09 e	6103,28 e	8538,65 e
356	125,02 e	445,39 f	1781,57 f	4008,54 f	7126,28 f	9865,30 f
CV (%)	18,93	16,65	14,32	15,87	13,75	13,79

<sup>(1)</sup>Médias de 10 repetições; <sup>(2)</sup>Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ); <sup>(3)</sup>AACPD = área abaixo da curva de progresso da doença calculada com base nas área de lesão de 48h; 72h; 96h; 120h; 144h após inoculação.

## REFERÊNCIAS

CASAS-FLORES, S.; RIOS-MOMBERG, M.; BIBBINS, M.; PONCE-NOVOLA, P.; HERRERA-ESTRELLA, A. BLR-1 and BRL-2, key regulatory elements of photoconidiation and mycelial growth in *Trichoderma atroviride*. **Microbiology**, v. 150, p. 3561-3569, 2004.

DANTAS, S. A. F.; OLIVEIRA, S. M. A. Doenças do mamão. In: OLIVEIRA, S. M. A.; TERAPO, D.; DANTAS, S. A. F.; TAVARES, S. C. C. O. (Eds.) **Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 855p.

DAY, J. P.; SHATTOCK, R. C. Aggressiveness and other factors relating to displacement of populations of *Phytophthora infestans* in England and Wales. **European Journal of Plant Pathology**, v. 103, p. 379-391, 1997.

ECKERT, J. W. Post-harvest diseases of citrus fruits. **Agriculture Outlook**, v. 54, p. 225-232, 1993.

FAO, FAOSTAT – FAO statistical data bases. Roma: World Agricultural Information Centre, 2010. Disponível em: <<http://apps.fao.org>>. Acesso em: 08/05/2010.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium** (Lavras), v. 6, p. 36-41, 2008.

FLIER, W. G.; TURKENSTEEN, L. J. Foliar aggressiveness of *Phytophthora infestans* in three potato growing regions in the Netherlands, **European Journal of Plant Pathology** v. 105, p. 381-388, 1999.

GRIFFIN, D. H. **Fungal physiology**. 2 ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1994. 444p.

IBGE. Produção Agrícola Municipal, 2010, Disponível em: <[www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/](http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/)> Acesso em: 08/05/2010.

JACKISCH - MATSUURA, A. B.; MENEZES, M. Effect of *Trichoderma* ssp. In the control of *Pythium aphanidermatum* in tobacco (*Nicotiana tabacum*), **Summa Phytopathologica**, v. 25, n. 2, p. 161-164, 1999.

KANNWISCHER, M. E.; MITCHELL, D. J. The influence of a fungicide on the epidemiology of black shank of tobacco. **Phytopathology**, v. 68, p. 1760-1765, 1978.

KO, W. H. *Phytophthora* fruit rot and root rot In: PLOETZ, R.C. **Compedium of tropical fruit diseases**, American Phytopathological Society, 1994, pp. 61-62

LUZ, E. D. M. N. O Gênero *Phytophthora* no Brasil. In: XXXIX Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Salvador-BA, **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 80, 2006.

LUZ, E. D. M.N.; MATSUOKA, K. *Phytophthora*: Fungo protista ou Chromista?. In: LUZ, E. D. M.N.; SANTOS, A. F.; MATSUOKA, K.; BEZERRA, J. L. (Eds.). **Doenças causadas por Phytophthora no Brasil**. Livraria e Editora Rural, 2001, pp.1-21.

MENDES, M. A. S.; SILVA, V. L.; DIANESE, J. C. [et al.] **Fungos em plantas no Brasil**, EMBRAPA/CENARGEN, p. 53-54, 1998.

MONTEIRO, A. C.; BARBOSA, C. C.; CORREIA, A. C. B.; PEREIRA, G. T. Crescimento e esporulação de isolados de *Verticillium lecanii* sob diferentes fatores ambientais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 6, p. 561-565, 2004.

NELSON, R. R. **Breeding plants for disease resistance: concepts and applications**. University Park, Pennsylvania State University Press, 1973. 401p.

OLIVEIRA, S. M. A.; TERAQ, M.; DANTAS, S. A. F.; TAVARES, S. C. C. H. **Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais**, Brasília, DF: Embrapa informação tecnológica, 2006. 855 p.

OLIVEIRA, T. A. S.; OLIVEIRA, S. M. A.; MICHEREFF, S. J.; CÂMARA, M. P. S.; COSTA, V. S. O.; LINS, S. R. O. Efeito do estágio de maturação, tipo de inóculo e local de inoculação na severidade da podridão peduncular em manga. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, p. 409-414, 2008.

PEREIRA, A. L.; SILVA, G. S.; RIBEIRO, V. Q. Caracterização fisiológica, cultural e patogênica de diferentes isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 572-578, 2006.

RAM, C. Características culturais, esporulação e violência do “strain” do *Botryodiplodia theobromae*, agente causal da queima-das-folhas do coqueiro (*Cocos nucifera*). **Fitopatologia Brasileira**, v. 18, p. 143-146, 1993.

REZENDE, J. A. M.; MARTINS, M. C. Doenças do mamoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo. Ed. Agronômica Ceres Ltda, 2005, pp.436-443.

RITZINGER, C. H. S. P.; SOUZA, J. S. (org.) **Mamão: Fitossanidade**. Cruz das Almas: EMBRAPA, 2000. 91p.

SILVA, da G. S. Podridão das raízes e dos frutos do mamoeiro. In: LUZ, E. D. M. N.; SANTOS, dos A. F.; MATSUOKA, K.; BEZERRA, L. J. **Doenças causadas por Phytophthora no Brasil**. Livraria e Editora Rural, 2001, pp. 413-432.

SILVEIRA, N. S. S.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R.; MAIA, L. C.; OLIVEIRA, S. M. A. Hongos fitopatogênicos associados a frutos comercializados em Recife, Pernambuco (Brasil). **Boletín Micológico**, Valparaiso, v. 16, p. 41-47, 2001.

STEYAERT, J. M.; WELD, R. J.; STEWART, A. Isolate-specific conidiation in *Trichoderma* in response to different nitrogen sources. **Fungal Biology**, v. 114, n. 2-3, p. 179-188, 2010a.

STEYAERT, J. M.; WELD, R. J.; STEWART, A. Ambient pH intrinsically influences *Trichoderma* conidiation and colony morphology. **Fungal Biology**, v. 114, n. 2-3, p. 198-208, 2010b.

ZAMBOLIM, L.; DO VALE, F. X. R.; MONTEIRO, A. J. A.; COSTA, H. **Controle de doenças de plantas: fruteiras**, v. 1. Viçosa, 2002. 674p.



## Capítulo II

---

---

**Temperatura, período de molhamento e concentração de zoósporos de *Phytophthora palmivora* afetam a severidade da podridão-dos-frutos do mamoeiro na pós-colheita**

## RESUMO

A podridão dos frutos causada por *Phytophthora palmivora* é uma das principais doenças pós-colheita que acomete o mamão e outras culturas de relevância econômica. Este patógeno é considerado polífago e cosmopolita que depende de água no solo e na superfície das plantas para completar seu ciclo de vida, portanto, a doença está relacionada com períodos chuvosos e solos úmidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da temperatura (15, 20, 25, 30 e 35 °C), do período de molhamento (0, 12, 24, 36, 48, 60, 72 horas) e da concentração de inóculo ( $10^1$ ,  $10^2$ ,  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  e  $10^7$  zoósporos mL<sup>-1</sup>) de quatro isolados de *P. palmivora* (356 e 1060), provenientes do sul da Bahia e (847 e 848) do norte do Espírito Santo, sobre a severidade da podridão dos frutos em mamão ‘Sunrise Solo’ na pós-colheita. Foram observados sintomas da doença para os quatro isolados de *P. palmivora* na maior concentração de inóculo utilizada ( $10^7$  zoósporos mL<sup>-1</sup>), temperaturas entre 20 e 35 °C e período de molhamento de 24 a 72 horas. Contudo o isolado 356 foi o mais virulento, pois causou maiores lesões nos frutos 7126,29 mm<sup>2</sup> a 25 °C e 72h. Ao serem comparados à quantidade de propágulos (zoósporos mL<sup>-1</sup>) necessários para iniciar a infecção, observou-se que a concentração crítica (CI<sub>cri</sub>) entre os isolados foi de  $10^3$  zoósporos mL<sup>-1</sup> para os isolados 356 e 1060 e  $10^4$  zoósporos mL<sup>-1</sup> para os isolados 847 e 848.

**Palavras-chave:** Condições ambientais favoráveis; *Carica papaya*; Podridão pós-colheita.

## ABSTRACT

*Phytophthora palmivora* postharvest papaya fruit-rot is one of the most important diseases on *Carica papaya* and other crops. For infection, this ubiquitous and polyphagous pathogen is dependent of water on surface of plants and on soil. Therefore, this disease is related to rainy periods and wet soil. The objective of this study was to evaluate the influence on papaya ('Sunrise Solo') fruit-rot severity of temperature (15, 20, 25, 30 e 35 °C), fruit surface wetness (0, 12, 24, 36, 48, 60, 72 h), and, zoospore concentration ( $10^1$ ,  $10^2$ ,  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  e  $10^7$  zoospores mL<sup>-1</sup>) of four *P. palmivora* isolates. Two pathogen isolates (356 e 1060) were collected from infected fruit in Bahia State and two (847 e 848) collected from fruit in Espírito Santo State. All four isolates of *P. palmivora* induced a significantly amount of disease from  $10^5$  to  $10^7$  zoospores mL<sup>-1</sup> when fruits were kept at 20 to 35 °C and fruit wetness period ranged from 24 to 72 h. The isolate 356 was the most virulent, inducing fruit lesion over 7126.29 mm<sup>2</sup> at 25 °C and 72 h of wetness period. The critical concentration (CI<sub>cri</sub>) of zoospores for lesion initiation was  $10^3$  zoospores mL<sup>-1</sup> for 356 and 1060 isolates, and  $10^4$  zoospores mL<sup>-1</sup> for 847 and 848 isolates.

**Keywords:** Favorable environmental condition; *Carica papaya*; Postharvest fruit-rot

## INTRODUÇÃO

O Brasil por sua extensão e localização nas zonas de clima tropical e subtropical é bastante representativo no cenário mundial para o cultivo de diferentes variedades de frutíferas nativas e exóticas, tais como: abacaxi, manga, mamão, banana, citros, melão e outras (OLIVEIRA, 2008).

O cultivo do mamoeiro, com destaque para a região sul da Bahia, apresenta diversos problemas fitossanitários, tais como: pragas, doenças fúngicas, bacterianas e virais influenciadas por variações climáticas (SILVA, 2001). Entre elas destaca-se a podridão de raízes e dos frutos causada por *Phytophthora palmivora* (Butler) Burtler, uma espécie cosmopolita e patogênica a diversas outras plantas cultivadas, não só de importância comercial para a Bahia, como de grande representatividade no mundo, entre elas, o cacauzeiro, a seringueira, o coqueiro, a pupunheira, plantas cítricas e o abacaxizeiro (LUZ; MATSUOKA, 2001).

O processo infeccioso nas doenças causadas por fungos inicia-se com a germinação do esporo sob condições favoráveis, envolvendo temperatura, umidade relativa, nível adequado de pH, presença de nutrientes e oxigênio, entre outros (ZAMBOLIM et al., 2002; AGRIOS, 2005). As doenças pós-colheita, de modo geral, são favorecidas por temperaturas médias de 20 a 25 °C e umidade relativa em torno de 90%. Assim, tais fatores influenciam na germinação e crescimento micelial dos patógenos sendo, portanto, limitantes à ocorrência de doenças, pois patógenos pós-colheita requerem alta umidade e água livre (sob forma de gotículas) para germinação e penetração do tubo germinativo no hospedeiro (AGRIOS, 2005). Além disso, esses fatores podem contribuir para aumentar a suscetibilidade das plantas a certos patógenos e afetam também a incidência e a severidade da doença (OLIVEIRA et al., 2006). Altos teores de umidade são benéficos ao fruto na cultura do mamão, pois influenciam na manutenção da turgidez e na redução da perda de água (SILVEIRA et al., 2001; ADASKAVEG et al., 2002; LIMA FILHO et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2008).

Outro fator preponderante ao processo infeccioso é a quantidade de inóculo viável, cujo aumento na concentração geralmente é proporcional ao aumento do nível ou da taxa de infecção, embora existam fungos causadores de podridões pós-colheita que mesmo em baixa concentração de inóculo atingem o nível máximo de doença (SILVEIRA et al., 2001; 2003). Para testes de patogenicidade, bem como para estudos genéticos, citológicos e epidemiológicos torna-se necessário o estabelecimento da concentração ideal de esporos para permitir a adequada reprodução dos sintomas. A falta de padronização da concentração das

suspensões de inóculo tem sido apontada como a principal causa da alta variabilidade de dados obtida em experimentos realizados sob condições de ambiente controlado (PEREIRA et al., 1998).

Existem poucos estudos sobre o desenvolvimento da podridão dos frutos de mamoeiro, principalmente relacionando os fatores ambientais (temperatura e umidade) com a concentração de inóculo do patógeno e a severidade da doença. Como são estudos fundamentais para o entendimento do progresso das podridões pós-colheita, bem como para o estabelecimento de estratégias de manejo da doença (BORGES NETO et al., 2000; SILVEIRA et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2006), procurou-se neste trabalho avaliar a influência da temperatura, do período de molhamento e da concentração de inóculo de dois isolados provenientes do sul da Bahia e dois isolados do norte do Espírito Santo sobre a severidade da podridão dos frutos em mamão cv. Sunrise Solo causada por *P. palmivora* na pós-colheita.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Inóculo e inoculação

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Phytophthora, Seção de Fitopatologia do Centro de Pesquisa do Cacau da CEPLAC, Bahia, Brasil. Foram utilizados os isolados de *P. palmivora* provenientes da Bahia (356 e 1060) e do Espírito Santo (847 e 848), pertencentes à Coleção de Phytophthora Arnaldo Gomes Medeiros, sediada no CEPEC.

Os isolados foram repicados para placas de Petri, contendo meio seletivo PARPH (KANNWISCHER; MITCHELL, 1978) e acondicionados por cinco dias ao abrigo da luz a temperatura de  $25 \pm 2$  °C. Depois, foram repicados discos de 5 mm de diâmetro das culturas para o meio de cultivo cenoura-ágar (CA). As placas foram mantidas sob luz contínua a  $25 \pm 2$  °C durante nove dias para a esporulação. Após a inoculação em frutos de mamoeiro e manifestação dos sintomas, os quatro isolados foram reisolados em meio seletivo. E as culturas foram mantidas em tubos de ensaio contendo CA e preservadas pelo método de Castellani para estudos posteriores.

As suspensões de *P. palmivora* foram obtidas a partir de 20 placas contendo esporângios do patógeno. A cada placa foram adicionadas 8 mL de água destilada esterilizada gelada. Para liberação dos zoósporos, as placas foram submetidas a choque térmico ( $5 \pm 2$  °C) por 20 minutos, seguido de ( $25 \pm 2$  °C) por 25 minutos. Posteriormente, a concentração de zoósporos foi determinada e padronizada utilizando câmara de Neubauer (Hemocitômetro), adicionando-se 20 µL de solução fixadora FAA (formol, álcool e ácido acético) a amostra para a paralisação e contagem dos zoósporos.

Em todos os experimentos foram utilizados frutos sadios de mamão da variedade Sunrise Solo no estágio 2 de maturação (RITZINGER; SOUZA, 2000), proveniente de pomares da Fazenda Alegria, localizada no município de Vera Cruz-BA. Para todos os tratamentos os frutos de mamão foram previamente lavados com sabão e água corrente e desinfetados superficialmente com solução em hipoclorito de sódio (NaClO) a 1% e secos a temperatura ambiente.

### **Influência da concentração de inóculo**

As frutas foram inoculadas na região equatorial da epiderme, com as suspensões dos quatro isolados de *P. palmivora* nas concentrações de  $10^1$ ,  $10^2$ ,  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  e  $10^7$  zoósporos  $\text{mL}^{-1}$ , utilizando disco de papel filtro (DPF) embebidos nas suspensões.

Os tratamentos foram submetidos à câmara úmida, compostas por saco plástico e papel toalha umedecidas com água destilada esterilizada (ADE) e acondicionadas em BOD a  $25 \pm 2$  °C por 72 horas. Depois de retirada a câmara úmida, os frutos foram mantidos na mesma temperatura e avaliados durante seis dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, representado por sete concentrações de inóculo e quatro isolados do patógeno em 10 repetições. A unidade experimental foi representada por uma fruta inoculada.

### **Influência do período de molhamento**

Os frutos após a secagem foram colocados sobre tampas de placas de Petri e armazenados em bandejas plásticas medindo 26 x 40 cm forradas com quatro camadas de papel toalha embebidas em ADE. As inoculações foram feitas com disco de papel filtro estéril (DPF) de 5 mm de diâmetro embebidos em suspensões dos isolados de *P. palmivora* ajustadas para a concentração de  $10^6$  zoósporos  $\text{mL}^{-1}$ , conforme descrito acima, em seguida depositados na região equatorial da superfície intacta das frutas. As frutas assim inoculadas com os quatro isolados de *P. palmivora* foram submetidas a diferentes períodos de molhamento: 0, 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas em câmara úmida, sendo armazenados à temperatura de  $25 \pm 2$  °C em BOD. As testemunhas foram submetidas às mesmas condições, com o inóculo substituído por ADE.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro isolados de *P. palmivora* e sete períodos de molhamento com 10 repetições cada. A unidade experimental foi representada por uma fruta inoculada em um ponto. O experimento foi conduzido duas vezes consecutivas.

### **Influência da temperatura**

Frutos de mamoeiro inoculados com DPF na concentração  $10^6$  zoósporos  $\text{mL}^{-1}$  foram submetidos à câmara úmida por 72 horas e incubados em BOD a temperaturas de 15, 20, 25, 30 e  $35 \pm 2$  °C. A severidade da doença foi mensurada seis dias depois de retirada a câmara

úmida. Nos frutos testemunha o inóculo foi substituído por ADE. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro isolados de *P. palmivora* e seis temperaturas com 10 repetições cada. A unidade experimental foi constituída por uma fruta inoculada em um ponto.

### **Análises estatísticas**

Todos os experimentos foram realizados em duplicata com intervalo de 30 dias para comprovação dos resultados.

Para determinação da influência da temperatura, período de molhamento e concentração de inóculo na severidade da podridão de frutos de mamoeiro procedeu-se à avaliação dos sintomas da doença com intervalo de 24 horas durante seis dias depois de retirada a câmara úmida. A severidade foi mensurada determinando-se a área lesionada externa através da medição do diâmetro da lesão em dois sentidos diametralmente opostos com auxílio de um paquímetro digital. O valor de cada leitura foi subtraído do diâmetro inicial do disco de papel (5 mm), obtido pela fórmula:  $S = (\pi \times D1 \times D2) / 4$ ; Sendo: S = área da lesão; D1 = diâmetro1; D2 = diâmetro2.

Os diâmetros médios das lesões obtidas para todos os tratamentos foram submetidos à análise de regressão linear, não-linear e múltipla, para selecionar os modelos com os melhores ajustes às curvas de severidade da podridão dos frutos, com base no coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e no quadrado médio do resíduo (QMR), enquanto a significância das regressões foi verificada pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. Todas as análises de regressão foram efetuadas com o auxílio do programa Sigma Plot<sup>TM</sup> 11 (SYSTAT Software Inc. Chicago - IL, USA, 2008). Para análise de variância, os dados foram submetidos à separação de médias efetuada pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ), utilizando o programa SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2008).



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando comparados os dois experimentos montados em março e abril de 2010, não houve diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ), sendo possível realizar a análise conjunta dos dados.

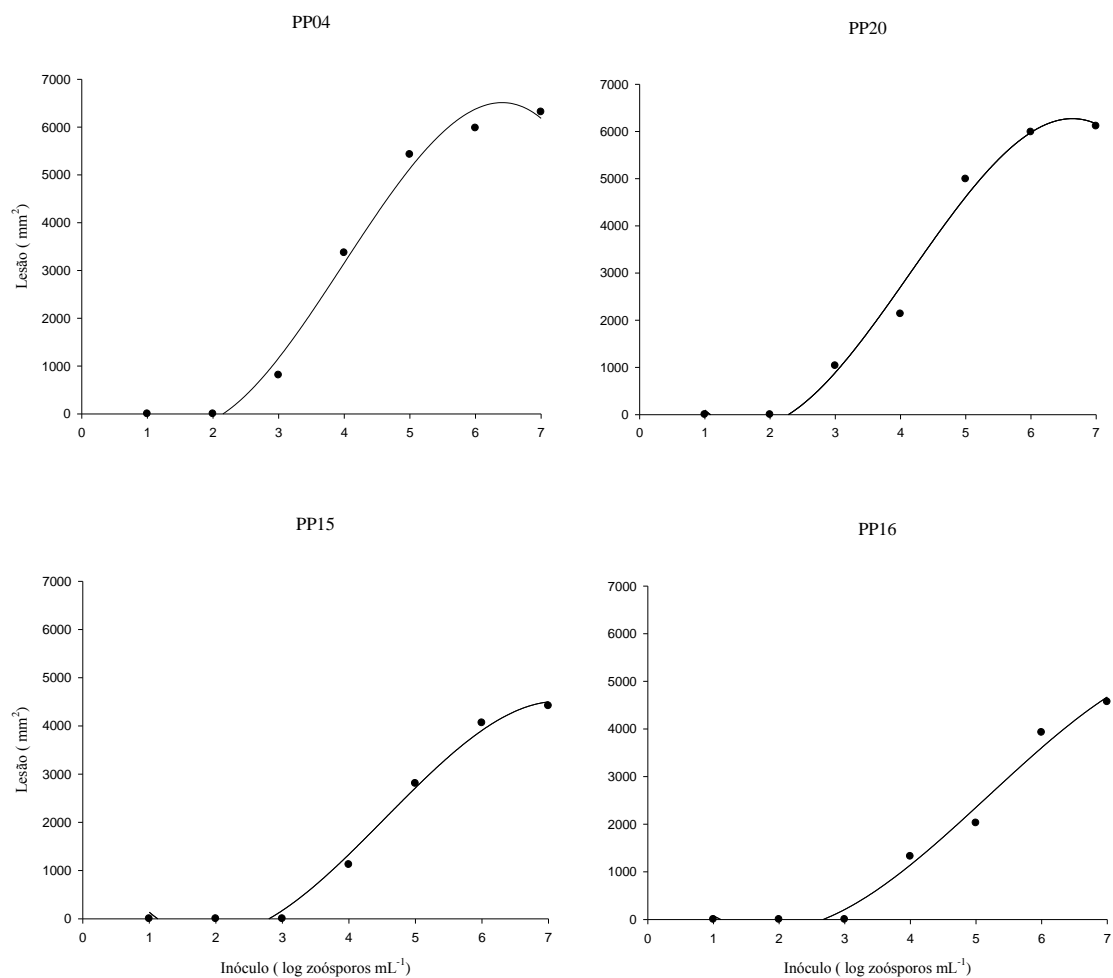
### Influência da concentração de inóculo

A concentração de inóculo de *P. palmivora* influenciou significativamente na severidade da podridão dos frutos, sendo que a maior concentração aplicada ( $10^7$  zoósporos  $\text{mL}^{-1}$ ) ocasionou maiores áreas de lesão nos frutos pelos quatro isolados testados, com valores entre de  $4414,12 \text{ mm}^2$  (847) a  $6312,45 \text{ mm}^2$  (356) (Figura 1).

Na análise de variância, a interação entre concentrações de inóculo e isolados foi significativa. Não foram observados sintomas da doença nos frutos inoculados com os isolados 356 e 1060 na concentração de  $10^2$  zoósporos  $\text{mL}^{-1}$  assim como para os isolados 847 e 848 nas concentrações de  $10^2$  e  $10^3$  zoósporos  $\text{mL}^{-1}$  (Tabela 1). O modelo polinomial cúbico:  $y = y_0 + ax + bx^2 + cx^3$ , onde  $y$  = área lesionada e  $x$  = concentração de inóculo, proporcionou excelente ajuste das curvas de progresso da severidade da doença em função das concentrações de inóculo, com coeficientes de determinação ( $R^2$ ) variando entre 98,4% (848) a 99,07% (356) (Tabela 2). Foi observado que os isolados provenientes do estado da Bahia e do Espírito Santo se comportaram de maneira semelhante.

As áreas lesionadas aumentaram com o incremento da concentração de inóculo de *P. palmivora* (Figura 1), entretanto, a presença de sintomas em baixas concentrações variou sensivelmente entre os isolados estudados, visto que para ocorrer o processo da infecção é necessário que exista uma quantidade mínima viável de inóculo (OLIVEIRA et al., 2008).

O aumento da severidade da podridão dos frutos com a elevação da concentração de inóculo do patógeno destaca a importância da redução do inóculo para minimizar os riscos de epidemias na pós-colheita (OLIVEIRA et al., 2006), uma vez que a disponibilidade e a quantidade de inóculo são pré-requisitos para o surgimento de infecções. Em vários patossistemas a ocorrência de epidemias em um curto espaço de tempo está diretamente ligada ao número de propágulos do patógeno dentro ou próximo dos campos com plantas hospedeiras (VALE et al., 2004).



**Figura 1.** Influência da concentração de inóculo de quatro isolados de *Phytophthora palmivora* na severidade (área lesionada) da podridão dos frutos de mamoeiro, seis dias depois de retirada a câmara úmida.

Os dois isolados provenientes do estado da Bahia (356 e 1060) foram mais virulentos e agressivos do que os dois isolados provenientes do Espírito Santo (847 e 848). Os grupos ficaram estatisticamente bem definidos quanto ao grau de semelhança e diferença da virulência dentre e entre os estados de origem (Tabela 1).

Tal comportamento ficou bem caracterizado quando comparadas as concentrações crítica ( $CI_{cri}$ ) entre os isolados que foi de  $10^3$  zoósporos  $mL^{-1}$  para os isolados 356 e 1060 e  $10^4$  zoósporos  $mL^{-1}$  para os isolados 847 e 848 (Tabela 2). Portanto, os isolados 356 e 1060 requereram menor quantidade de propágulos (zoósporos  $mL^{-1}$ ) para iniciar o processo de infecção da doença.

**Tabela 1.** Efeito da concentração de inóculo de isolados de *Phytophthora palmivora* na severidade da podridão dos frutos em mamão na pós-colheita, seis dias depois de retirada a câmara úmida.

	Log zoósporo mL <sup>-1</sup>			
	356	847	848	1060
1	0,00 <sup>(1)</sup> aA <sup>(2)</sup>	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
2	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
3	809,87 bB	0,00 aA	0,00 aA	1034,32 bB
4	3367,40 cC	1122,15 bA	1323,32 bA	2133,78 cB
5	5424,71 dD	2804,06 cB	2023,34 cA	4989,45 dC
6	5977,46 eB	4061,37 dA	3923,90 dA	5984,59 eB
7	6312,45 eB	4414,12 dA	4567,32 eA	6112,32 eB
C.V.(%)	10,79			

<sup>(1)</sup>Área média de crescimento micelial de *P. palmivora* em mm<sup>2</sup> referente a 20 repetições;

<sup>(2)</sup>Valores seguidos pela mesma letra minúscula em cada coluna e mesma letra maiúscula em uma linha, não diferem estatisticamente, segundo o teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

Para os isolados 356, 847 e 1060 as áreas de lesão provocadas nos frutos quando inoculados nas concentrações  $10^6$  e  $10^7$  zoósporos mL<sup>-1</sup> não diferiram significativamente pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ), enquanto para o isolado 848 houve diferença entre estas concentrações, sendo mais severos os sintomas obtidos na concentração mais alta utilizada no experimento (Tabela 1).

Variações na agressividade entre isolados podem ser explicadas por fatores externos, como diferenças edafoclimáticas das regiões de procedência ou por fatores internos, sendo as diferenças entre isolados da mesma espécie, resultado de suas características genéticas (RAM, 1993; PERREIRA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2008).

### **Influência da temperatura e do período de molhamento**

As maiores lesões características da podridão dos frutos causada por *P. palmivora*, foram observadas para os quatro isolados quando submetidos ao período de molhamento entre 60 às 72h e a temperatura variando de 25 a 30 °C (Figura 2), ou seja, a alta umidade estimulou o processo de infecção por *P. palmivora* e/ou aumentou a suscetibilidade do hospedeiro, influenciando na taxa de progresso da doença, considerando a maior severidade observada neste estudo (CHITARRA; MEYER, 2004).

**Tabela 2.** Equações de regressão, coeficiente de determinação ( $R^2$ ), concentrações ótimas ( $CI_{oti}$ ) e concentrações críticas ( $CI_{cri}$ ) estimadas para a relação entre concentração de inóculo (CI) de *Phytophthora palmivora* e severidade (área lesionada = AL) da podridão dos frutos de mamoeiro.

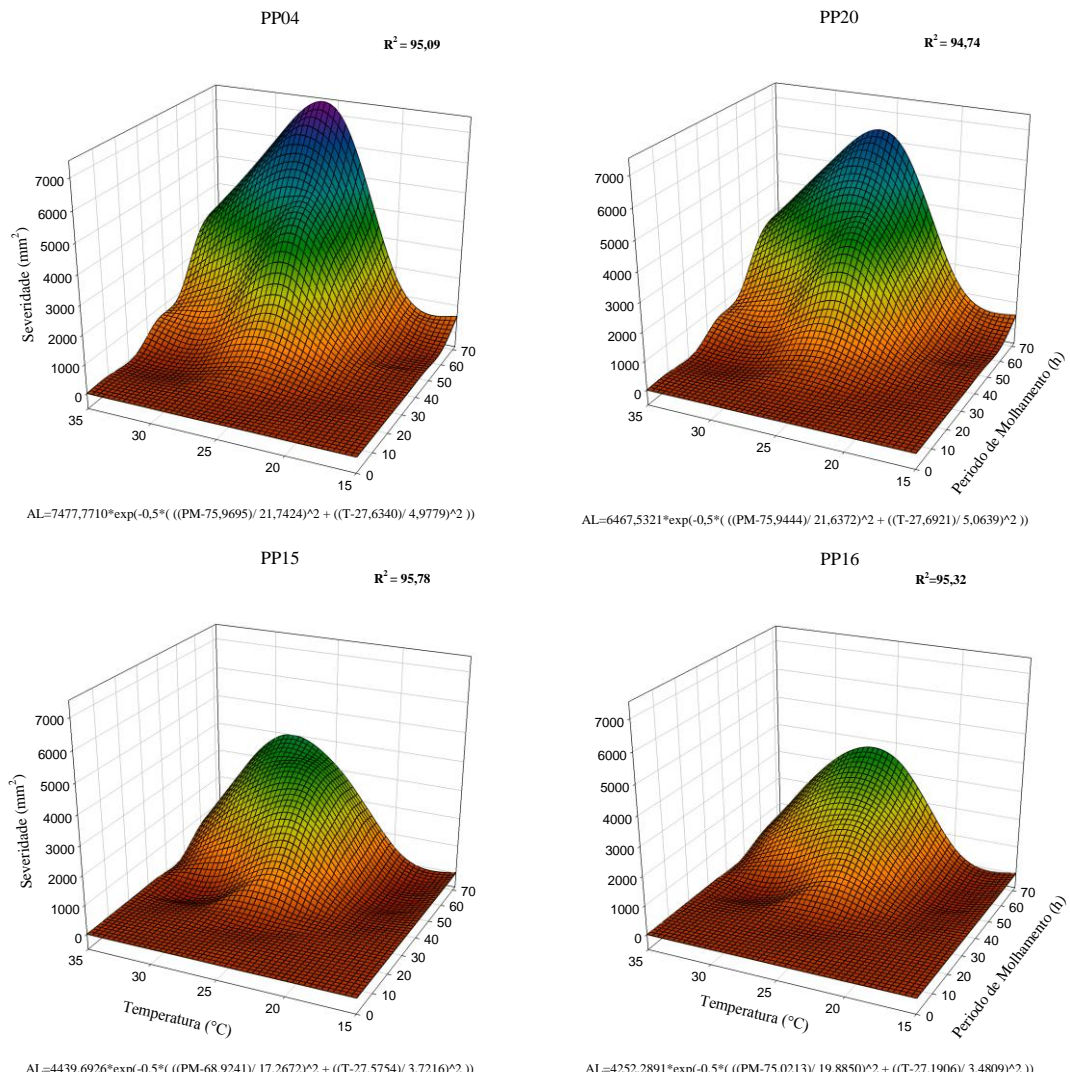
Interação	Equação	$R^2$ (%)	$CI_{oti}$ (zoósporos mL <sup>-1</sup> )	$CI_{cri}$
Isolado/Mamão				
356	$AL = 2247,5 - 3548CI + 1419,3CI^2 - 118,88CI^3$	99,07	$10^7$	$10^3$
1060	$AL = 2391,5 - 3512CI + 1322,9CI^2 - 106,32CI^3$	98,81	$10^7$	$10^3$
847	$AL = 2080,2 - 2801,9CI + 926,27CI^2 - 68,092CI^3$	98,86	$10^7$	$10^4$
848	$AL = 1342,5 - 1822,4CI + 596,56CI^2 - 38,331CI^3$	98,40	$10^7$	$10^4$

Embora o elevado teor de umidade relativa esteja relacionado à manutenção da turgidez e na redução das perdas de água no fruto, pode ser favorável ao desenvolvimento de doenças (CHITARRA; CHITARRA, 2005). No campo, a podridão dos frutos causada por *P. palmivora* pode ser favorecida pela formação de orvalho e pelas diferenças de temperatura entre o dia e a noite que também propicia períodos de molhamento nas primeiras horas do dia. Além disso, a interrupção dos períodos de molhamento pelos dias secos pode ser compensada pela umidade propiciada por algumas práticas culturais, como irrigação por aspersão, que é comumente usada na cultura do mamão (KURT; TOK, 2006).

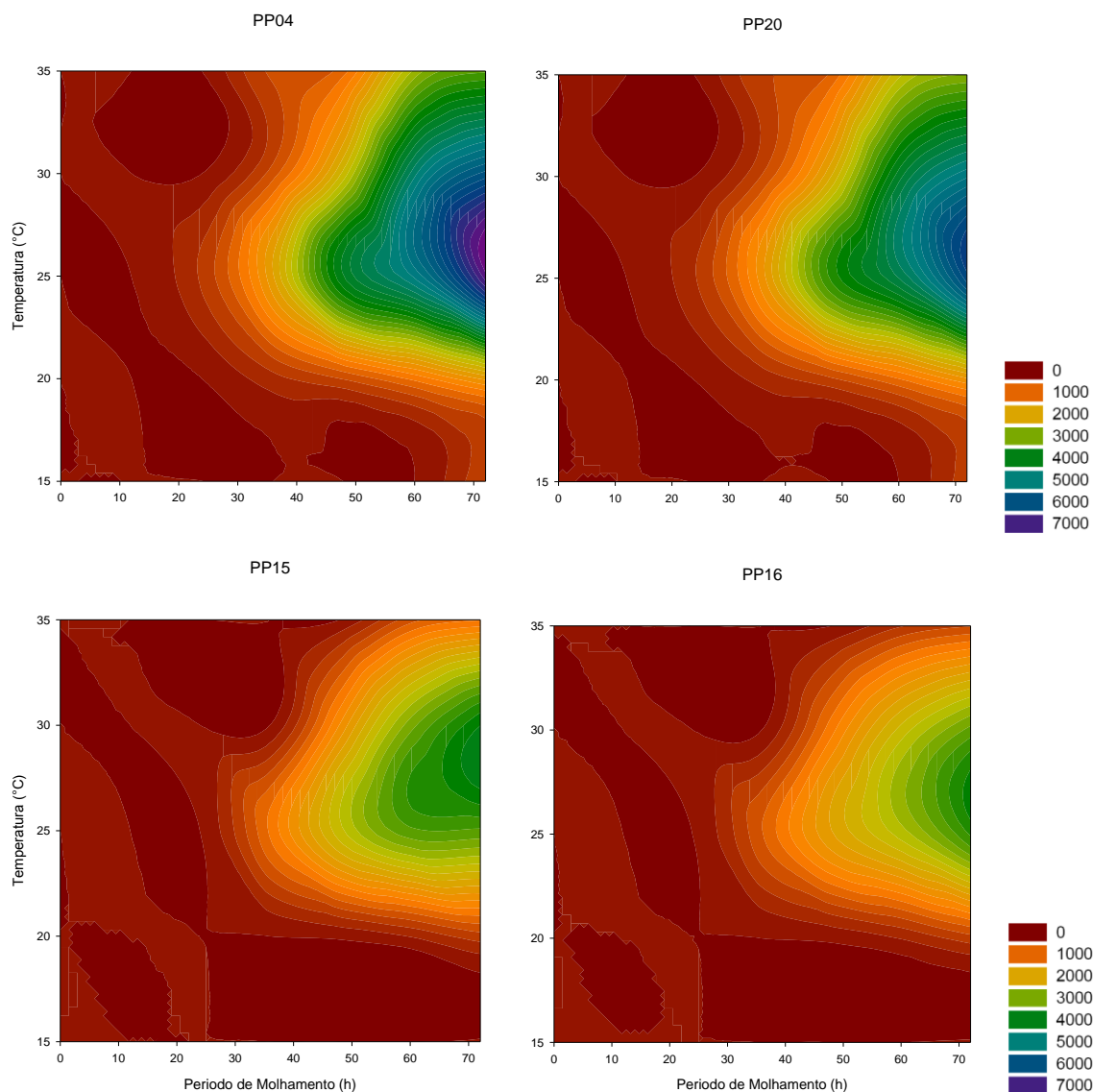
A temperatura influenciou significativamente na severidade da podridão dos frutos. O incremento da temperatura de 15 °C para 25 °C proporcionou um aumento na severidade da doença, enquanto a partir de 30 °C, na maioria das situações, ocorreu uma redução na área lesionada (Figuras 2 e 3).

Em trabalhos com outros patossistemas (*Nectria galligena* x maçã e *Septoria petroselini* x salsa), o aumento do período de molhamento foliar não esteve relacionado à maior severidade da doença, porém, houve influência da temperatura nos resultados (LATORRE et al., 2002; KURT; TOK, 2006). O contrário ocorreu para o patossistema estudado neste trabalho, onde o aumento do período de molhamento no fruto foi diretamente proporcional ao aumento da severidade da doença, com sensível influência da temperatura. Permitido dizer que o aumento na temperatura e períodos de molhamento esta diretamente associada ao aumento da infecção, e que a temperatura é uma fator preponderante neste patossistema. Influência semelhante foi observada acelerando o estágio de maturação e,

consequentemente, as perdas provocadas pelo patógeno em banana (CHILLET et al., 2006; PESSOA et al., 2007)



**Figura 2.** Efeito da temperatura e do período de molhamento na severidade da podridão dos frutos em mamões inoculados com quatro isolados de *Phytophthora palmivora*, seis dias depois de retirada a câmara úmida.



**Figura 3.** Gráfico de contornos para o efeito da temperatura e período de molhamento na severidade da podridão dos frutos de mamoeiro inoculados com quatro isolados de *Phytophthora palmivora*, seis dias depois de retirada a câmara úmida.

Foram verificadas interações significativas entre temperaturas período de molhamento e severidade para os quatro isolados de *P. palmivora* utilizados neste trabalho. O modelo Gaussiano 3D:  $z = ae^{-0,5\left[\left(\frac{x-x_0}{b}\right)^2 + \left(\frac{y-y_0}{c}\right)^2\right]}$  onde  $z$  = área lesionada (AL),  $x$  = temperatura (T) e  $y$  = período de molhamento (PM), proporcionou excelente ajuste da severidade da doença (área de lesão) em função da temperatura e período de molhamento, com coeficientes de determinação ( $R^2$ ) variando entre 94,74% para o isolado 1060 e 95,78% para o isolado 847 (Figura 2).

Este modelo permitiu estimar temperaturas ótimas na faixa de 27 a 28 °C para o desenvolvimento da doença pelos isolados 356 (27,63 °C), 847 (27,57 °C), 848 (27,19°C) e 1060 (27,69 °C) respectivamente (Figura 3). Este resultado corrobora com o observado para o crescimento micelial e a esporulação de *P. palmivora* na superfície dos frutos de cacaueteiro e mamoeiro, cuja temperatura ótima variou entre 25 a 30 °C e, que geralmente reflete na severidade da doença (LUZ; CAMPELO, 1985; SILVA, 2001).

Os isolados de *P. palmivora* provocaram sintomas em todas as situações, porém, o isolado 356 foi o mais virulento, pois causou maiores lesões nos frutos (7126,29 mm<sup>2</sup>) à temperatura de 25 °C e período de molhamento de 72h (Figuras 1 e 2). Os isolados 356, 1060, 847 e 848) causaram lesões nos frutos à temperatura de 15 °C e no período de molhamento de 72h. Com o incremento da temperatura para 25 °C (temperatura ótima) foram observadas lesões nos períodos de molhamento de 24 horas para os isolados 356 e 1060, quando aumentada para 36 horas para os isolados 847 e 848. Novamente, houve variações no comportamento dos isolados em função das condições de temperatura e umidade. Como também houve variação na severidade dos sintomas causados pelos quatro isolados utilizados neste trabalho, que são de estados próximos geograficamente, podemos inferir que existem diferentes níveis de virulência, possivelmente relacionados à variabilidade genética existente entre os isolados, que precisam ser estudados.

Como os frutos de mamoeiro estão fisiologicamente adaptados à faixa de temperatura testada (15-35 °C) e, portanto, não estavam passíveis de estresse que aumentaria a predisposição à infecção pelo patógeno, os resultados sugerem que a temperatura exerceu grande influência sobre o metabolismo de *P. palmivora* e sobre a cinética das enzimas envolvidas no processo de infecção, que aumentaram ou reduziram suas atividade conforme as condições predominantes. Ressaltando que temperaturas mínimas e máximas geralmente não são letais para o desenvolvimento do patógeno, porém, quando desfavoráveis no campo e na pós-colheita podem inibir temporariamente uma epidemia, mas não erradicam o patógeno, a menos que predominem por períodos prolongados (OLIVEIRA et al., 2006).

Em regiões como nos pólos produtores de mamão, no sul da Bahia e norte do Espírito Santo a inibição da epidemia se deve principalmente às altas temperaturas e baixa umidade do ar, diurnas, pois as temperaturas noturnas, geralmente são mais baixas e associadas à alta umidade do ar, favorecem os processos de esporulação e infecção. Temperaturas diurnas altas prejudicam a dispersão dos esporos, diminuem o potencial de esporulação e podem também diminuir o período infeccioso de *P. palmivora* (LUZ; MATSUOKA, 2001).

Para o desenvolvimento de estratégias de manejo de doenças de plantas, é imprescindível o conhecimento de diversos aspectos epidemiológicos, dentre os quais, as exigências de temperatura, umidade e concentração de inóculo necessárias para o estabelecimento de altos níveis de doença em cada associação patógeno-hospedeiro. Neste estudo a umidade, a temperatura e a concentração de inóculo de *P. palmivora* exerceram influência significativa na severidade da podridão dos frutos de mamoeiro. Assim, algumas medidas podem ser recomendadas para redução dos riscos de epidemias em campo e na pós-colheita, destacando-se: evitar alta umidade na superfície dos frutos, que normalmente é proporcionada por irrigações frequentes e em alto volume; efetuar controle químico e/ou biológico no solo; coletar e destruir frutos com sintomas, visando à redução do inóculo de *P. palmivora* na área que pode ser disseminado para frutos sadios pelo vento e respingos de água.



## REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5 ed. San Diego: Academic Press, 2005. 922p.
- ADASKAVEG, J. A.; FÖRSTER, H.; SOMMER, N. F. Principles of postharvest pathology and management of decays of edible horticultural crops. In: KADER, A.A. (Ed.). **Postharvest technology of crops**. 3. ed. California: University of California Agriculture and Natural, 2002. pp. 163-193.
- BORGES NETO, C. R.; MELO, S. C. M.; RIBEIRO, Z. M. A.; ÀVILA, Z. R.; MALTBY, J.; FONTES, E. M. G. Influência da idade da planta, período de molhamento de umidificação e concentração de inóculo no desenvolvimento de sintomas provocados por *Cercospora caricis* em tiririca. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p.138-142, 2000.
- CHILLET, M.; HUBERT, O.; RIVES, M. J.; LAPEYRE DE BELLATRE, L. Effects of the physiological age of bananas on their susceptibility to wound anthracnose due to *Colletotrichum musae*, **Plant Disease**, St. Paul, v. 90, p. 1181-1185, 2006.
- CHITARRA, M. I. F; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA, v. 1, 2005, 785p.
- CHITARRA, L. G.; MEYER, M. C. Novo e sem controle. **Cultivar - Hortaliças e Frutas**, Pelotas, v. 19, p. 16-18, 2004.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: Um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium (Lavras)**, v. 6, p. 36-41, 2008.
- KANNWISCHER, M. E.; MITCHELL, D. J. The influence of a fungicide on the epidemiology of black shank of tobacco. **Phytopathology**, v. 68, p. 1760-1765, 1978.
- KURT, S.; TOK, F. M. Influence of inoculum concentration, leaf age, temperature, and duration of leaf wetness on *Septoria blight* of parsley. **Crop Protection**, v. 25, p. 556-561, 2006.

LATORRE, B. A.; RIOJA, M. E.; LILLO, C.; MUNOZ, M. The effect of temperature and wetness duration on infection and a warning system for European canker (*Nectria galligena*) of apple in Chile. **Crop Protection**, v. 21, p. 285-291, 2002.

LIMA FILHO, R. M.; OLIVEIRA, S. M. A.; MENEZES, M. Caracterização enzimática patogenicidade cruzada de *Colletotrichum* associados a doenças pós-colheita. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 620-625, 2003.

LUZ, E. D. M. N.; CAMPELO, A. M. F. L. Dinâmica populacional de três espécies de *Phytophthora* na região cacauzeira da Bahia. **Fitopatologia Brasileira**, v. 10, p. 1-8, 1985.

LUZ, E. D. M. N.; MATSUOKA, K. Phytophthora: Fungo protista ou Chromista?. In: LUZ, E. D. M. N.; SANTOS, A. F.; MATSUOKA, K.; BEZERRA, J. L. (Eds.). **Doenças causadas por Phytophthora no Brasil**. Livraria e Editora Rural, 2001, pp.1-21.

OLIVEIRA, S. M. A.; TERAPO, M.; DANTAS, S. A. F.; TAVARES, S. C. C. H. **Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais**, Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006, 855p.

OLIVEIRA, T. A. S.; OLIVEIRA, S. M. A.; MICHEREFF, S. J.; CÂMARA, M. P. S.; COSTA, V. S. O.; LINS, S. R. O. Efeito do estágio de maturação, tipo de inóculo e local de inoculação na severidade da podridão peduncular em manga. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, p. 409-414, 2008.

PEREIRA, J. C. R.; BATISTA, U. G.; GUIMARÃES, F. B.; MISUBUTI, E. S. G. Efeito de diferentes meios de cultura sobre a esporulação e o potencial de inóculo de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 24, p. 186-188, 1998.

PEREIRA, A. L.; SILVA, G. S.; RIBEIRO, V. Q. Caracterização fisiológica, cultural e patogênica de diferentes isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 572-578, 2006.

PESSOA, W. R. L. S.; OLIVEIRA, S. M. A.; DANTAS, S. A. F.; TAVARES, S. C. C. H.; SANTOS, A. M. G. Efeito da temperatura e período de molhamento sobre o desenvolvimento de lesões de *Colletotrichum musae* em banana. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 2, p. 147-151, 2007.

RAM, C. Características culturais, esporulação e violência do “strain” do *Botryodiplodia theobromae*, agente causal da queima-das-folhas do coqueiro (*Cocos nucifera*). **Fitopatologia Brasileira**, v. 18, p. 143-146, 1993

RITZINGER, C. H. S. P.; SOUZA, J. S. (org.) **Mamão: Fitossanidade**. Cruz das Almas: EMBRAPA, 2000. 91p.

SILVA, G. S. Podridão das raízes e dos frutos do mamoeiro. In: LUZ, E. D. M. N.; SANTOS, A. F.; MATSUOKA, K.; BEZERRA, L. J. (Eds.). **Doenças causadas por Phytophthora no Brasil**. Livraria e Editora Rural, 2001, p.413-432.

SILVEIRA, N. S. S.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R. Severidade da mancha-aquosa no meloeiro sob diferentes condições de molhamento foliar e concentração de inóculo de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 171-175, 2003.

SILVEIRA, N. S. S.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R.; MAIA, L. C.; OLIVEIRA, S. M. A. Hongos fitopatogênicos associados a frutos comercializados em Recife, Pernambuco (Brasil). **Boletín Micológico**, Valparaiso, v. 16, p. 41-47, 2001.

VALE, F. X. R.; JESUS JR., W. C.; ZAMBOLIM, L. Natureza das epidemias. In: VALE, F. X. R.; JESUS JR., W. C.; ZAMBOLIM, L. (Eds.). **Epidemiologia Aplicada ao Manejo de Doenças de Plantas**. Belo Horizonte. Perfil. 2004. pp.21-48.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; MONTEIRO, A. J. A.; COSTA, H. **Controle de doenças de fruteiras**. Viçosa: UFV, 2002. v. 1, 674 p.

## Capítulo III

---

---

**Influência do método de inoculação e estágio de maturação na severidade da podridão dos frutos (*Phytophthora palmivora*) de mamoeiro na pós-colheita**

## RESUMO

Das doenças pós-colheita que acometem o mamão, a podridão dos frutos (*Phytophthora palmivora*) é recorrente nas principais regiões produtoras do Brasil (nordeste e sudeste), especialmente pelas características edafoclimáticas que propiciam o estabelecimento de patógenos atrelada a características peculiares ao fruto, como o amadurecimento. Tais fatores caracterizam a necessidade de estudos que abordem aspectos relacionados com o fruto, o patógeno e o ambiente para que possam ser direcionadas medidas eficazes de prevenção e controle da doença. Portanto o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da concentração de inóculo, tipo de inóculo e métodos de inoculação, testando três isolados de *P. palmivora* (356, 363 e 1060) em frutos de mamão ‘Sunrise Solo’ coletados no extremo sul da Bahia, Brasil. Os tratamentos consistiram em: T1-T3: Discos contendo estrutura do patógeno com e sem fita adesiva, e algodão, respectivamente; T4-T13: Diferentes concentrações de suspensão de zoósporos ( $10^4$ ;  $5 \times 10^4$ ;  $10^5$ ;  $5 \times 10^5$  e  $10^6$  zoósporos  $\text{mL}^{-1}$ ), sendo: T4-T8: Suspensão de zoósporos aplicando 20  $\mu\text{L}$  de cada concentração; T9-T13: Suspensão de zoósporos embebido em disco de papel filtro 5mm $\varnothing$  de cada concentração; T14-T16: Controle-disco de meio (cenoura-ágar) com e sem fita adesiva e algodão, respectivamente; T17: Controle aplicando 20  $\mu\text{L}$  de água destilada esterilizada; T18: Controle: água destilada esterilizada embebida em disco de papel filtro 5mm $\varnothing$ . Tratamentos com discos de CA, ferimentos e fita resultaram em maiores lesões (6.335,45; 5.687,45 e 6.866,31  $\text{mm}^2$  para os isolados 356, 363, 1060, respectivamente). Assim como os tratamentos em papel filtro embebido em suspensão, também induziu quantidade significativa de doença para os três isolados. No entanto, o isolado 356 causou maior área de lesão (4.815,19  $\text{mm}^2$ ) no tratamento com suspensão sem ferimentos na concentração de  $5 \times 10^5$  zoósporos  $\text{mL}^{-1}$ .

**Palavras-chave:** Inoculação; Zoósporo; *Carica papaya*; Maturação

## ABSTRACT

Papaya fruit rot (*Phytophthora palmivora*) is one of the most important postharvest diseases of papaya (*Carica papaya*). *Phytophthora palmivora* is water dependent for dissemination, penetration, and colonization of papaya tissues. For this reason studies on methods of inoculation and on conditions of fruit incubation are needed. Therefore, three isolates of *P. palmivora* (356, 363 and 1060) were used to test different methods for fruit ('Sunrise Solo') inoculation. The inoculation methods tested were the following: T1-T3, carrot-agar 5mm discs with pathogen structures, with or without cover plastic tape and humid cotton ball; T4-T8: 20 $\mu$ L of zoospore suspension ( $10^4$ ;  $5 \times 10^4$ ;  $10^5$ ;  $5 \times 10^5$  e  $10^6$  zoospores mL<sup>-1</sup>); T9-T13 zoospore suspension on 5mm paper disc for each zoospore concentration; T14-T16, control without pathogen with carrot-agar disc with and without cover plastic tape and humid cotton ball; T17- control of 20 $\mu$ L of sterilized water without pathogen; T18 control without pathogen with sterilized water moistened 5mm paper discs. Treatments with carrot-agar discs with pathogen resulted in larger lesions, ~6335, 5687, and 6866 mm<sup>2</sup> for 356, 363 and 1060 isolates, respectively. Treatments with paper discs also induced a significantly amount of disease for all three pathogen isolates. However, the isolate 356 caused ~4815 mm<sup>2</sup> of lesion area when inoculated without fruit injury at a concentration of  $5 \times 10^5$  zoospores mL<sup>-1</sup>.

**Keywords:** Inoculation; Zoospores; *Carica papaya*; Maturation

## INTRODUÇÃO

A demanda mundial por frutas e hortaliças vem crescendo expressivamente nos últimos anos, com destaque para o mamão (*Carica papaya* L.) umas das mais importantes frutas tropicais cultivadas no mundo e no país (SANTANA et al., 2004; SENTANIN; AMAYA, 2007). O mamoeiro é cultivado na quase totalidade do território brasileiro, sendo o Nordeste a maior região produtora, destacando-se o estado da Bahia, seguido pela região Sudeste, destacando-se o Espírito Santo (SILVA et al., 2004). Estas regiões são responsáveis por cerca de 90% da produção nacional, segundo dados do IBGE (2010).

O mamão é uma fruta altamente perecível devido ao rápido amadurecimento após a colheita, portanto, com vida pós-colheita relativamente curta, completando o amadurecimento em aproximadamente uma semana sob condições ambientais (JACOMINO et al., 2003). Neste aspecto, Chitarra e Chitarra (2005) observaram que colheitas precoces (antes da completa maturação fisiológica do fruto) e tardias (frutos totalmente maduros) afetam a qualidade do fruto, causam baixa resistência física e perdas qualitativas e quantitativas, permitindo, sobretudo a ação de patógenos. Geralmente o ponto de colheita de mamão em plantios comerciais é determinado por características externas subjetivas como, por exemplo, a mudança de cor na casca (VIEIRA et al., 2000), que no mamão é caracterizada pela mudança gradual e desuniforme na cor da casca de verde para amarela, com estrias amarelas partindo da região estilar para inserção pendicular da fruta (OLIVEIRA, 2002).

O mamão é climatérico, fator relevante que o torna suscetível a doenças que se manifestam principalmente na pós-colheita, apesar das infecções ocorrerem na pré-colheita (DANTAS et al. 2006). Tais doenças representam 60% de perdas, principalmente em virtude de danos mecânicos que favorecem a incidência de doenças, aumentando as perdas e tornando entrave para comercialização interna e externa (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Neste aspecto, avanços nas técnicas pós-colheita são necessárias, visando principalmente à conservação da qualidade e a ampliação da vida útil, suficientes para a distribuição e comercialização em mercados nacionais e internacionais (MARTINS et al., 2003). A magnitude das perdas pós-colheita de produtos hortícolas é preocupante, principalmente nas regiões tropicais, por apresentar condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento de doenças (OLIVEIRA et al., 2006).

Em mamão, uma das principais doenças é a podridão dos frutos causada por *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler, cujas perdas podem atingir 20% da produção nas principais regiões produtoras: Bahia e Espírito Santo (LIBERATO et al., 1993; SILVA et al.,

1999; TRINDADE; POLTRONIERI, 2002). Porém, existem poucos estudos para este patossistema fazendo-se necessário o conhecimento das condições favoráveis aos patógenos na interação com o hospedeiro, assim como o estágio fenológico em que o hospedeiro torna-se mais susceptível para o estabelecimento da doença (BORGES NETO et al., 2000). O hospedeiro exerce forte influência sobre o “sucesso ou fracasso” da infecção pelo patógeno, motivo pelo qual deve ser investigada a influência do tipo de inóculo, tipo de inoculação e estágio de maturação na severidade da doença. Essas práticas ou técnicas pós-colheita, quando aplicadas de forma adequada contribuem para a extensão da vida útil e manutenção das características desejáveis do produto, conforme as exigências dos mercados consumidores (BALBINO, 2003). Adicionalmente, é preciso entender a relação planta-patógeno para cada patossistema considerando os fatores supracitados, para que seja estabelecida relação custo/benefício, uma vez que problemas fitossanitários são inevitáveis, porém, podem ser minimizados quanto à incidência e severidade de doenças pós-colheita (ECKERT, 1993).

Diante da posição de destaque do Brasil na produção e exportação de mamão, trabalhos que contribuem para melhorar as condições fitossanitárias, principalmente em pós-colheita, são cruciais para manter esta posição e estabelecer medidas preventivas e de controle de doenças que acometem esta fruta. Entretanto, são escassos trabalhos que abordem a podridão dos frutos, por exemplo, aquelas causadas por *P. palmivora*. Portanto, este estudo objetivou avaliar a influência do tipo de inóculo, tipo de inoculação e estágio de maturação na severidade da podridão dos frutos de mamoeiro causado por *P. palmivora* na pós-colheita em frutas oriundas do extremo sul da Bahia, destinadas a exportação.



## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Obtenção dos isolados**

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Phytophthora, Seção de Fitopatologia do Centro de Pesquisa da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), Bahia, Brasil. Foram utilizados os isolados de *P. palmivora* 356, 363 e 1060, cedidos pela Coleção de Phytophthora Arnaldo Gomes Medeiros, sediada no CEPEC.

Os isolados foram repicados para placas de Petri, contendo meio seletivo PARPH (KANNWISCHER; MITCHELL, 1978) e mantidos por cinco dias a  $25 \pm 2$  °C ao abrigo da luz. Posteriormente foram repicados discos de 5 mm de diâmetro das culturas para o meio de cultivo cenoura-ágar (CA). As placas foram mantidas em sob luz contínua a  $25 \pm 2$  °C, durante nove dias, para a esporulação. Após a inoculação em frutos de mamoeiro e manifestação dos sintomas, os isolados foram reisolados em meio seletivo e as culturas mantidas em tubos de ensaio contendo CA e preservadas pelo método de Castellani para estudos posteriores.

As suspensões de *P. palmivora* foram obtidas a partir de 20 placas contendo esporângios do patógeno. A cada placa foram adicionadas 8 mL de água destilada esterilizada (ADE) gelada. Para liberação dos zoósporos, as placas foram submetidas a choque térmico ( $5 \pm 2$  °C) por 20 minutos seguidos de ( $25 \pm 2$  °C) por 25 minutos. Posteriormente, a concentração de zoósporos foi determinada e padronizada, com auxílio de câmara de Neubauer (Hemocitômetro), adicionando-se 20 µL de solução fixadora FAA (formol, álcool e ácido acético) para a paralisação e contagem dos zoósporos.

Em todos os experimentos foram utilizados frutos sadios de mamão da variedade Sunrise Solo proveniente de pomares da Fazenda Alegria, localizada no município de Vera Cruz-BA. Para todos os tratamentos os frutos de mamão foram previamente lavados com sabão e água corrente e desinfetados superficialmente com solução em hipoclorito de sódio (NaClO) a 1% e secos em temperatura ambiente.

### **Influência do método de inoculação na podridão dos frutos**

Para fins de padronização do método mais eficaz para inoculação de *P. palmivora* em mamão, foram testados diferentes tipos de inóculos e métodos de inoculação (Tabela 1) em

mamões no estágio 2 de maturação segundo Ritzinger e Souza (2000), na região equatorial da epiderme dos frutos.

Os dois tipos de inóculos consistiram em: 1) disco de meio CA com 5 mm, contendo estrutura do patógeno, com diferentes métodos de aplicação nos frutos (com e sem fita adesiva e algodão embebido em água destilada; 2) suspensão de zoósporos em cinco concentrações ( $10^4$ ;  $5 \times 10^4$ ;  $10^5$ ;  $5 \times 10^5$   $10^6$  zoósporos  $\text{mL}^{-1}$ ) inoculadas nos frutos com aplicação de 20  $\mu\text{L}$  e com disco de papel filtro de 5 mm embebidos nas supracitadas concentrações de zoósporos. Para todos os tratamentos foi testado o efeito de ferimentos na profundidade de 2 mm, feitos com furador de oito estiletos. Os tratamentos foram submetidos à câmara úmida com duas frutas e incubados por 72 h a temperatura de  $25 \pm 2^\circ \text{C}$ . Para todos os tratamentos-controle o patógeno foi substituído por água destilada esterilizada.

**Tabela 1.** Tratamentos com diferentes tipos de inóculos e métodos de inoculação com e sem ferimento, testados na severidade da podridão dos frutos de mamoeiro causada por *Phytophthora palmivora* na pós-colheita.

Tratamentos	Método de aplicação	Tipo de inoculação
T01	Com fita adesiva	Disco contendo estruturas do patógeno
T02	Sem fita adesiva	
T03	Com algodão	
T04	Aplicação de 20 $\mu\text{L}$	Suspensão a $10^4$ zoósporos $\text{mL}^{-1}$
T05		Suspensão a $5 \times 10^4$ zoósporos $\text{mL}^{-1}$
T06		Suspensão a $10^5$ zoósporos $\text{mL}^{-1}$
T07		Suspensão a $5 \times 10^5$ zoósporos $\text{mL}^{-1}$
T08		Suspensão a $10^6$ zoósporos $\text{mL}^{-1}$
T09		Discos de papel filtro esterilizados 5 mmø
T10	Suspensão a $5 \times 10^4$ zoósporos $\text{mL}^{-1}$	
T11	Suspensão a $10^5$ zoósporos $\text{mL}^{-1}$	
T12	Suspensão a $5 \times 10^5$ zoósporos $\text{mL}^{-1}$	
T13	Suspensão a $10^6$ zoósporos $\text{mL}^{-1}$	
T14	Com fita adesiva	Testemunha com disco de meio CA
T15	Sem fita adesiva	Testemunha com disco de meio CA
T16	Com algodão	Testemunha com disco de meio CA
T17	Aplicação de 20 $\mu\text{L}$ de ADE	Testemunha
T18	Discos de papel filtro esterilizados 5 mmø em ADE	Testemunha

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 18 tratamentos, 2 métodos de inoculação, três isolados e 10 repetições por tratamento, com unidade amostras de

uma fruta por parcela, totalizando 1080 frutas. Foram realizados dois experimentos distintos para comprovação de dados.

### **Influência do estágio de maturação na severidade da doença**

Foram testados frutos nos estádios de maturação 0 a 5 (0 = Fruto crescido e desenvolvido (100% verde); 1 = Fruto com até 15% da superfície amarela; 2 = Frutos com até 25% da superfície amarela; 3 = Frutos com até 50% da superfície amarela; 4 = Frutos com 50 a 75% da superfície amarela; 5 = Frutos com 76 a 100% da superfície amarela), descritos por (RITZINGER; SOUZA, 2000). A inoculação foi feita com disco de papel filtro esterilizado e embebido em suspensão de  $5 \times 10^5$  zoósporos  $\text{mL}^{-1}$  e depositados na superfície intacta da região equatorial da fruta.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos, três isolados e 10 repetições por tratamento, com unidade amostras de uma fruta por parcela, totalizando 180 frutas. Foram realizados dois experimentos distintos para comprovação de dados.

### **Avaliação da doença e análise estatística**

A mensuração da área de lesão provocada pelos fitopatógenos foi realizada depois de retirada a câmara úmida (72h após inoculação), durante seis dias a cada 24h. As áreas de lesão foram medidas em dois sentidos diametralmente opostos, pela fórmula:  $S = (\pi \times D1 \times D2) / 4$ ; Sendo: S=área da colônia; D1 = diâmetro 1; D2= diâmetro 2. As médias dos valores obtidos foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, utilizando o programa SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2008).

Os dados obtidos nos experimentos foram submetidos à análise de regressão linear e não-linear, para selecionar os modelos com os melhores ajustes às curvas de severidade da podridão-do-fruto, com base no coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e no quadrado médio do resíduo (QMR), enquanto a significância das regressões foi verificada pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. Todas as análises de regressão foram efetuadas pelo programa Sigma Plot™ 11 (Software Inc. Chicago - IL, USA, 2008).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os isolados de *P. palmivora* estudados foram patogênicos quando inoculados em mamão. Os sintomas da doença provocados pelos fitopatógenos constituíram na formação de lesão úmida, apresentando os sintomas iniciais de podridão que evoluiu para lesões cobertas por uma massa esbranquiçada com aspecto cotonoso, constituída do micélio do fungo. Não houve diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ) quando comparados os dois experimentos, sendo possível utilizar dados combinados com análise conjunta dos mesmos.

### Influência do método de inoculação na podridão dos frutos

Foi observado que a inoculação com disco contendo estruturas do fitopatógeno e ferimentos (T1, T2 e T3) para os três isolados estudados (356, 363 e 1060) resultaram em maiores lesões sobre o hospedeiro (Tabela 2), diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, mesmo naqueles com maiores concentrações de zoósporos. As injúrias provocadas nos frutos facilitaram a penetração do patógeno e, portanto, o processo de infecção ocorreu precocemente nestes tratamentos. Além disso, os tecidos injuriados aumentaram a atividade metabólica das células feridas (GUZMÁN et al., 1999), provocando elevação da taxa de respiração, indução da síntese de etileno e aumento da perda de água, o que resulta na acelerada deterioração dos frutos (OLIVEIRA et al., 2006).

Porém, quando os tratamentos foram submetidos à inoculação sem ferimentos, somente o T1 (disco contendo estruturas do patógeno) e os tratamentos T12 e T13 (disco de papel filtro embebidos em suspensão de zoósporos) não diferiram estatisticamente entre si, sobretudo nas concentrações de  $5 \times 10^5$  e  $10^6$  zoósporos  $\text{mL}^{-1}$  que apresentaram maiores lesões sobre o hospedeiro, diferindo dos demais tratamentos (Tabela 2). Estudos com outros patossistemas na pós-colheita (manga x *Lasiodiplodia theobromae* e *Fusicoccum parvum*, banana x *Colletotrichum musae*, cacau x *Phytophthora palmivora*, entre outras) relatam a inoculação com disco de meio de cultura contendo estruturas do fitopatógeno como responsável pelas maiores áreas de lesões em frutos (OLIVEIRA et al., 2008). Esta resposta está diretamente relacionada à presença de fonte extra de substrato (meio de cultura com patógeno), embora tal situação não ocorra na natureza (PESSOA et al., 2007).

O método de inoculação utilizando suspensão de conídios justifica-se pela padronização na quantidade de inóculo depositada sobre a superfície do hospedeiro. Para testes de patogenicidade, bem como para estudos genéticos, citológicos e taxonômicos, torna-

se necessária grande quantidade de esporos para permitir uma adequada padronização da concentração das suspensões para inoculação, assim deficiências na inoculação têm sido apontadas como a principal causa da alta variabilidade de dados obtida em experimentos realizados sob condições de ambiente controlado (PEREIRA et al., 1998; PEREIRA et al., 2006).

**Tabela 2.** Influência do tipo de inóculo, tipo de inoculação na severidade (área lesionada) da podridão dos frutos inoculados com três isolados de *Phytophthora palmivora* na pós-colheita, seis dias depois da retirada a câmara úmida.

Tratamentos	Área lesionada (mm <sup>2</sup> )					
	Com Ferimento			Sem Ferimento		
	PP04	PP11	PP20	PP04	PP11	PP20
T01 <sup>k</sup>	6335,45 gD <sup>xy</sup>	5687,45 fC	6866,31 gD	4947,48 dB	4214,91 dA	5536,80 eC
T02	5429,32 fC	4911,32 eC	6029,22 fD	3199,92 bB	2467,35 cA	3789,24 dB
T03	4176,55 eC	4836,55 eC	5304,45 fC	3121,26 bB	2388,69 cA	3710,58 dB
T04	2494,58 cC	1454,58 bB	1934,58 bB	0,00 aA	0,00 aA	742,12 aB
T05	3016,63 cD	1656,63 bC	2456,31 cD	771,61 aB	0,00 aA	1261,04 bC
T06	4603,82 eE	3663,82 dD	4043,23 eD	2816,42 bC	816,42 bA	1919,46 bB
T07	4395,81 eC	3985,81 dC	4067,83 eC	3846,98 cC	1846,98 cA	2950,02 cB
T08	4645,70 eC	3825,70 dC	4317,42 eC	4058,72 cC	2058,72 cA	3161,76 cB
T09	1710,16 bB	1073,16 bB	1445,52 bB	413,90 aA	0,00 aA	1413,90 bB
T10	3403,59 dC	2766,59 cA	3138,99 dC	2331,08 bA	1207,54 bA	3331,08 cC
T11	3874,05 dC	3237,05 cB	3609,36 dC	3104,80 bB	1981,26 cA	4104,80 dC
T12	4561,07 eA	4278,07 dA	4464,12 eA	4815,19 dA	4181,19 dA	4677,33 eA
T13	4255,57 eA	3972,57 dA	4158,83 eA	5236,87 dB	4602,87 dA	5099,01 eB
T14	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
T15	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
T16	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
T17	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
T18	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
C.V.(%)	19,28	21	19,98	25,14	27,57	23,5

<sup>x</sup>Médias de 10 repetições. <sup>y</sup>Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e mesma letra maiúscula na horizontal, não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ). <sup>k</sup>T1-T3: Discos contendo estrutura do patógeno com e sem fita adesiva e algodão, respectivamente; T4-T13: Diferentes concentrações de suspensão de zoósporos ( $10^4$ ;  $5 \times 10^4$ ;  $10^5$ ;  $5 \times 10^5$  e  $10^6$  zoósporos mL<sup>-1</sup>); T4-T8: Suspensão de zoósporos aplicando 20 µL de cada concentração; T9-T13: Suspensão de zoósporos embebido em disco de papel filtro 5 mmø de cada concentração; T14-T16: Controle com disco de meio (cenoura-ágar) com e sem fita adesiva e algodão, respectivamente; T17: Controle aplicando 20 µL de água destilada esterilizada; T18: Controle: água destilada esterilizada embebida em disco de papel filtro 5 mmø.

### Efeito do estágio de maturação na severidade na podridão dos frutos

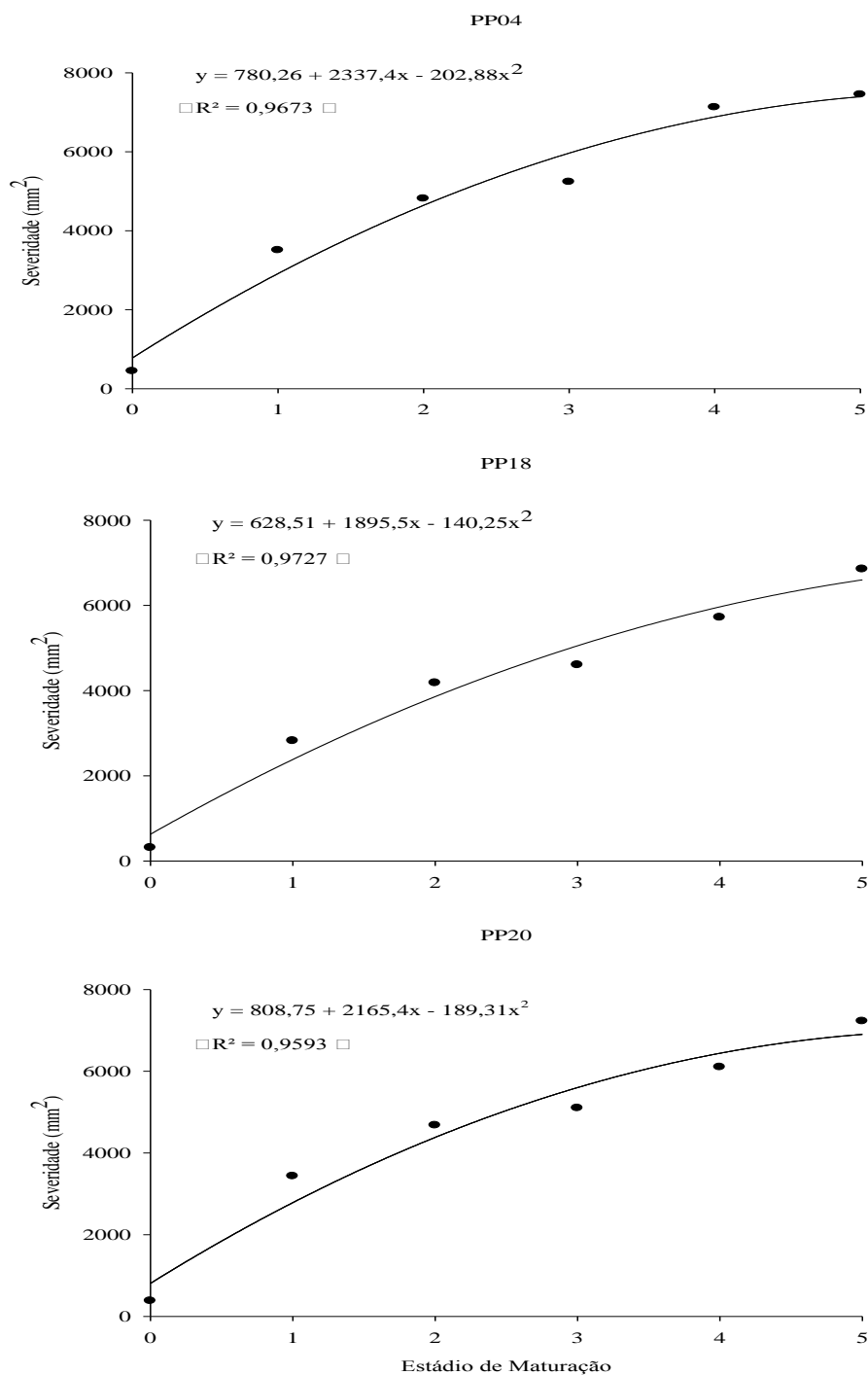
O estágio de maturação influenciou significativamente na severidade da podridão dos frutos, pois os três isolados de *P. palmivora* provocaram infecção nos frutos nos diferentes estádios de maturação testados. Contudo, não houve diferença estatística entre os isolados (Tabela 3) e as maiores áreas de lesão foram observadas no estágio 5 para os isolados 356 (7450,92 mm<sup>2</sup>); 1056 (6851,09 mm<sup>2</sup>) e 1060 (7226,60 mm<sup>2</sup>).

**Tabela 3.** Efeito do estágio de maturação de mamão ‘Sunrise solo’ na severidade (área lesionada) da podridão dos frutos inoculados com três isolados de *Phytophthora palmivora*, seis dias depois de retirada a câmara úmida.

Isolados	Estádio de Maturação					
	0 <sup>z</sup>	1	2	3	4	5
356	445,39 aA <sup>xyk</sup>	3508,53 aB	4815,19 aC	5236,87 aD	7126,28 bE	7450,92 aE
363	313,59 aA	2822,33 aB	4181,19 aC	4602,87 aC	5718,98 aD	6851,09 aE
1060	381,45 aA	3433,09 aB	4677,33 aC	5099,01 aC	6103,28 aD	7226,60 aE
C.V.(%)	6,59					

<sup>x</sup>Médias de dez repetições. <sup>y</sup>Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e mesma letra maiúscula na horizontal, não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ). <sup>k</sup>Médias das áreas lesionadas em mm<sup>2</sup>; <sup>z</sup>Estádio de maturação: 0- Fruto crescido e desenvolvido (100% verde); 1- Fruto com até 15% da superfície amarela; 2- Fruto com até 25% da superfície amarela; 3- Fruto com até 50% da superfície amarela; 4- Frutos com 50 a 75% da superfície amarela; 5- Frutos com 76 a 100% da superfície amarela.

Chillet et al. (2006) e Pessoa et al. (2007) observaram que havia relação direta no avanço do estágio de maturação com aumento dos índices de infecção por *Colletotrichum musae* em banana (*Musa* spp.), considerando que a idade fenológica é um fator chave na suscetibilidade do hospedeiro ao fitopatógeno. Fenômeno conhecido como ARR (*Age Related Resistance*), que relaciona a reação de resistência ao estágio fenológico ou resistência relacionada à idade (PANTER; JONES, 2002).



**Figura 1.** Influência dos estádios de maturação na severidade da podridão dos frutos de mamoeiro inoculados com três isolados de *Phytophthora palmivora*, seis dias depois de retirada a câmara úmida.

Oliveira et al. (2008) em estudo com frutos de manga (*Mangifera indica* cv. Tomy) inoculadas com *Lasiodyplodia theobromae* e *Fusicoccum parvum* observaram que independente do tipo de inóculo e local de inoculação, as lesões apresentaram valores crescentes à medida que o estágio de maturação avançava. Geralmente, frutas verdes são mais

resistentes a fitopatógenos, devido à presença de fitoalexinas e outros compostos em maior quantidade, tornando-se mais suscetível em estádios mais avançados de maturação. Um dos aspectos da quebra de resistência e aumento da suscetibilidade é a diminuição do teor de compostos fenólicos. A concentração desses compostos diminui com o avanço da maturação dos frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A interação entre estágio de maturação e isolados do patógeno foi significativa. O modelo polinomial quadrático,  $y = a + bx + cx^2$ , onde  $y$  = área lesionada e  $x$  o estágio de maturação, proporcionou ajuste da curva de progresso da severidade da doença em função do estágio de maturação da fruta, com coeficientes de determinação ( $R^2$ ) variando entre 95,93 (1060) e 97,27 (1056) (Figura 1).



## REFERÊNCIAS

BALBINO, J. M. S. Colheita, pós-colheita e fisiologia de amadurecimento do mamão. In: MARTINS, D. S.; COSTA, A. F. S. (Eds.) **A cultura do mamoeiro: tecnologia de produção**. Vitória: INCAPER, 2003. pp 405-439.

BORGES NETO, C. R.; MELO, S. C. M.; RIBEIRO, Z. M. A.; ÀVILA, Z. R.; MALTY, J.; FONTES, E. M. G. Influência da idade da planta, período de molhamento de umidificação e concentração de inóculo no desenvolvimento de sintomas provocados por *Cercospora caricis* em tiririca. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p.138-142, 2000.

CHILLET, M.; HUBERT, O.; RIVES, M.J.; LAPEYRE DE BELLATRE, L. Effects of the physiological age of bananas on their susceptibility to wound anthracnose due to *Colletotrichum musae*, **Plant Disease**, St. Paul, v. 90, p.1181-1185, 2006.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manejo**. 2. ed. Revisada e ampliada. [s.l]: Editora UFLA, 2005, 785p.

DANTAS, S. A. F.; OLIVEIRA, S. M. A. Doenças do mamão. In: OLIVEIRA, S. M. A.; TERAPO, D.; DANTAS, S. A. F.; TAVARES, S. C. C. O. (Eds.) **Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006, pp. 695-727.

ECKERT, J. W. Post-harvest diseases of citrus fruits. **Agriculture Outlook, Washington**, v. 54, p. 225-232, 1993.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v. 6, p. 36-41, 2008.

GUZMÁN, I. L.; CANTWELL, M.; BARRETT, D. M. Fresh-cut cantaloupe: effects of CaCl<sub>2</sub> dips and heat treatments on firmness and metabolic activity. **Postharvest Biology and Technology**, v. 17, n. 3, p. 201-213, 1999.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção agrícola municipal. IBGE, 2008. Disponível em: <<http://www.ibge.com.br>> Acesso em: 24 set. 2010.

JACOMINO, A. P.; BRON, I. U.; KLUGE, R. A. Avanços em tecnologia pós-colheita de mamão. In: MARTINS, D. S. (Ed.) **Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno**. Vitória-ES: INCAPER, 2003., pp. 277-289

KANNWISCHER, M. E.; MITCHELL, D. J. The influence of a fungicide on the epidemiology of black shank of tobacco. **Phytopathology**, v. 68, p. 1760-1765, 1978.

LIBERATO, J. R; VANETTI, C.; RODRIGUES, C. H.; DIAS, V. P. O. Ocorrência de *Phytophthora* em mamoeiro (*Carica papaya* L.) no Estado do Espírito Santo. Brasília, **Fitopatologia Brasileira**, v. 18, p. 324, 1993.

MARTINS, D. dos S.; COSTA. A. de F. S. A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção. Vitória, ES: **Incaper**, 2003.

OLIVEIRA, T. A. S.; OLIVEIRA, S. M. A.; MICHEREFF, S. J.; CÂMARA, M. P. S.; COSTA, V. S. O.; LINS, S. R. O. Efeito do estágio de maturação, tipo de inóculo e local de inoculação na severidade da podridão peduncular em manga. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, p. 409-414, 2008.

OLIVEIRA, S. M. A.; TERAPO, M.; DANTAS, S. A. F.; TAVARES, S. C. C. H. **Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais**, Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006, 855p.

OLIVEIRA, M. A. B. de; VIANNI, R.; SOUZA, G. de; ARAÚJO, T. M. de R. Caracterização do estágio de maturação do papaia 'Golden' em função da cor. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, 2002.

PANTER, S. N.; JONES, D. A. Age-related resistance to plant pathogens. **Advances in Botanical Research**, v. 38, p. 251-280, 2002.

PEREIRA, J. C. R.; BATISTA, U. G.; GUIMARÃES, F. B.; MISUBUTI, E. S. G. Efeito de diferentes meios de cultura sobre a esporulação e o potencial de inóculo de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 24, p. 186-188, 1998.

PEREIRA, A. L.; SILVA, G. S.; RIBEIRO, V. Q. Caracterização fisiológica, cultural e patogênica de diferentes isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 572-578, 2006.

PESSOA, W. R. L. S.; OLIVEIRA, S. M. A.; DANTAS, S. A. F.; TAVARES, S. C. C. H.; SANTOS, A. M. G. Efeito da temperatura e período de molhamento sobre o desenvolvimento de lesões de *Colletotrichum musae* em banana. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 2, p. 147-151, 2007.

RITZINGER, C. H. S. P.; SOUZA, J. S. (org.) **Mamão: Fitossanidade**. Cruz das Almas: EMBRAPA, 2000. 91p.

SANTANA, L. R. R., MATSUURA, F. C. A. U. , CARDOSO, R. L. C. Genótipos melhorados de mamão (*Carica papaya* L.): avaliação sensorial e físico-química dos frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 2, p. 217-222, 2004.

SENTANIN, M. A.; AMAYA, D. B. R. Teores de carotenóides em mamão e pêssego determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n.1, p. 13-19, 2007.

SILVA, M. C. A.; TARSITANO, M. A. A.; CORREA, L. S. Análise do custo de produção e lucratividade do mamão formosa, cultivado no município de Santa Fé do Sul (SP). **Revista Brasileira de Fruticultura**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 40-43, 2004.

SILVA, G. S.; URBEN, A. F.; DOIHARA, I. P. Ocorrência de *Phytophthora palmivora* em mamoeiro no Estado do Maranhão. Brasília, **Fitopatologia Brasileira**, n. 18, p. 32, 1999.

TRINDADE, D. R.; POLTRONIERE, L. S.; *Phytophthora palmivora* causando podridão dos furto em mamoeiro no Pará, **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. 422, 2002.

VIEIRA, G.; VIÉGAS, P. R. A.; NEVES, J. C. L.; AGNES, E. L.; OLIVEIRA, F. A. de M. B. Influência da cultivar e do estágio de maturação em algumas características de frutos de mamão durante a pós-colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 22, n. 2, p. 244-247, 2000.

## Capítulo IV

---

---

**Biocontrole de *Phytophthora palmivora* causador da podridão dos frutos de mamoeiro por *Trichoderma* spp. na pós-colheita**

## RESUMO

O mamão (*Carica papaya* L.) é uma fruta muito cultivada e consumida nas regiões tropicais e subtropicais do mundo e apresenta diversos problemas fitossanitários. Sendo assim, estudos de doenças pós-colheita que envolve pesquisas com biocontroladores viabilizam a diminuição de impactos causados pelo uso de defensivos agrícolas, sobremaneira, em doenças como a podridão dos frutos causada por *Phytophthora palmivora* importante doença pós-colheita em mamão nos estados da Bahia e Espírito Santo do Brasil que são os principais produtores e exportadores do Brasil. Neste contexto, o controle biológico de doenças pós-colheita com *Trichoderma* é uma alternativa viável ao uso de fungicidas e foi aplicado neste estudo para avaliar a eficácia de *Trichoderma* spp. no biocontrole de *P. palmivora* em mamão na pós-colheita. Foram utilizados quatro potenciais antagonistas: *T. asperellum* (SF04), *T. virens* (255C1), *T. harzianum* (THP) e *T. longibrachiatum* (4088). E as frutas foram submetidas aos seguintes tratamentos: 1) Inoculação de *P. palmivora* e 1 hora depois inoculação do *Trichoderma* spp.; 2) Inoculação de *P. palmivora* e 24 horas depois inoculação do *Trichoderma* spp.; 3) Inoculação de *Trichoderma* spp. e 1 hora depois inoculação do *P. palmivora* e 4) Inoculação de *Trichoderma* spp. e 24 horas depois inoculação do *P. palmivora*. A partir dos resultados obtidos podemos inferir que houve diferença estatística pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) para todos os tratamentos, tanto na incidência como na severidade da doença. Permitindo inferir que o isolado 4088 possui grande potencial biocontrolador para a podridão dos frutos, causada por *P. palmivora* na pós-colheita.

**Palavras-chave:** Controle; Antagonismo; Bioprotetores.

## ABSTRACT

The papaya fruit most cultivated and consumed in tropical and subtropical regions of the world, which presents several phytosanitary problems. Therefore, studies of postharvest diseases involving biocontrol research enable the impacts reduction caused by the use of pesticides. Significantly in diseases such as fruit rot caused by *Phytophthora palmivora* important postharvest diseases in papaya in the Bahia and Espírito Santo state which are the main producers and exporters in Brazil. In this context, the biological control by *Trichoderma* in postharvest diseases is a very viable alternative to the use of fungicides and applied in the study was to evaluate the *Trichoderma* spp. efficacy for the postharvest control of *P. palmivora* in the papaya fruit. Four potential antagonists were used: *T. asperellum* (SF04), *T. virens* 255C1), *T. harzianum* (THP) e *T. longibrachiatum* (4088). And the fruit were submitted follows treatments: 1) Inoculation of *P. palmivora* and 1 hour after inoculation of *Trichoderma* spp.; 2) Inoculation of *P. palmivora* and 24 hours after inoculation of *Trichoderma* spp.; 3) Inoculation of *Trichoderma* spp. and 1 hour after inoculation with *P. palmivora* and 4) Inoculation of *Trichoderma* spp. and 24 hours after inoculation with *P. palmivora*. From the results we can infer that there was a statistical difference by Scott-Knott test ( $p \leq 0.05$ ) for all treatments in both the incidence and severity of diseases. Allow implying that the 4088 isolate has a great biocontroller for of fruit rot caused by *P. palmivora* in postharvest.

**Keywords:** Control; Antagonism; Bioprotectors.

## INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma fruteira bastante cultivada e nas regiões tropicais e subtropicais do mundo e sua fruta, conhecida como mamão ou papaya esta entre a mais consumida. O mamão representa 10% da produção mundial de frutas tropicais que gira em torno de 8 milhões de toneladas das quais 39% são produzidas na América Latina e Caribe (AGRIANUAL, 2011).

Os principais produtores mundiais de mamão são Brasil, México, Nigéria, Índia e Indonésia, enquanto os maiores exportadores são o México e a Malásia (FAO, 2010). Os principais importadores do Brasil são, a Comunidade Européia (Holanda, Portugal, Espanha, Reino Unido, França, Itália, Alemanha e Suíça) e os Estados Unidos, representando 80% e 14%, respectivamente (AGRIANUAL, 2011). Quanto à produção nacional, os principais produtores são os Estados da Bahia (902 mil toneladas), Espírito Santo (630 mil toneladas), Rio Grande do Norte (106 mil toneladas) e Ceará (100 mil toneladas) (IBGE, 2010).

O mamoeiro apresenta diversos problemas fitossanitários, tais como pragas e doenças fúngicas e bacterianas, principalmente na pós-colheita. Dentre as doenças fúngicas destaca-se a podridão de raízes e dos frutos que tem causado 60% de perda da produção (SILVA, 2001). O agente etiológico da podridão das raízes e frutos do mamoeiro é *Phytophthora palmivora* (Butler) Burtler que possui outros hospedeiros entre as plantas cultivadas no sul da Bahia, incluindo o cacaueteiro, a seringueira, o coqueiro e a pupunheira e outras 80 espécies de plantas, entre as quais citros e abacaxizeiro (LUZ; MATSUOKA, 2001). A doença está disseminada por quase todas as regiões produtoras do Brasil, pois não existe cultivares resistentes a essa enfermidade (RITZINGER; SOUZA, 2000).

A redução das perdas em pós-colheita na cadeia produtiva de frutas representa um constante desafio, considerando que as frutas são órgãos que apresentam alto teor de água e nutrientes e mesmo depois da colheita até a senescência mantém vários processos biológicos em atividade, o que permite maior predisposição a distúrbios fisiológicos, danos mecânicos e ocorrência de podridões (KADER, 2002). Embora a podridão das raízes e frutos seja uma doença de importância econômica mundial que ocorre em todos os estados produtores de mamão no Brasil (SILVA et al., 1999), o controle de *P. palmivora* é feito basicamente com fungicida a base de mancozeb+metalaxyl. Porém, trata-se de um método de controle dispendioso e que pode deixar resíduos tóxicos nos frutos, além de outros inconvenientes como: desenvolvimento de resistência por parte do patógeno; baixa eficiência de controle



quando não aplicados adequadamente; contaminação ambiental e danos a saúde humana (ROBERTS; KUCHARREK, 2005).

A presença de resíduos de pesticidas em produtos agrícolas e o acúmulo dessas substâncias no ambiente tem estimulado pesquisas de métodos alternativos para o controle de doenças em pós-colheita, sobretudo por órgãos públicos competentes preocupados com questões de saúde e relações comerciais (OLIVEIRA et al., 2006). Portanto, a aplicabilidade do controle biológico é enfatizada e estudada para o manejo integrado de várias doenças, mesmo que informalmente, devido à insuficiência de estudos relacionados à pós-colheita, especialmente nas regiões produtoras, a exemplo do Sul da Bahia, uma das principais produtoras e exportadoras de mamão, cujas pesquisas e aplicação do controle biológico ainda são incipientes. Em adição, o biocontrole tem se destacado como tecnologia viável na pós-colheita de frutas, sendo favorecido pelos alvos específicos e pelas condições controladas de armazenamento das frutas, que favorece o estabelecimento do antagonista (JANISIEWICZ; KORSTEN, 2002).

O gênero *Trichoderma* está bem documentado como agente de controle biológico, com potencial de utilização em doenças de fruteiras causadas por *Phytophthora* spp. (ALEXANDER; STEWART, 2001). Espécies de *Trichoderma* são potenciais antagonistas de diversos fungos fitopatogênicos e apresentam vários mecanismos de ação, sendo os mais eficazes: a produção de metabólitos e enzimas com propriedades antifúngicas, o hiperparasitismo e a competição por nutrientes (HARMAN et al., 2004). Como vantagem adicional, esses microrganismos são referidos como atóxicos ao homem e animais e como simbiontes avirulentos associados às plantas (MERTZ et al., 2009).

Em diversas culturas de frutas como: maçã, morango, citrus e banana, o *Trichoderma* sp. tem sido usado para controlar efetivamente doenças pós-colheita (PRATELLA; MARI, 1993; ARANGUREN, 1994; ELAD, 1994; PAJMON et al., 1995; SASTRACHIDAYAT, 1995; GOLAM, 1998; BATTA, 2004; NALLATHAMBI et al., 2009). Por conseguinte, o potencial no manejo de doenças pós-colheita utilizando o biocontrole são relevantes para diversas culturas na pós-colheita, com ressalva para questões ambientais e agrocomerciais (JANISIEWICZ; KORSTEN, 2002). Embora o eixo sul da Bahia e o norte do Espírito Santo sejam responsáveis pela maior parte da produção e exportação de mamão no Brasil, poucos estudos remetem à aplicação do biocontrole na pós-colheita dessa fruta e, tem comprometido a competitividade comercial. Portanto, o objetivo principal deste estudo foi avaliar a eficácia de *Trichoderma* spp. para o biocontrole de *P. palmivora* em mamão na pós-colheita.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção dos isolados

Foi utilizado o isolado 356 de *P. palmivora* da Coleção de Phytophthora Arnaldo Gomes Medeiros, sediada no CEPEC, onde foram realizados os experimentos.

O isolado de *P. palmivora* foi repicado para placas de Petri, contendo meio seletivo PARPH (KANNWISCHER; MITCHELL, 1978), acondicionados por cinco dias a  $25 \pm 2$  °C ao abrigo da luz. Posteriormente, foram repicados discos de 5 mm de diâmetro das culturas em meio de cultivo cenoura-ágar (CA). As placas foram mantidas em BOD sob luz contínua a  $25 \pm 2$  °C, durante 9 dias. Em seguida o fitopatógeno foi inoculado em frutas sadias para observação dos sintomas característicos de *P. palmivora* e reisolado seguindo os postulados de Koch. As culturas foram mantidas em tubos de ensaio contendo meio de cultivo CA e preservadas pelo método de Castellani, para estudos posteriores.

Os quatro isolados de *Trichoderma* spp. utilizados neste trabalho foram cedidos pela Micoteca de Fungos Antagonistas do Laboratório de Biocontrole da CEPEC. Esses antagonistas foram selecionados como eficientes biocontroladores em diferentes trabalhos com SF04 (*T. asperellum*) (TOCAFUNDO et al., 2010), 255C1 (*T. virens*) e THP (*T. harzianum*) (TAVARES, 2009) e o 4088 (*T. longibrachiatum*) (OLIVEIRA et al., 2009). Os isolados de *Trichoderma* spp. foram transferidos para placas de Petri com meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e mantidos durante 10 dias à temperatura de  $25 \pm 2$  °C com alternância luminosa (12 horas claro/12 horas escuro).

### Obtenção das suspensões de *P. palmivora* e *Trichoderma* spp.

As suspensões de *P. palmivora* foram obtidas a partir de 20 placas contendo esporângios do patógeno. A cada placa foram adicionados 8 mL de água destilada esterilizada (ADE). Para liberação dos zoósporos, as placas foram submetidas a choque térmico ( $5 \pm 2$  °C) por 20 minutos seguidos de ( $25 \pm 2$  °C) por 25 minutos. Posteriormente, a concentração de zoósporos foi determinada e padronizada em  $5 \times 10^5$  zoósporos mL<sup>-1</sup> de suspensão com auxílio de câmara de Neubauer (Hemocitômetro), adicionando-se 20 µL de solução fixadora FAA (formol, álcool e ácido acético) para a paralisação dos zoósporos.

Para *Trichoderma* spp. a suspensão foi obtida de 20 placas contendo o candidato a antagonista. Foram adicionados 8 mL de ADE sobre a superfície das colônias e os conídios

foram removidos mediante fricção com pincel. A suspensão foi filtrada em gaze dupla esterilizada e a concentração determinada em hemacitômetro, sendo ajustada para  $10^8$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ .

### **Eficácia de *Trichoderma* spp. para biocontrole da podridão dos frutos de mamoeiro causado por *Phytophthora palmivora* na pós-colheita**

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Phytophthora, Seção de Fitopatologia do Centro de Pesquisa da Lavoura Cacaueira (CEPEC). O primeiro experimento foi realizado no mês de novembro e o segundo após 30 dias.

Para as avaliações dos possíveis biocontroladores, foram utilizadas frutas da variedade Sunrise Solo, no estágio 2 de maturação (RITZINGER; SOUZA, 2000), provenientes da Fazenda Alegria, localizada no município de Vera Cruz, rodovia Eunápolis - Porto Seguro. As frutas foram lavadas com sabão neutro e água corrente, e secas a temperatura ambiente.

Foram testados dois tipos de inoculação de *P. palmivora*: a) Para avaliar a severidade da doença, utilizando 20  $\mu\text{L}$  da suspensão na concentração de  $5 \times 10^5$  de zoósporos  $\text{mL}^{-1}$  aplicado na região equatorial da fruta, com ferimento feito com auxílio de um furador composto por três estiletos de 2 mm e, b) Para avaliar a incidência, com pulverização de suspensão de  $5 \times 10^5$  de zoósporos  $\text{mL}^{-1}$  até o ponto de escoamento. Assim como foram avaliados quatro métodos de inoculação: 1) Inoculação de *P. palmivora* e 1 hora depois inoculação do *Trichoderma* spp.; 2) Inoculação de *P. palmivora* e 24 horas depois inoculação do *Trichoderma* spp.; 3) Inoculação de *Trichoderma* spp. e 1 hora depois inoculação do *P. palmivora*. e 4) Inoculação de *Trichoderma* spp. e 24 horas depois inoculação do *P. palmivora*.

Foram aplicadas concentrações de  $10^8$  conídios  $\text{mL}^{-1}$  dos biocontroladores via pulverização para os dois tipos de inoculação do patógeno. Como comparativo (testemunha) foram utilizados frutos tratados com fungicida (mancozeb+metalaxyl) e ADE, inoculados apenas com *P. palmivora*, incubados em câmara úmida por 72h a temperatura de  $25 \pm 2$  °C.

### **Delineamento experimental, avaliação da doença e análise estatística**

Para análise da severidade da podridão dos frutos causada por *P. palmivora* sob o controle de *Trichoderma* spp. foi utilizado o delineamento experimental inteiramente

casualizado, com seis tratamentos, quatro métodos de inoculação e 10 repetições por tratamento e uma fruta por parcela, totalizando 240 frutas. Mensurada durante seis dias depois de retirada a câmara úmida. Foi determinada a área lesionada externa através da medição do diâmetro da lesão em dois sentidos diametralmente opostos com auxílio de um paquímetro digital, obtido pela fórmula:  $S = (\pi \times D1 \times D2) / 4$ , Sendo: S = área da colônia; D1 = diâmetro1; D2 = diâmetro2.

Na análise da incidência da podridão dos frutos causada por *P. palmivora* sob o controle de *Trichoderma* spp. foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos, quatro métodos de inoculação, três repetições por tratamento e seis frutas por parcela, totalizando 432 frutas. A incidência foi determinada pelo percentual de frutas com sintomas da doença.

Os dados obtidos nos experimentos foram submetidos à análise de variância pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ), utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2008).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando comparados os dois experimentos montados em março e abril de 2010, não houve diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ), sendo possível realizar a análise conjunta dos dados.

### Avaliação de *Trichoderma* sobre a severidade da podridão dos frutos

Quando avaliado o biocontrole da podridão ocasionado por *P. palmivora*, nos tratamentos onde o patógeno foi aplicado 1h e 24 h antes do antagonista, observou-se que o isolado 225C1 (*T. virens*) reduziu a área lesionada (4108,02 e 4270,00 mm<sup>2</sup> respectivamente), comparado com as testemunhas 7714,31 mm<sup>2</sup> e 10158,51 mm<sup>2</sup> (Tabela 1). Esses valores corresponderam a 49,09 e 61,19% de controle do patógeno por estes tratamentos (Tabela 2). Esse isolado (225C1) aplicado após o patógeno diferiu estatisticamente dos demais isolados e do fungicida (mancozeb+metalaxyl), aplicado 24 horas antes do biocontrolador.

**Tabela 1.** Eficácia de *Trichoderma* spp. no biocontrole da podridão dos frutos de mamoeiro causado por *Phytophthora palmivora* na pós-colheita, aos seis dias depois de retirada a câmara úmida.

Tratamentos <sup>(1)</sup>	Área de lesão de <i>P. palmivora</i> sob o tratamento de <i>Trichoderma</i> spp.			
	Patógeno antes do biocontrolador		Biocontrolador antes do patógeno	
	1h	24h	1h	24h
4088	5760,01 <sup>(2)</sup> cC <sup>(3)</sup>	6627,27 bD	2170,09 bB	925,35 aA
225C1	4108,02 bA	4270,00 aA	4136,37 cA	3586,91 bA
SF04	5498,05 cB	6157,76 bB	4066,66 cA	3114,64 bA
THP	5131,47 cB	5713,11 bB	3446,60 cA	3733,34 bA
Fungicida	0,00 aA	6741,34 bB	471,23 aA	473,13 aA
Testemunha	7714,31 dA	10158,51 cB	8088,34 dA	7929,78 cA
CV%	28,28	20,97	20,35	22,45

<sup>(1)</sup>4088 - *Trichoderma longibrachiatum*; 225C1 - *T. virens*; SF04 - *T. asperellum*; THP - *T. harzianum*; Fungicida-mancozeb+metalaxyl; Testemunha- Água destilada esterilizada; <sup>(2)</sup>Área média de crescimento micelial de *P. palmivora* em mm<sup>2</sup> referente a 20 repetições; <sup>(3)</sup>Valores seguidos pela mesma letra minúscula em cada coluna e mesma letra maiúscula em uma linha, não diferem estatisticamente, segundo o teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

A mesma resposta não foi observada quando a aplicação do patógeno foi feita 1 hora antes do biocontrolador, pois o fungicida foi superior estatisticamente a todos os isolados obtendo 100% de controle da doença (Tabela 2).

Para os tratamentos onde os possíveis biocontroladores foram aplicados 1h e 24h antes do patógeno observou-se que o isolado 4088 (*T. longibrachiatum*) permitiu a diminuição da área de lesão de 2170,09 e 925,35 mm<sup>2</sup> respectivamente, quando comparado com a testemunha (Tabela 1), O isolado 4088 quando aplicado 1h antes do fitopatógeno, proporcionou o controle de 74,63% da doença (Tabela 2), superando em eficácia aos outros isolados, mas estatisticamente inferior ao tratamento com o fungicida no controle da doença (Tabela 1). Os isolados 225C1, SF04 e THP não diferiram estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ), com valores médios de controle da doença de 51,62%; 52,44% e 59,69% respectivamente.

No tratamento onde o antagonista foi inoculado 24h antes do patógeno o isolado 4088 foi estatisticamente tão eficaz quanto o fungicida, com áreas de lesão de 925,35 e 473,13 mm<sup>2</sup> respectivamente (Tabela 1), resultando no percentual de controle de 88,64% (Tabela 2) e diferindo estatisticamente dos demais.

**Tabela 2.** Percentual de controle da podridão dos frutos de mamoeiro causado por *Phytophthora palmivora* na pós-colheita aos seis dias após inoculação.

Isolados <sup>(1)</sup>	Controle de <i>P. palmivora</i> sob o tratamento de <i>Trichoderma</i> spp.			
	Patógeno antes do biocontrolador		Biocontrolador antes do patógeno	
	1h	24h	1h	24h
4088	28,61 <sup>(2)</sup> bA <sup>(3)</sup>	39,77bA	74,63 cB	88,64 cC
225C1	49,09 cA	61,19 cA	51,62 bA	56,01 bA
SF04	36,42 bA	43,99 bA	52,44 bB	61,79 bB
THP	36,42 bA	48,08 bB	59,69 bB	54,20 bB
Fungicida	100,00 dB	38,64 bA	94,48 dB	94,18 cB
Testemunha	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
CV%	12,34	13,47	10,45	9,56

<sup>(1)</sup>4088 - *Trichoderma longibrachiatum*; 225C1 - *T. virens*; SF04 - *T. asperellum*; THP - *T. harzianum*; Fungicida-mancozeb+metalaxyl; Testemunha- Água destilada esterilizada; <sup>(2)</sup>Percentual de controle da doença em relação a testemunha. <sup>(3)</sup>Valores seguidos pela mesma letra minúscula em cada coluna e mesma letra maiúscula em uma linha, não diferem estatisticamente, segundo o teste de Scott-Knott ( $\leq 0,05$ ).

Foi observado nos dois experimentos, quando aplicado o antagonista 1h e 24h antes do fitopatógeno, que todos os isolados de *Trichoderma* spp. (4088; 225C1; SF04; THP) esporularam sobre as lesões causadas por *P. palmivora* que adquiriram a coloração esverdeada.

Devido à importância da podridão dos frutos do mamoeiro causadas por *P. palmivora* e do impacto ecológico e alto custo do controle químico, a perspectiva de uso de agente de controle biológico como alternativa no manejo é relevante.

Apesar de o gênero *Trichoderma* estar bem documentado como agente de biocontrole contra várias espécies de *Phytophthora* (AMORIM; ITAMAR, 1999; COSTA; MENGE; CASALE, 2000; ALEXANDER; STEWART, 2001; MAY; GHINI; KIMATI, 2001) o efeito específico sobre *P. palmivora* em mamoeiro e em mamão não tem sido muito bem estudado e os resultados obtidos até o momento são poucos significativos (BUENO; SILVA, 2001; DIANESE, 2006; TOCAFUNDO et al., 2010). Portanto, a eficiência de controle dos isolados 225C1 (*T. virens*), SF04 (*T. asperellum*) e, principalmente, do 4088 (*T. longibrachiatum*) é importante resultado para o manejo da podridão dos frutos de mamoeiro causada por *P. palmivora*.

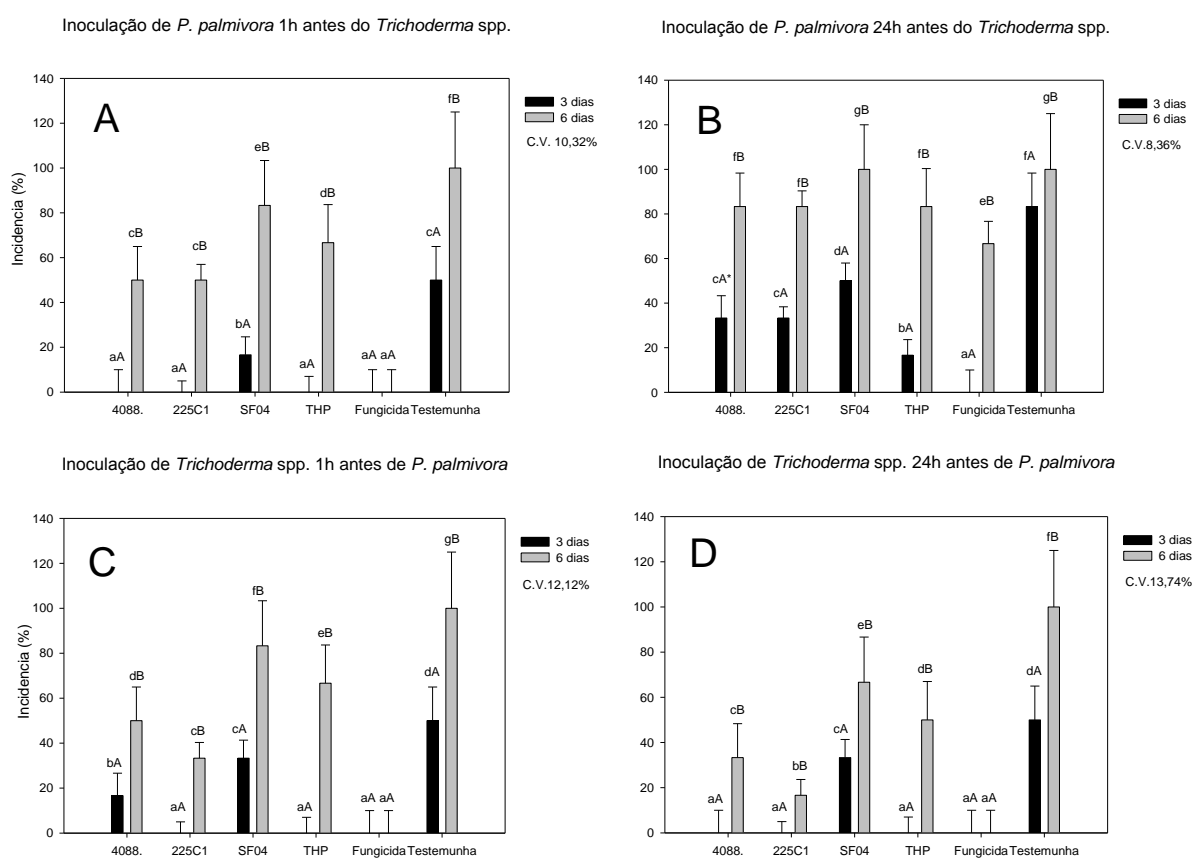
### **Avaliação da incidência da podridão dos frutos**

Em relação à incidência de *P. palmivora* em frutos de mamoeiro, onde o patógeno foi inoculado 1h antes dos biocontroladores e avaliados aos três dias depois de retirada a câmara úmida, os isolados 4088, 225C1 e THP permitiram retardamento no aparecimento dos sintomas da doença (Figura 1). Porém, quando avaliado aos seis dias depois de retirada a câmara úmida, os isolados 4088 e 225C1 apresentaram 50% de controle da doença, diferindo estatisticamente dos demais isolados e da testemunha.

No tratamento onde o patógeno foi inoculado 24h antes do antagonista, nenhum dos isolados foi capaz de controlar e/ou retardar o crescimento do *P. palmivora* no mamão, quando comparado com a testemunha. O período de 24h foi suficiente para estabelecimento do patógeno na fruta e, conseqüentemente, dificultou a efetividade dos antagonistas. Aplicações dos biocontroladores 4088, 225C1 e THP resultaram em valores de incidência de *P. palmivora* de 83,33%; com o isolado SF04 a incidência foi de 100%, na avaliação aos seis dias depois de retirada a câmara úmida. O fungicida apresentou incidência de 66,66% que corresponde a 33,33 % de controle da doença.

Com os biocontroladores 4088 e 225C1, no tratamento onde os antagonistas foram inoculados 1h antes do patógeno e avaliados aos seis dias após incubação, foram observados 50% e 33,33% de incidência de *P. palmivora*, resultando em 50% e 66,66% de controle da doença, respectivamente. O fungicida demonstrou mais uma vez ser eficaz no controle de *P. palmivora* com 100% de controle. Os tratamentos onde os antagonistas foram aplicados 24h

antes do fitopatógeno resultaram em 100% de controle aos três dias após a incubação, juntamente com o fungicida. Os biocontroladores 225C1(*T. virens*) e 4088 (*T. longibrachiatum*), na avaliação da incidência aos seis dias após incubação apresentaram 16,66% e 33,33% de incidência de *P. palmivora*, possibilitando o controle da podridão dos frutos de 83,33% e 66,66% respectivamente (Figura 1). Infere-se com estes resultados que é necessário um período de estabelecimento do antagonista antes do contato com o patógeno, para permitir o controle efetivo da doença. O tempo deve ser suficiente para os antagonistas exibirem crescimento, que implica na utilização efetiva de nutrientes a baixas concentrações, por conseguinte, sobrevivência e desenvolvimento na superfície da fruta (WILSON et al., 1994).



**Figura 1.** Incidência de *P. palmivora* causando podridão dos frutos de mamoeiro na pós-colheita, sob o controle de *Trichoderma* spp. com pulverização aos três e seis dias após incubação. (A) Inoculação de *P. palmivora* e 1 hora depois inoculação do *Trichoderma* spp.; (B) Inoculação de *P. palmivora* e 24 horas depois inoculação do *Trichoderma* spp.; (C) Inoculação de *Trichoderma* spp. e 1 hora depois inoculação do *P. palmivora*.; (D) Inoculação de *Trichoderma* spp. e 24 horas depois inoculação do *P. palmivora*. <sup>(1)</sup>4088 - *Trichoderma longibrachiatum*; 225C1 - *T. virens*; SF04 - *T. asperellum*; THP - *T. harzianum*; Fungicida - mancozeb+metalaxyl; Testemunha - Água destilada esterilizada. Valores seguidos pela mesma letra minúscula e mesma letra maiúscula, não diferem estatisticamente, segundo o teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).



Em estudos com mamoeiro, Tavares (2009) obteve 50% de controle de mortalidade em mudas ocasionada por *P. palmivora* utilizando *T. virens* como biocontrolador para a podridão de raízes. Tocafuldo et al. (2010) utilizando os mesmos isolados, observou com o isolado SF04 (*T. asperellum*) valores semelhantes (57,40% de controle), quando comparado com a testemunha. Oliveira et al. (2009), utilizaram o isolado 4088 (*T. longibrachiatum*) e observaram que houve inibição do crescimento micelial de *Fusarium subglutinans* f.sp. *ananas in vitro*, indicando a eficiência desse isolado.

Foram observados nos experimentos de incidência da podridão dos frutos que os quatro isolados de *Trichoderma* spp. (4088; 225C1; SF04; THP) esporularam sobre as lesões caudadas por *P. palmivora*, as quais adquiriram a coloração esverdeada ou verde, característica desse fungo. Este aspecto foi particularmente observado com os isolados 4088 (*T. longibrachiatum*) e 225C1 (*T. virens*).

Embora não se tenha constatado microscopicamente o hiperparasitismo de *Trichoderma* spp. sobre *P. palmivora*, foi observada esporulação do biocontrolador sobre o micélio do fitopatógeno, que é um indício desse modo de ação. O hiperparasitismo é um dos mecanismos de ação mais comuns de *Trichoderma* spp. (HARMAN, 2000; KUBICEK et al., 2001; BENÍTEZ et al., 2004). No entanto, sabe-se que o sucesso do uso de microrganismos como agentes de controle biológico depende da forma de aplicação do antagonista, da sua capacidade de parasitismo e, naturalmente, da sua especificidade em relação ao patógeno, sendo necessárias algumas características para que os antagonistas sejam eficientes, como a capacidade de competição por nutrientes, produção de metabólitos tóxicos ou atuação por parasitismo. Tais características podem explicar a atuação do isolado 4088 como hiperparasita do fitopatógeno e inibidor de crescimento deste através de metabólitos liberados na fruta, corroborando com resultados semelhantes encontrados na literatura.

Nesse aspecto, os dados apresentados por Adedeji et al. (2008) corroboram com a eficiência no uso de antagonistas, ao relatar a redução de 85% da incidência da podridão-parda do cacauzeiro causada por *P. megakarya* tratadas com um isolado de *Trichoderma harzianum*. Assim como Dianese (2006) ao estudar o antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. contra *P. palmivora* do mamoeiro, encontrou inibição, com diferentes isolados de *Trichoderma*.

Outros autores relatam o comportamento de algumas espécies de *Trichoderma* como biocontroladores em diferentes patossistemas. Contudo, o controle biológico é a redução da quantidade de inóculo ou da atividade de produção da doença pelo patógeno realizado por um ou mais organismos (Cook e Baker, 1983). Dessa forma, o controle biológico raramente

elimina o patógeno, mas reduz a concentração de propágulos e conseqüentemente, a sua habilidade de produzir doença. A utilização de agentes de controle biológico, como os fungos do gênero *Trichoderma*, pode não ser a solução única para o controle da podridão dos frutos de mamoeiro. Porém, baseado nesses resultados é mais uma ferramenta viável que deve ser utilizada no manejo dessa doença.

## REFERÊNCIAS

ADEDEJI, A. R.; ODEBODE, A. C.; AGBENIYI, S. O. Bioassay of five *Trichoderma* strains against *Phytophthora megakarya* (Cacao pod-rot) in Nigeria. **Scientific Research and Essay**, v. 3, p. 390-394, 2008.

AGRIANUAL 2011: **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio. 2010.

ALEXANDER, B. J. R.; STEWART, A. Glasshouse screening for biological control agents of *P. cactorum* on apple (*Malus domestica*). **New Zealand Journal of Crop Horticultural**, v. 3, p. 159-169, 2001.

AMORIM, E. P. R.; ITAMAR, S. D. Efeito da associação de antagonistas no controle de *Phytophthora parasítica* e *P. citrophthora* em plântulas de citros. **Summa Phytopathologica**, v. 35 p. 335-338, 1999.

ARANGUREN, M., GARCIA, A., GRILLO, H. *In vitro* evaluation of three isolates of *Trichoderma* antagonists of post harvest pathogens of citrus fruits. **Plant Disease**, v. 21, p. 2-46, 1994.

BATTA, Y. A. Effect of treatment with *Trichoderma harzianum* Rifai formulated in invert emulsion on postharvest decay of apple blue mold. **International Journal of Food Microbiology**, v. 96, n. 3, p. 281-288, 2004.

BENÍTEZ, T.; LIMÓN, A. M.; CODÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International microbiology**, v. 7, p. 249-260, 2004.

BUENO, B.; SILVA, L. P. Avaliação de Controlbio 2001 (*Trichoderma* sp.) no controle de *Phytophthora palmivora* no mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 387, 2001.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. The nature and practice of biological control of plant pathogens. St. Paul: **The American Phytopathology Society**. 1983.

COSTA, J. L. D. S.; MENGE, J. A.; CASALE, W. L. Biological control of *Phytophthora* root rot of avocado with microorganisms grown in organic mulches. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, p. 239-246, 2000.

DIANESE, A. D. C. **Variabilidade e controle de *Phytophthora palmivora* (Podridão-do-pé) e controle da varíola (*Asperisporium caricae*) do mamoeiro (*Carica papaya*)**. Tese de Doutorado, Universidade de Brasília, Brasília. 2006, 109p.

ELAD, Y. Biological control of grape grey mould by *Trichoderma harzianum*. **Crop Protection**, v. 13, p. 35-38, 1994.

FAO. FAOSTAT. FAO statistical data bases. Roma: World Agricultural Information Centre, 2010. <http://apps.fao.org>

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium (Lavras)**, v. 6, p. 36-41, 2008.

GOLAM, M., MORTUZA-ILAG, L. L. Biological control of *Colletotrichum* rot in banana fruits by *Trichoderma* species. **Bangladesh Journal of Plant Pathology**, v. 14, p. 21-24, 1998.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol-changes in perception derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v. 84, p. 377-392, 2000.

IBGE. Produção Agrícola Municipal, 2010. [www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/](http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/)

JANISIEWICZ, W. J.; KORSTEN, L. Biological control of postharvest diseases of fruit. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, n. 1, p. 411-441, 2002.

KADER, A. **Postharvest Technology of Horticultural Crops**. Riverside: UC Regents, v.3, 2002. 235p.

KANNWISCHER, M. E.; MITCHELL, D. J. The influence of a fungicide on the epidemiology of black shank of tobacco. **Phytopathology**, v. 68, p. 1760-1765, 1978.

KUBICEK, C. P.; MACH, R. L.; PETERBAUER, C. K.; LORITO, M. *Trichoderma*: from genes to biocontrol. **Journal of Plant Pathology**, v. 83, p. 11-23, 2001.

LUZ, E. D. M. N.; MATSUOKA, K. Doenças causadas por Phytophthora no Brasil. In: LUZ, E. D. M. N.; SANTOS, A. F.; MATSUOKA, K.; BEZERRA, J. L. (Ed.). **Phytophthora: Fungo protista ou Chromista?**: Livraria e Editora Rural, 2001. p.1-21.

MAY, L. L.; GHINI, R.; KIMATI, H. Solarização e *Trichoderma* para controle de Phytophthora parasitica em mudas de citros **Laranja**, v. 22, p. 395-409, 2001.

MERTZ, L. M.; HENNING, F. A.; ZIMMER, P. D. Bioprotetores e fungicidas químicos no tratamento de sementes de soja. **Ciência Rural**, v. 39, p. 13-18, 2009.

NALLATHAMBI, P.; UMAMAHESWARI, C.; THAKORE, B. B. L.; MORE, T.A. Post-harvest management of ber (*Ziziphus mauritiana* Lamk) fruit rot (*Alternaria alternata* Fr. Keissler) using *Trichoderma* sp., fungicides and their combinations. **Crop Protection**, v. 28, n. 6, p. 525-532, 2009.

OLIVEIRA, S. M. A.; TERAPO, M.; DANTAS, S. A. F.; TAVARES, S. C. C. H. **Patologia pós-colheita**: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais, Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 855p.

OLIVEIRA, T. A. S.; PEREIRA, C. F.; OLIVEIRA, J. S.; NIELLA, G. R. **Potencial de isolados de *Trichoderma* sp. para biocontrole de *Fusarium subglutinans* f. sp. ananas**. X Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas. UFRPE, Recife - PE. 2009.

PAJMON, A.; MACEK, J.; CELAR, F. Control of Strawberry Rot (*Botrytis cinerea*) with the Mycofungicide Trichodex. Mededelingen Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste **Biologische Wetenschappen**, Universiteit Gent. p. 343-347, 1995.

PRATELLA, G. C.; MARI, M. Effectiveness of *Trichoderma*, *Gliocladium* and *Paecilomyces* in post harvest fruit protection. **Postharvest Biological Technology**, v. 3, p. 49-56, 1993.

RITZINGER, C. H. S. P.; SOUZA, J. S. (Eds.). Mamão: Fitossanidade. Cruz das Almas: EMBRAPA. 2000.

ROBERTS, P.; KUCHARÉK, T. **Florida Plant Disease Management Guide: Cucumber**. Cooperative Extension Service/Institute of Food and Agricultural. <http://edis.ifas.ufl.edu>. 2005.

SASTRACHIDAYAT, I. R. Integrated control of purple blotch disease (*Alternaria porri*) on garlic. **Agrivita**, v. 18, p. 36-41, 1995.

SILVA, D. G. S. Podridão das raízes e dos frutos do mamoeiro. In: LUZ, E. D. M. N. S., DOS A.F.; MATSUOKA, K.; BEZERRA (Ed.). **Doenças causadas por Phytophthora no Brasil**. Livraria e Editora Rural, 2001. p. 413-432.

SILVA, G. S.; URBEN, A. F.; DOIHARA, I. P. Ocorrência de *Phytophthora palmivora* em mamoeiro no Estado do Maranhão. **Fitopatologia Brasileira**, v. 18, p. 32, 1999.

TAVARES, G. M. **Podridão do pé do mamoeiro: infestação em solos de cultivo, controle alternativo com indutores de resistência e *Trichoderma* e avaliação dos mecanismos de defesa envolvidos**. 2009. 113, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

TOCAFUNDO, T.; SANTOS, T. R.; BEZERRA, J. L.; LUZ, E. D. M. N. Avaliação de isolados de *Trichoderma* spp. no controle de *Phytophthora palmivora* em frutos de mamoeiro. **Agrotrópica**, v. 22, p. 37-44, 2010.

WILSON, C. I.; EL GHAOUTH, A.; CHALUTZ, E.; DROBY, S.; STEVENS, C.; LU, J. Y.; KHAN, V.; ARUL, J. Potential of induced resistance to control postharvest diseases of fruits and vegetables. **Plant Disease**, St. Paul, v.78, n.9, p.837-844, 1994.

## Capítulo V

---

---

**Controle da podridão dos frutos de mamoeiro causada por *Phytophthora palmivora* com fosfitos e acibenzolar-S-metil na pré e pós-colheita**

## RESUMO

A podridão dos frutos causada por *Phytophthora palmivora* é responsável por perdas significativas na quantidade e qualidade de frutos de mamão. A fim de minimizar e controlar as doenças, principalmente em locais com clima e umidade favoráveis aos patógenos, medidas de controle químico são adotadas. Porém, estas medidas elevam o custo na produção e causam impactos ambientais que podem ser severos. Alternativamente existem métodos e produtos biológicos, assim como tratamentos culturais eficientes no controle de doenças e menos agressivos ao ambiente. Os fosfitos e Acibenzolar-S-Metil são responsáveis pela produção de substâncias de autodefesa em diversas culturas e foram avaliados neste trabalho quanto a eficácia do controle da podridão de frutos de mamão 'Sunrise Solo' tipo exportação, cultivados no Sul da Bahia, em diferentes dosagens e apresentações comerciais na pré e pós-colheita. Foram avaliadas a severidade e a porcentagem de controle da doença quando comparados ao fungicida e a testemunha. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ). Para os tratamentos pré-colheita, aplicados aos seis dias antes da colheita, o fosfito de potássio  $240 \text{ g L}^{-1}$  de  $\text{K}_2\text{O}$ ,  $340 \text{ g L}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$  e 5% de  $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$  (Reforce<sup>®</sup> + Acido Salicílico) nas duas dosagens testadas foi significativamente superior aos demais tratamentos, incluindo a testemunha. E influenciou diretamente na retardação da maturação da fruta. Na pós-colheita, o indutor de resistência Acibenzolar-S-Metil permitiu a redução na severidade da doença.

**Palavras-chave:** Controle alternativo, retardação de maturação



## ABSTRACT

The fruit rot caused by *Phytophthora palmivora* is responsible for significant losses in quantity and quality of papaya fruit. To minimize and control diseases, especially in areas with climate and humidity favorable to pathogens, are adopted chemical measures controls, sometimes increase the cost of production and cause severe environmental impacts. Alternatively there are methods and biological products, well as effective cultural practices in disease control and less aggressive to environment. With emphasis on the phosphites and acibenzolar-S-Methyl for production responsible of substances to self-defense in various cultures, which were evaluated in this study on the control effectiveness of papaya fruit rot at different dosages in pre and postharvest. We evaluated the severity and percentage of disease control when compared to fungicide and witness subjected to variance analysis by the Scott-Knott test ( $p \leq 0.05$ ). For the preharvest treatments (applied to six Harvester Day Before), the Potassium phosphite  $240 \text{ g L}^{-1}$  de  $\text{K}_2\text{O}$ ,  $340 \text{ g L}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$  e 5% de  $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$  (Reforce<sup>®</sup> + Salicylic Acid) were significantly higher than other treatments, including the witness, which was directly influenced on fruit ripening lag. On postharvest the resistance inducer acibenzolar-S-methyl permitted a reduction in disease severity and disease control.

**Keywords:** Alternative control, ripening lag

## INTRODUÇÃO

Várias doenças comprometem a fruticultura e são de difícil controle e manejo acarretando custos e danos ao ambiente quando aplicados incorretamente. Sobretudo para doenças fúngicas cujo patossistema, geralmente, é propício a manutenção do patógeno com ou sem hospedeiro, a exemplo da podridão dos frutos de mamoeiro, causadas por *P. palmivora* (BONETI et al., 2001).

Neste contexto estão inseridos os fungicidas, maciçamente utilizados na agricultura em todo mundo, com ação rápida e eficiente que, no entanto, causam efeitos adversos devido ao uso indiscriminado e são nocivos ao ser humano, contaminam solos e águas e geram a bioacumulação (BARRA et al., 2005). Em contrapartida tratamentos culturais, controle biológico e físico podem substituir e/ou diminuir o uso de fungicidas, assim como reduzir perdas ocasionadas pelas doenças com menor impacto ambiental (KRAUSS; SOBERANIS, 2001). Adicionalmente são utilizados produtos, como as fitoalexinas, indutores de resistência e adubos foliares, que estimulam a produção de substâncias que conferem proteção natural ao fruto, aumentando a resistência ou controlando o patógeno durante o armazenamento e a vida de prateleira (FORBES-SMITH, 1999). De modo geral, tais aplicações em pré-colheita proporcionam reduções na incidência das doenças, suprimindo a disseminação do inóculo inicial dos patógenos e, assim, diminuindo as podridões pós-colheita dos frutos (WILSON et al., 1994; IPPOLITO; NIGRO, 2000).

O acibenzolar-S-metil (ASM ou benzotiadiazol) é um importante ativador químico de resistência de plantas a doenças, que mesmo sem agir diretamente sobre o patógeno é rapidamente absorvido pelos tecidos foliares e confere à planta aumento de resistência sistêmica adquirida, que envolve o ácido salicílico como sinalizador (CONRATH et al., 2001; DURRANT; DONG, 2004). É considerado um dos principais elicitores (agentes ativadores de resistência) de fitoalexinas, que são metabólitos secundários produzidos pela planta em resposta a estresses físicos, químicos ou biológicos e atuam sobre fungos, causando granulação citoplasmática, desorganização celular, ruptura da membrana celular e inativação de enzimas fúngicas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

Já os fosfitos agem inibindo o crescimento micelial e a esporulação do patógeno, além de induzir, na planta hospedeira, a produção de fitoalexinas, fenilalanina-amônia-liase e compostos como a lignina e o etileno os quais atuam no processo de defesa da planta contra a infecção pelo patógeno (GUEST; BOMPEIX, 1990; NEMESTOTHY; GUEST, 1990; PANICKER; GANGADHARAN, 1999). Devido ao alto grau de solubilidade e mobilidade,

os fosfitos são efetivos no controle de doenças causadas por Oomycetos, como *Phytophthora*, *Plasmopara*, *Pythium*, *Peronospora* entre outros (FOSTER et al., 1998). O efeito direto do fosfito no metabolismo dos patógenos é importante na supressão da doença, contudo, este não deve ser o único mecanismo de ação do produto no controle do patógeno que, na realidade, resultaria de uma ação mista, envolvendo também a ativação do sistema de defesa natural da planta (SMILLIE et al., 1989). Os sais de fosfito também estão sendo usados com sucesso em doenças que acometem importantes culturas, como: videiras, tomate, citros, soja, mamão, batata, melão, maçã dentre outras (SMILLIE et al., 1989; BENHAMOU; BÉLANGER, 1998; BOKSHI; JOBLING, 2000; HUANG et al., 2000; MCDONALD et al., 2001; BRACKMANN et al., 2004; RIBEIRO JR. et al., 2006; DIANESE et al., 2007; DIANESE et al., 2009).

A natureza sistêmica e persistente de enzimas de defesa em tecidos de plantas pode ser importante em retardar a ativação de infecções latentes que tipicamente ocorrem quando a resistência dos tecidos declina (VENTURA; COSTA, 2002). Assim, tratamentos com indutores de resistência podem ser importantes para muitas doenças pós-colheita, consistindo em ferramenta adicional e eficiente no manejo de doenças. Por conseguinte, este trabalho objetivou avaliar o efeito de diferentes dosagens e apresentações comerciais de três fosfitos e um acibenzolar-S-metil comparado com fungicida padrão em frutos de mamão Sunrise Solo, tipo exportação produzidos no extremo sul da Bahia, que é um dos principais produtores e exportadores desta fruta.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Inóculo e inoculação**

Foi utilizado o isolado 356 de *P. palmivora* Coleção de Phytophthora Arnaldo Gomes Medeiros, sediada no CEPEC, Bahia, Brasil.

O isolado foi repicado para placas de Petri, contendo meio seletivo PARPH (KANNWISCHER; MITCHELL, 1978), acondicionados por cinco dias ao abrigo da luz a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Em seguida foi repicado para meio de cultivo cenoura-ágar (CA) em discos de 5 mm de diâmetro. As placas foram mantidas em BOD sob luz contínua a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , durante nove dias para a esporulação. Após a inoculação em frutos de mamoeiro e manifestação dos sintomas, foi re-isolado em meio seletivo e, as culturas, mantidas em tubos de ensaio contendo CA, preservadas pelo método de Castellani para estudos posteriores. As suspensões de *P. palmivora* foram obtidas a partir de 20 placas contendo esporângios do patógeno. A cada placa foram adicionados 8 mL de água destilada esterilizada (ADE) gelada. Para liberação dos zoósporos as placas foram submetidas a choque térmico ( $5 \pm 2^\circ\text{C}$ ) por 20 minutos seguidos de ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) por 25 minutos. A concentração de zoósporos foi determinada e padronizada a  $5 \times 10^5$  zoósporos  $\text{mL}^{-1}$  com o auxílio de câmara de Neubauer (Hemocitômetro), adicionando-se 20  $\mu\text{L}$  de solução fixadora FAA (formol, álcool e ácido acético), para a paralisação e contagem dos zoósporos.

Os experimentos foram realizados em campo (Fazenda Alegria, localizada no município de Vera Cruz, rodovia Eunápolis/Porto-Seguro) utilizando mamoeiros com idade de um ano e nove meses irrigados com sistema de irrigação. E, no Laboratório de Phytophthora (Departamento de Fitopatologia da CEPLAC). Para todos os experimentos foram utilizados frutos sadios, de tamanho uniforme, com mamão da variedade Sunrise Solo, no estágio 2 de maturação (RITZINGER; SOUZA, 2000). Após colhidos, os frutos foram lavados com sabão e água corrente e desinfetados superficialmente em solução de hipoclorito de sódio ( $\text{NaClO}$ ) a 1% e secos a temperatura ambiente.

### **Eficiência de fosfitos e do Acibenzolar-S-Metil contra a podridão dos frutos na pré-colheita**

Os produtos foram aplicados com pulverizador costal, aos seis e três dias antes da colheita (DAC), nos frutos, até o ponto de escorrimento e no meristema apical. Para os

fosfitos foram avaliadas duas dosagens (3 e 6 mL L<sup>-1</sup>) em três formulações distintas das marcas comerciais utilizadas: Nutri Phite<sup>®</sup> (403,26 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 434,28 g L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>); Reforce<sup>®</sup> (240 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 340 g L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; Reforce + ácido salicílico<sup>®</sup> (240 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, 340 g L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 5% de C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>). Como indutor de resistência foi aplicado 50% de Acibenzolar-S-Metil (Bion<sup>®</sup>) nas dosagens de 0,15 e 0,30 g L<sup>-1</sup> e o fungicida Ridomil Gold<sup>®</sup> (metalaxil-M 40g kg<sup>-1</sup> e mancozeb 640 g kg<sup>-1</sup>) na dosagem de 2 g L<sup>-1</sup> (Tabela 1). Para as avaliações em laboratório, foram selecionadas cinco plantas de mamoeiro, ao acaso, e coletados 20 frutos por tratamento, os quais foram acondicionados em sacos plásticos individualizados para o transporte.

As inoculações com *P. palmivora* foram feitas na região equatorial da fruta em epiderme intacta (sem ferimento), com disco de papel filtro esterilizados de 5 mm de diâmetro embebido em suspensão de 5x10<sup>5</sup> de zoósporos mL<sup>-1</sup>. A testemunha foi inoculada com disco de papel filtro embebido em água destilada esterilizada. Os tratamentos foram mantidos em câmara úmida (saco plástico umedecido com água destilada) por 72h a 25 ± 2 °C.

**Tabela 1.** Concentração do princípio ativo e dose das substâncias usadas no experimento.

Tratamentos	Formulação	Produtos Comerciais	Dosagem
T1	50% de Acibenzolar-S-Metil	Bion <sup>®</sup>	0,15 g L <sup>-1</sup>
T2	50% de Acibenzolar-S-Metil	Bion <sup>®</sup>	0,30 g L <sup>-1</sup>
T3	403,26 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> O e 434,28 g L <sup>-1</sup> de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Nutri Phite <sup>®</sup>	3 mL L <sup>-1</sup>
T4	403,26 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> O e 434,28 g L <sup>-1</sup> de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Nutri Phite <sup>®</sup>	6 mL L <sup>-1</sup>
T5	240 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> O e 340 g L <sup>-1</sup> de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Reforce <sup>®</sup>	3 mL L <sup>-1</sup>
T6	240 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> O e 340 g L <sup>-1</sup> de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Reforce <sup>®</sup>	6 mL L <sup>-1</sup>
T7	240 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> O, 340 g L <sup>-1</sup> de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> e 5% de C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	Reforce <sup>®</sup> + AS	3 mL L <sup>-1</sup>
T8	240 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> O, 340 g L <sup>-1</sup> de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> e 5% de C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	Reforce <sup>®</sup> + AS	6 mL L <sup>-1</sup>
T9	Metalaxil-M 40 g Kg <sup>-1</sup> e Mancozeb 640 g kg <sup>-1</sup>	Ridomil Gold <sup>®</sup>	2 g L <sup>-1</sup>
T10	Água Destilada Esterilizada	Testemunha positiva	-
T11	Água Destilada Esterilizada	Testemunha negativa	-

### **Eficiência de fosfitos e do Acibenzolar-S-Metil contra a podridão dos frutos na pós-colheita**

Este experimento foi desenvolvido no Laboratório de Phytophthora, Seção de Fitopatologia da CEPLAC, com 20 frutas por tratamento selecionadas de cinco plantas de mamoeiro. As frutas foram imersas por 5 minutos em recipientes contendo cada produto,

conforme descrito na Tabela 1. Seguida da secagem espontânea das frutas e dos procedimentos de inoculação e incubação mencionados no item anterior.

### **Efeito dos fosfitos e do Acibenzolar-S-Metil sobre características químicas do mamão**

Para fins de avaliação dos teores de ácido ascórbico (vitamina C), acidez total titulável (ATT), sólidos solúveis totais (SST), potencial hidrogeniônico (pH) e a razão SST/ATT, após tratamentos com produtos à base de fosfitos e Acibenzolar-S-Metil foram coletadas amostras de 150 g de polpa de cada fruto por repetição, após oito dias de inoculação (DAI).

Para análise de ATT, foram obtidos percentuais de ácido cítrico, utilizando a técnica descrita na A.O.A.C. (1990). O potencial hidrogeniônico (pH) foi aferido em potenciômetro Quimis Modelo Q 400 A e os teores de sólidos solúveis totais (SST) foram mensurados em refratômetro graduado, Modelo Rez (0-32 ° Brix). O teor de ácido ascórbico foi determinado segundo metodologia especificada por Bezerra Neto et al. (1994).

### **Delineamento experimental, avaliação da doença e análise estatística**

Todos os experimentos foram realizados em duplicata com intervalo de 30 dias para comprovação dos resultados. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três períodos de aplicação, 11 tratamentos, 10 repetições por tratamento e duas frutas por parcela, totalizando 660 frutas. Foram realizados dois experimentos distintos para comprovação de dados.

A severidade foi avaliada após retirada da câmara úmida (48h) pela mensuração da área lesionada externa, medindo o diâmetro da lesão em dois sentidos diametralmente opostos com auxílio de um paquímetro digital, sendo este valor subtraído do diâmetro inicial do disco de papel (5mm), obtido pela fórmula:  $S = (\pi \times D1 \times D2) / 4$ ; Sendo: S = área da lesão; D1 = diâmetro1; D2 = diâmetro2, durante oito dias após incubação.

A área média das lesões obtidas para todos os tratamentos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ), utilizado o programa SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2008).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De modo geral a dosagem e o período de aplicação de cada produto testado influenciaram diretamente na redução da severidade da podridão dos frutos causado por *P. palmivora*. Os produtos a base de fosfito foram mais eficientes quando aplicados na pré-colheita e os indutores de resistência a base de Acibenzolar-S-Metil na pós-colheita (Tabela 2). Como não houve diferença estatística pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ) quando comparados os dois experimentos, foi possível utilizar dados combinados com análise conjunta dos mesmos.

### **Eficiência de fosfitos e Acibenzolar-S-Metil sobre a podridão dos frutos na pré e pós-colheita.**

Para os tratamentos com aplicação dos produtos aos 6 DAC, destacou-se a maior dosagem (T8) do Reforce<sup>®</sup> + Ácido salicílico (240 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, 340 g L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 5% de C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>), estatisticamente superior ao fungicida (T9) e demais tratamentos, com área de lesão, aos 8 DAI do patógeno de 460,25 mm<sup>2</sup> (Tabela 2). Entretanto em termos de percentual de controle da doença não tenha diferido estatisticamente entre os tratamentos com maior (T8) e menor (T7) dosagem de Reforce<sup>®</sup> + Ácido salicílico (Tabela 3). Portanto, os resultados obtidos neste experimento reforçam que a utilização de produtos contendo nutrientes como os fosfitos são eficientes no controle de doenças de plantas (SAUTTER et al., 2008), e tem reduzido doenças em plantas, principalmente causadas por oomicetos (FOSTER et al., 1998).

Corroborando os resultados obtidos por Sônego et al. (2003), que observaram controle do míldio de 97% em folhas e cachos, após aplicação de fosfito de potássio em videira da cultivar Cabernet Sauvignon, desempenho superior ao proporcionado pelo fungicida. Também com videiras Pereira et al., (2010) observaram que pulverizações com os fosfitos de potássio (Reforce e Reforce + AS) proporcionaram menor severidade do míldio quando aplicados nas folhas. Assim como Brackmann et al. (2004) trabalhando com maçã “Fuji” tratadas com fosfito de potássio que apresentaram menor diâmetro de lesões de podridões pós-colheita durante o armazenamento. E Holderness (1992) utilizou fosfito de potássio para o controle da podridão-parda dos frutos e do cancro do cacauero (*Theobroma cacao* L.) causados por *P. palmivora*.

Apesar do modo de ação dos fosfitos não ter sido elucidado com exatidão, sendo utilizado como adubo foliar ou como fungicida tópico (GUEST; GRANT, 1991), alguns

trabalhos demonstraram que eles agem sobre o patógeno diretamente ou indiretamente além de ativar o sistema de defesa vegetal induzindo a resistência sistêmica pela indução da síntese de fitoalexinas, compostos fenólicos em geral e proteínas relacionadas à patogênese (BÉCOT et al., 2000; JACKSON et al., 2000; DANIEL; GUEST, 2005; SAUTTER et al., 2008).

Os tratamentos T1 e T2 - Bion® (50% de Acibenzolar-S-Metil), T4 - Nutri Phite® (403,26 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 434,28 g L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), T6 - Reforce® (240 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 340 g L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) e T7 (Reforce® + ácido salicílico) não diferiram estatisticamente entre si quando aplicados aos 6 DAC em relação a severidade da doença, resultando em valores estatisticamente semelhante quando comparados com o fungicida (T9) na proteção dos frutos (Tabela 2). Novamente o tratamento T2 quando aplicado aos 3 DAC foi estatisticamente semelhante ao fungicida (T9), tanto em termos de severidade (áreas de lesões) de 2.069,25 mm<sup>2</sup> (Tabela 2) como em percentual de controle 78,58% (Tabela 3), conferindo resultado equivalente ao do fungicida aplicado no controle da podridão dos frutos causado por *P. palmivora*.

A aplicação de ASM na pré-colheita (6 DAC e 3 DAC) pode ter induzido resistência sistêmica adquirida (RSA), proporcionando a proteção dos frutos de mamoeiro o que permitiu diminuição na severidade da doença. Visto que o ASM é ativador químico de resistência de plantas a doenças e esse produto não tem ação direta sobre o patógeno, mas sua estrutura espacial, semelhante ao ácido salicílico, desenvolve papel importante na transdução de sinal (STICHER et al., 1997; CONRATH et al., 2001). Conforme observado em plantas suscetíveis de tomateiro, que desenvolveram resistência sistêmica ao *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* em resposta a aplicação de ASM, diminuindo significativamente o número de lesões nas raízes e reduzindo o desenvolvimento da doença através da formação de barreiras estruturais (BENHAMOU; BÉLANGER, 1998).

Para os tratamentos aplicados depois da colheita (DDA), foi observado que T1 e T2 foram eficientes na proteção do mamão contra a podridão dos frutos, com percentual de controle de 51,52% e 56,59% respectivamente (Tabela 3), sendo estatisticamente semelhante ao fungicida (62,8%). Ambos os tratamentos apresentaram diminuição significativa na severidade da doença com área de lesão de 2368,06 mm<sup>2</sup> para T1 e 2115,01 mm<sup>2</sup> para T2 quando comparados com a testemunha (T10), cujo valor foi de 3888,24 mm<sup>2</sup> (Tabela 2).



**Tabela 2.** Efeito de produtos formulados a base de fosfito de potássio e acibenzolar-S-metil na severidade da podridão dos frutos causada por *Phytophthora palmivora* na pré e pós-colheita.

Trat	Formulação	Área lesionada (mm <sup>2</sup> )		
		6 DAC <sup>(3)</sup>	3 DAC	DDC <sup>(4)</sup>
T1	50% de Acibenzolar-S-Metil	1761,87 <sup>(1)</sup> bA <sup>(2)</sup>	3305,43cB	2368,06bA
T2	50% de Acibenzolar-S-Metil	1465,84bA	2069,25bA	2115,01bA
T3	403,26 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> O e 434,28 g L <sup>-1</sup> de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	4148,42cA	4657,14dA	3581,17dA
T4	403,26 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> O e 434,28 g L <sup>-1</sup> de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	2300,84bA	3030,61cB	3453,08dB
T5	240 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> O e 340 g L <sup>-1</sup> de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	3474,23cA	4516,24dA	3862,78dA
T6	240 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> O e 340 g L <sup>-1</sup> de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	1742,81bA	4143,87dC	3277,77dB
T7	240 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> O, 340 g L <sup>-1</sup> de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> e 5% de C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	1023,83bA	3103,94cB	3339,55dB
T8	240 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> O, 340 g L <sup>-1</sup> de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> e 5% de C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	460,25aA	3383,25cB	2598,57cB
T9	Metalaxil-M 40 g kg <sup>-1</sup> e Mancozeb 640 g kg <sup>-1</sup>	1193,50bA	1395,06bA	1812,60bA
T10	Água Destilada Esterilizada	7063,23dB	8140,81eC	3888,04dA
T11	Água Destilada Esterilizada	0,00aA <sup>(4)</sup>	0,00aA	0,00aA
	Média	2239,53A	3431,42C	2754,24B
	CV (%)	28,28	21,19	21,37

<sup>(1)</sup>Área média de crescimento micelial de *P. palmivora* em mm<sup>2</sup> referente a 20 repetições (experimento 1 e 2);

<sup>(2)</sup>Valores seguidos pela mesma letra minúscula em cada coluna e mesma letra maiúscula em cada linha, não diferem estatisticamente, segundo o teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ); <sup>(3)</sup>Dias antes da colheita; <sup>(4)</sup>Depois da colheita.

As frutas tratadas com indutores intensificam uma reação de defesa antes da invasão dos microrganismos, desencadeando uma resposta de defesa à infecção. Sendo assim a aplicação de indutores (ASM) no início da fase pós-colheita retarda o processo de infecção, prolongando a vida dos frutos no armazenamento (FORBES-SMITH, 1999). Uma alternativa para conferir proteção ao fruto é estimular a produção de substâncias naturais, entre elas as fitoalexinas, para aumentar a resistência ou para controlar o patógeno, durante o armazenamento e a vida de prateleira. As fitoalexinas são metabólitos secundários, antimicrobianos, produzidos pela planta em resposta a estresses físicos, químicos ou biológicos. O modo de ação sobre os fungos inclui granulação citoplasmática, desorganização celular, ruptura da membrana celular e inativação de enzimas fúngicas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

Em pós-colheita, tem sido utilizado o acibenzolar-S-metil em maçãs ‘Golden Delicious’, no manejo ao *Penicillium expansum* e *Botrytis cinerea* (SPADARO et al., 2004), e em melão (HUANG et al., 2000). Também em mamão Dantas et al. (2004) avaliaram o

potencial do acibenzolar-S-metil na proteção de frutos de mamoeiro contra podridões e observou que os indutores são eficazes no controle dessas doenças.

O tratamento T8 (240 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, 340 g L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 5% de C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>) foi o mais eficiente entre os fosfitos testados quando aplicado na pós-colheita, diferindo estatisticamente dos demais e da testemunha, resultando na diminuição na severidade da doença (2598,57 mm<sup>2</sup>) (Tabela 2) e percentual de controle de 46,67%, significativamente superior quando comparado com a testemunha (Tabela 3).

**Tabela 3.** Percentual de controle da podridão dos frutos causado *Phytophthora palmivora* por produtos formulados a base de fosfito de potássio e acibenzolar-S-metil na pré e pós-colheita.

Trat.	Formulação	Controle de <i>P. palmivora</i> (%)		
		6 DAC <sup>(3)</sup>	3 DAC	DDC <sup>(4)</sup>
T1	50% de Acibenzolar-S-Metil	78,83cC	65,79cB	51,50dA
T2	50% de Acibenzolar-S-Metil	82,39cB	78,58dB	56,59dA
T3	403,26 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> O e 434,28 g L <sup>-1</sup> de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	50,17bB	51,80bB	26,51bA
T4	403,26 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> O e 434,28 g L <sup>-1</sup> de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	72,36cB	68,64cB	29,13bA
T5	240 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> O e 340 g L <sup>-1</sup> de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	58,27bB	53,26bB	20,21bA
T6	240 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> O e 340 g L <sup>-1</sup> de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	79,06cC	57,12bB	32,73bA
T7	240 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> O, 340 g L <sup>-1</sup> de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> e 5% de C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	87,70dC	67,82cB	31,46bA
T8	240 g L <sup>-1</sup> de K <sub>2</sub> O, 340 g L <sup>-1</sup> de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> e 5% de C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	94,47dC	64,99cB	46,67cA
T9	Metalaxil-M 40 g kg <sup>-1</sup> e Mancozeb 640 g kg <sup>-1</sup>	85,66cB	85,56dB	62,80dA
T10	Água Destilada Esterilizada	0,00aA	0,00aA	0,00aA
	CV (%)	16,09	14,93	13,56

<sup>(1)</sup>Percentual médio de controle de *P. palmivora* referente a 20 repetições (experimento 1 e 2); <sup>(2)</sup>Valores seguidos pela mesma letra minúscula em cada coluna e mesma letra maiúscula em uma linha, não diferem estatisticamente, segundo o teste de Scott-Knott (p≤0,05); <sup>(3)</sup>Dias antes da colheita; <sup>(4)</sup>Depois da colheita.

De modo geral, os tratamentos com fosfitos aplicados na pré-colheita proporcionaram reduções na severidade da doença, sugerindo uma persistência dos indutores aplicados, além de suprimir ou reduzir o inóculo inicial dos patógenos, que contribui para diminuir a podridão pós-colheita dos frutos (WILSON et al., 1994; IPPOLITO; NIGRO, 2000). Sendo observado neste trabalho, quando houve aumento na severidade da doença em relação ao período de aplicação com fosfitos, sugerindo que a aplicação do produto seja feita no mínimo 6 dias antes da colheita, possivelmente, pelo custo energético para planta após ser elicitada para produzir reações de defesa (HEIL, 2001).

Observado nos tratamentos com ASM e fosfitos, neste trabalho, foi à rápida resposta ao patógeno quando comparados com a testemunha (indução apenas pelo fungo). Esse comportamento segue a premissa de Dixon e Lamb (1990), ao sugerirem que a colonização do patógeno em plantas suscetível e resistente é devido ao atraso da expressão da RSA, causada pelos agentes indutores. Considerando-se que a rapidez com que a planta responde ao patógeno determina a eficiência da resistência de um hospedeiro considerado suscetível (BENHAMOU, 1996).

A natureza sistêmica e persistente de enzimas de defesa em tecidos das frutas pode ser importante em retardar a ativação de infecções latentes que tipicamente ocorre quando a resistência dos tecidos declina (VENTURA; COSTA, 2002). Assim, tratamentos com indutores de resistência podem ser importantes para muitas doenças pós-colheita, consistindo em mais uma ferramenta eficiente no manejo de doenças.

### **Efeito dos fosfitos sobre características químicas do mamão**

Os valores para sólidos solúveis totais (SST) encontrados nas frutas aplicadas com fosfitos foram: 4,8 a 12,3 °Brix quando aplicado 6 DAC; 7,0 a 11,8 °Brix quando aplicado 3DAC e 7,9 a 11,2 °Brix quando aplicado DDC (Tabela 4), ou seja estão dentro da faixa aceitável que é de 7,13 e 12,5 (JAGTIANI, 1988). Os sólidos solúveis totais (°Brix) são usados como índice de maturidade para alguns frutos. Gomes et al. (2002) relatam que os açúcares solúveis presentes nos frutos na forma combinada são responsáveis pela doçura, sabor e cor atrativas, quando combinados às antocianinas, e com influência na textura, quando combinados à polissacarídeos estruturais.

A acidez total titulável (ATT) é importante na caracterização do sabor do fruto (CHITARRA; CHITARRA, 2005), de modo geral os valores de ATT obtidos nesta pesquisa esta dentro da faixa aceitável para a fruta (Tabela 4) que varia de 0,10 a 1,15 g de ácido cítrico por 100 g de polpa (JAGTIANI, 1988).

**Tabela 4.** Características químicas de mamões inoculados com *Phytophthora palmivora* tratado com produtos a base de fosfito de potássio e acibenzolar-S-metil aos oito DDI.

Tratamento <sup>(3)</sup>	pH <sup>(4)</sup>	SST <sup>(5)</sup>	VC <sup>(6)</sup>	ATT <sup>(7)</sup>	SST/ATT <sup>(8)</sup>
T1	4,98 e	11,50 q	66,13 j	0,15 c	78,17 b
T2	4,89 e	10,70 m	64,48 g	0,13 b	86,60 c
T3	4,99 e	10,50 l	66,40 k	0,12 b	96,95 c
T4	4,59 c	10,80 m	72,57 s	0,11 a	102,01 c
T5	4,91 e	7,40 d	73,22 t	0,15 c	51,05 a
T6	4,91 e	12,30 s	75,34 v	0,13 b	103,18 c
T7	4,98 e	5,00 b	61,27 d	0,14 c	36,38 a
T8	4,80 d	4,80 a	52,00 a	0,14 c	35,51 a
T9	4,80 d	9,20 h	68,81 p	0,13 b	76,92 b
T10	4,89 e	11,30 p	66,25 j	0,11 a	106,75 c
6DAC <sup>(1)</sup> T11	4,71 d	12,20 s	70,87 r	0,12 b	108,16 c
T1	4,76 d	11,10 o	66,52 k	0,12 b	102,56 c
T2	4,58 c	10,10 j	70,57 q	0,15 c	68,63 b
T3	4,60 c	10,20 j	64,63 g	0,12 b	90,31 c
T4	4,70 d	8,80 f	66,92 l	0,11 a	90,53 c
T5	4,33 a	7,00 c	63,70 e	0,12 b	60,07 b
T6	4,60 c	10,10 j	67,48 o	0,11 a	98,86 c
T7	4,45 b	10,90 n	63,94 f	0,12 b	100,69 c
T8	4,67 d	10,30 k	73,20 t	0,11 a	97,26 c
T9	4,83 d	11,80 r	70,58 q	0,12 b	104,59 c
T10	4,69 d	11,50 q	63,97 f	0,10 a	135,06 c
3DAC T11	4,50 b	12,40 t	70,85 r	0,12 b	106,70 c
T1	4,79 d	10,30 k	67,07 m	0,17 d	62,28 b
T2	4,41 a	9,80 i	74,45 u	0,15 c	69,38 b
T3	4,47 b	10,20 j	82,12 x	0,13 b	80,55 b
T4	4,49 b	10,20 j	64,59 g	0,10 a	111,85 c
T5	4,47 b	10,90 n	78,62 w	0,12 b	100,69 c
T6	4,25 a	7,90 e	60,95 c	0,16 d	50,15 a
T7	4,49 b	9,00 g	65,23 h	0,13 b	72,75 b
T8	4,70 d	11,00 o	67,22 n	0,17 d	67,75 b
T9	4,56 c	10,90 n	66,54 k	0,15 c	74,08 b
T10	4,50 b	11,20 p	58,21 b	0,11 a	109,72 c
DDC <sup>(2)</sup> T11	4,44 b	12,40 t	66,00 i	0,12 b	114,72 c
C.V%	8,13	3,75	5,6	6,45	15,85

<sup>(2)</sup>pH= Potencial de hidrogeniônico; <sup>(3)</sup>SST= Sólidos solúveis totais a 20 °C(°Brix); <sup>(4)</sup>VC= Ácido ascórbico mg 100 g<sup>-1</sup>; <sup>(5)</sup>ATT= Acidez titulável total g 100 g<sup>-1</sup>; <sup>(6)</sup>SST/ATT= razão de sólidos solúveis totais/ acidez titulável total; <sup>(7)</sup>DDI=Dias Depois da Incubação; <sup>(8)</sup>Área média de crescimento micelial de *P. palmivora* em mm<sup>2</sup> referente a 20 repetições; <sup>(9)</sup>Valores seguidos pela mesma letra minúscula em cada coluna e mesma letra maiúscula em uma linha, não diferem estatisticamente, segundo o teste de Scott-Knott (p≤0,05).

O pH variou de 4,59 a 4,99 quando os fosfitos foram aplicado 6 DAC (Tabela 4), 4,33 a 4,83 quando aplicado 3DAC 4,25 a 4,79, quando aplicado DDC entre as frutas tratadas. Pequenas variações nessa característica podem causar alterações acentuadas no sabor da fruta. O teor de açúcares, assim como o pH, pode ser utilizado como índice de maturação para frutos de mamão papaia. As frutas tropicais são geralmente ácidas, com pH de até 5,59 para mamão (MAIA, 2007).

Os teores de ácido ascórbico (AA) em 100 g de polpa ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ ) nas frutas tratadas variaram entre 52 a 75,34 mg, quando aplicado 6 DAC; 63,7 a 73,2 mg quando aplicado 3 DAC e 60,95 a 82,12 mg, quando aplicado DDC (Tabela 4). De modo geral os valores de AA obtidos nesta pesquisa esta dentro da faixa aceitável para a fruta que varia de 43,9 a 89,61  $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$  (JAGTIANI, 1988).

Na razão SST/ATT, observaram-se variações de 31,51 a 103,18 quando aplicado 6 DAC (Tabela 3), com variações de 60,07 a 104,59 quando aplicado 3 DAC e de 50,15 a 111,85 DDC. Segundo Chitarra e Chitarra (2005), a razão SST/ATT é uma das formas mais utilizadas para avaliar sabor, sendo mais representativa que a medição isolada de açúcares ou de acidez, mostrando um equilíbrio entre esses dois componentes. Esta alta relação contribui com um gosto doce na fruta, tornando-a mais agradável ao paladar.

Quanto às características químicas, os tratamentos com fosfito, principalmente o Reforce<sup>®</sup> + ácido salicílico nas duas dosagens testadas (T7 e T8) quando aplicado 6 DAC, exerceu efeito significativo sobre as variáveis estudadas (Tabela 5), promovendo alterações fisiológicas nas frutas (Figuras 1A e 1B). Já aos 8 dias depois da incubação (DDI) para estes tratamentos, foi observado o retardamento na maturação das frutas nos tratamentos T7 e T8, o que possivelmente desfavoreceu a infecção de *P. palmivora* nas frutas devido a manutenção da parede celular dificultando a penetração do patógeno (Tabela 3), possivelmente devido ao decréscimo de substâncias pécticas, comum durante o amadurecimento (CHEN et al., 2007). Tais substâncias são responsáveis pelas mudanças de textura nos vegetais, com redução de firmeza devido ao amolecimento progressivo causado pela solubilização de protopectinas em pectinas ou ácido péctico (MACEDO et. al., 2005; UENOJO; PASTORE, 2007).

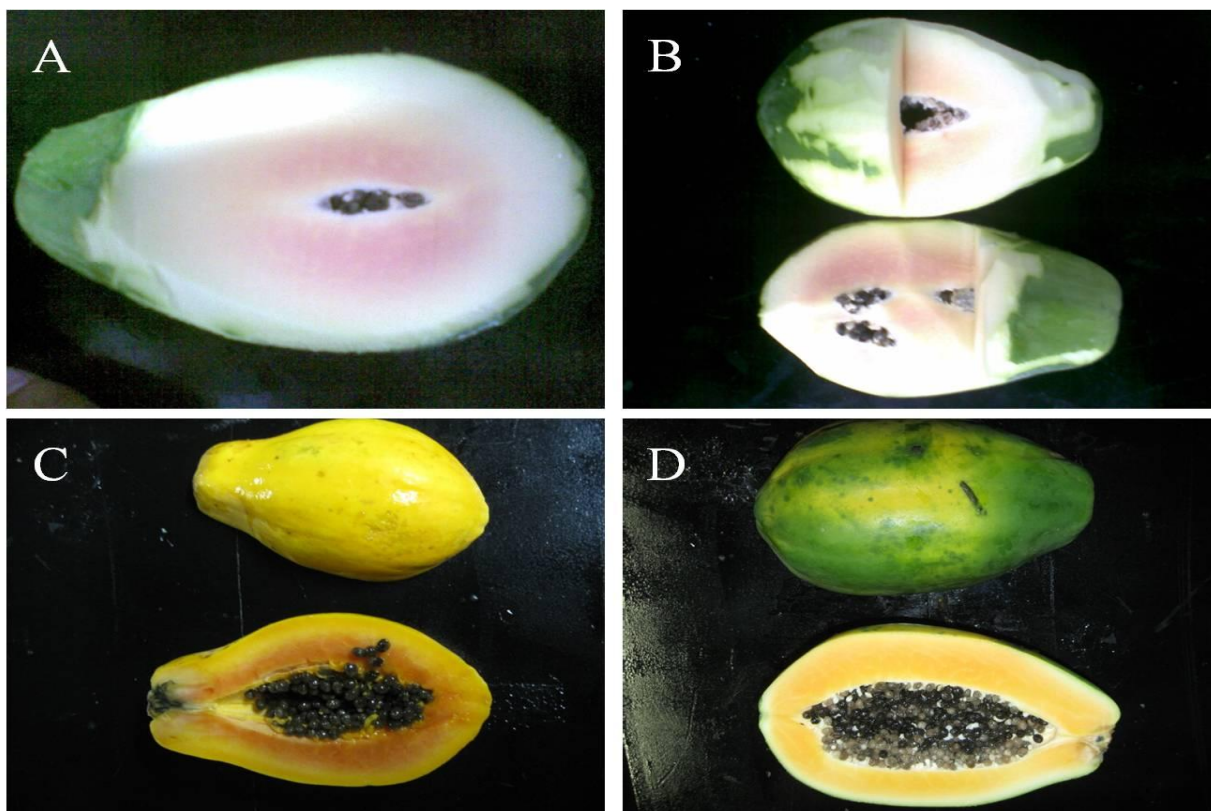
O mamão é considerado um fruto de vida pós-colheita muito curta, suscetível ao ataque de patógenos (COSTA; BALBINO, 2002). Sua capacidade de manter sua maturação após colheita é de aproximadamente por semana, quando inicia-se a degradação da parede celular por enzimas hidrolíticas, incluindo as pectinas liases (PLs), poligalacturonase (PGs) e a pectinametilesterase (PMEs), segundo Brummell e Harpster (2001).

**Tabela 5.** Características químicas de mamões inoculados com *Phytophthora palmivora* tratado seis dias antes da colheita, com duas dosagens de Reforce® + ácido salicílico, aos oito e dezoito dias depois da incubação.

Trat. <sup>(1)</sup>	pH <sup>(2)</sup>		SST <sup>(3)</sup>		VC <sup>(4)</sup>		ATT <sup>(5)</sup>		SST/ATT <sup>(6)</sup>	
	8 DDI <sup>(7)</sup>	18DDI	8 DDI	18DDI	8 DDI	18DDI	8 DDI	18DDI	8 DDI	18DDI
T7	4,98 <sup>(8)</sup> aA	4,56 aA	5,00 aA	8,00 aB	61,28 aA	69,15 aB	0,14 aA	0,14 aA	35,52 aA	88,71 aB
T8	4,80 aA <sup>(9)</sup>	4,61 aA	4,80 aA	8,10 aB	52,00 bA	70,91 bB	0,14 aA	0,13 aA	36,38 aA	97,47 aB
C.V%	7,89		4,44		3,01		9,04		13,74	

<sup>(1)</sup>T7- 240 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, 340 g L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 5% de C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub> (3 mL L<sup>-1</sup>) e T8- 240 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, 340 g L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 5% de C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub> (6 mL L<sup>-1</sup>); <sup>(2)</sup>pH= Potencial de Hidrogeniônico; <sup>(3)</sup>SST= Sólidos solúveis totais a 20°C(°Brix); <sup>(4)</sup>VC= ácido ascórbico mg 100g<sup>-1</sup>; <sup>(5)</sup>ATT= Acidez titulável total g 100 g<sup>-1</sup>; <sup>(6)</sup>SST/ATT= razão de sólidos solúveis totais/ Acidez titulável total; <sup>(7)</sup>DDI=Dias Depois da Incubação; <sup>(8)</sup>Área média de crescimento micelial de *P. palmivora* em mm<sup>2</sup> referente a 20 repetições; <sup>(9)</sup>Valores seguidos pela mesma letra minúscula em cada coluna e mesma letra maiúscula em uma linha, não diferem estatisticamente, segundo o teste de Scott-Knott (p<0,05).

Foi constatado, aos 18 DDI, amadurecimento normal da fruta, obtendo características químicas dentro da faixa aceitável (Tabela 5) e identificados através da mudança de coloração do fruto (Figuras 1C e 1D). Segundo Wall (2006), sólidos solúveis podem ser usados como índice de maturação, já que existe uma relação diretamente proporcional entre a formação de ácido ascórbico e dos sólidos solúveis totais, ou seja, ocorre aumento no teor de ácido ascórbico conforme a maturação do fruto. As alterações durante o amadurecimento do mamão podem ser facilmente identificadas devido a evidentes mudanças na coloração, aroma, sabor e textura destes frutos, que correspondem às principais transformações bioquímicas de interesse comercial, as quais ocorrem com os pigmentos, compostos voláteis, ácidos orgânicos e carboidratos desses frutos (GIL et al., 1995; HERNANDEZ et al., 1999; MELGAREJO; ARTES, 2000).



**Figura 1.** Efeito do Reforce®+AS na retardação de maturação de mamão ‘Sunrise Solo’ aplicado 6 dias antes da colheita. A-B) Características fisiológicas dos frutos 8 dias depois da incubação; C-D). Características fisiológicas dos frutos 18 dias depois da incubação.

## REFERÊNCIAS

A. O. A. C. Official methods of the Analytical Chemists. 15 ed. Arlington. 1990. 1213p.

BARRA, R.; COLOMBO, J. C.; EGUREN, G.; GAMBOA, N.; JARDIM, W. F.; MENDOZA, G. Persistent organic pollutants (POPs) in eastern and western South America countries. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 185, p. 1-33. 2005.

BÉCOT, S.; PAJOT, E.; LE CORRE, D.; MONOT, C.; SILUÉ, D. Phytogard ( $K_2HPO_3$ ) induces localized resistance in cauliflower to downy mildew of crucifers. **Crop Protection**, Surrey, v. 19, p. 417-425, 2000.

BENHAMOU, N. Elicitor-induced plant defense pathways. **Trends in Plant Science**, London, v.1, p. 233-240, 1996.

BENHAMOU, N.; BÉLANGER, R. R. Benzothiadiazolemediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicislycopersici* in tomato. **Plant Physiology**, v. 118, p. 1203-1212, 1998.

BEZERRA NETO, E.; ANDRADE, A. G.; BARRETO, L. P. **Análise química de tecidos e produtos vegetais**. Recife, UFRPE, 1994. 80p

BOKSHI, A.; JOBLING, J. Enhancing the natural disease resistance of potatoes. **Good Fruit and Vegetables Magazine**, Melbourne, v. 11, n. 6, p. 46-47, 2000.

BONETI, J. I. S.; KATSURAYAMA, Y. Podridão do colo da macieira (*Phytophthora* spp.). In: LUZ, E. D. M. N.; SANTOS, dos A. F.; MATSUOKA, K.; BEZERRA, L. J. **Doenças causadas por Phytophthora no Brasil**. Livraria e Editora Rural, p. 413-432, 2001.

BRACKMANN, A.; GIEHL, R. F. H.; IVAN SESTARI, I.; STEFFENS, C. A. Fosfitos para o controle de podridões pós-colheita em maçãs 'Fuji' durante o armazenamento refrigerado. **Ciência Rural**, v.34, p.1039- 1042, 2004.



BRUMMELL, D. A.; HARPSTER, M. H. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. **Plant Molecular Biology**, v. 47, p. 311-340, 2001.

CHEN, N. J.; MANENOI, A.; PAULL, R. E. Papaya postharvest physiology and handling - problems and solutions. **Acta Horticulturae**, v. 740, p. 285-294, 2007.

CHITARRA, M. I. F; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA, v.1, 2005, 785p.

CONRATH, U.; THULKE, O.; KATZ, V.; SCHWINDLING, S.; KOHLER, A. Priming as a mechanism in induced systemic resistance of plants. **European Journal of Plant Pathology**, v.107, p.113-119, 2001.

COSTA, A. F. S.; BALBINO, J. M. Características da fruta para exportação e normas de qualidade. In: FOLEGATTI, M. I. S.; MATSUURA, F. C. A. **Mamão: Pós-colheita**. Brasília: EMBRAPA-Mandioca e Fruticultura Tropical, 2002, 59p. (Frutas do Brasil, 21).

DANIEL, R.; GUEST, D. Defense responses induced by potassium phosphonate in *Phytophthora palmivora* challenged *Arabidopsis thaliana*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 67, p. 194-201, 2005.

DANTAS, S. A. F.; OLIVEIRA, S. M. A.; BEZERRA NETO, E.; COELHO, R. S. B. C.; SILVA, R. L. X. da. Indutores de resistência na proteção do mamão contra podridões pós-colheita. **Summa Phytopathologica**, v. 30, p. 314-319, 2004.

DIANESE, A .C.; BLUM, L. E. B.; DUTRA, J. B.; LOPES, L. F.; SENA, M. C.; FREITAS, L. F.; YAMANISHI, O.K. Redução da podridão do pé (*Phytophthora palmivora*) do mamoeiro (*Carica papaya*) por fosfitos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 166, 2007.

DIANESE, A .C.; BLUM, L. E. B.; DUTRA, J. B.; LOPES, L. F. Aplicação de fosfito de potássio, cálcio ou magnésio para a redução da podridão-do-pé do mamoeiro em casa de vegetação. **Ciência Rural**, v. 39, p. 2309-2314, 2009.

DIXON, R. A.; LAMB, C. J. Molecular communication in interactions between plants and microbial pathogens. **Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology**, v. 41. p. 339-367. 1990.

DURRANT, W. E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 42, p. 185-209, 2004.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium** (Lavras), v. 6, p. 36-41, 2008.

FORBES-SMITH, M. Induced resistance for the biological control of postharvest diseases of fruit and vegetables. **Food Australia**, North Sidney, v. 51, n. 8, p. 382-385, 1999.

FOSTER, H.; ADASCAVEG, J. E.; KIM, D. H.; STHANGELLINE, M. E. Effect of phosphite on tomato and pepper plants and on susceptibility of pepper to phytophthora root and crown rot in hydroponic culture. **Plant Disease**, Quebec, v. 82, n. 10, p. 1165-1171, 1998.

GIL, M. I., GARCIA-VIGUERA, C., ARTES, F.; TOMAS-BARBERAN, F. A. Changes in pomegranate juice pigmentation during ripening. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 5, n. 68, p. 77-81, 1995.

GOMES, P. M. de A., FIGUEIRÊDO, R. M. F., QUEIROZ, A. J. de M. Caracterização e isotermas de adsorção de umidade da polpa de acerola em pó. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.4, n. 2, p. 157-165, 2002.

GUEST, D. I.; BOMPEIX, G. The complex mode of action of phosphonates. **Australasian Plant Pathology**, v. 19, n. 4, p. 113-115, 1990.

GUEST, D.; GRANT, B. The complex action of phosphanates as antifungal agents. **Biological Reviews**, v. 66, p. 159-187, 1991.

HEIL, M. The ecological concept of costs of induced systemic resistance (ISR). **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 107, n. 1, p. 137-146, 2001.

HERNANDEZ, F., MELGAREJO, P., TOMAS-BARBERAN, F. A., ARTES, F. Evolution of juice anthocyanins during ripening of new selected pomegranate (*Punica granatum*) clones. **European Food Research Technology**, v. 1, p. 39-42, 1999.

HOLDERNESS, M. Comparison of metalaxyl/cuprous oxide and potassium phosphonate as sprays and trunk injections for control of *Phytophthora palmivora* pod rot and canker of cocoa. **Crop protection**, v. 11, n. 2, p. 141-147, 1992.

HUANG, Y.; DEVERALL, B. J.; TANG, W. H.; WANG, W.; WU, F. W. Foliar application of acibenzolar-S-methyl and protection of postharvest rock melons and Hami melons from disease. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 106, n. 7, p. 651-656, 2000.

IPPOLITO, A.; NIGRO, F. Impact of preharvest application of biological control agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. **Crop Protection**, Surrey, v. 19, n. 8-10, p.715-723, 2000.

JACKSON, T. J.; BURGESS, T.; COLQUHOUN, I.; HARDY, G. E. S. T. J. Action of the fungicide phosphite on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, v. 49, p. 147-154, 2000.

JAGTIANI, J. (ed.) **Tropical fruit processing**. San Diego: Academic Press, 1988, p. 184.

KANNWISCHER, M. E.; MITCHELL, D. J. The influence of a fungicide on the epidemiology of black shank of tobacco. **Phytopathology**, v. 68, p. 1760-1765, 1978.

KRAUSS, U; SOBERANIS, W. Biocontrol of cocoa pod diseases with mycoparasite mixtures, **Biological Control**, v. 22, p. 149-158, 2001.

MACEDO, G. A.; PASTORE, G. M.; SATO, H. H.; PARK, Y. K. **Bioquímica experimental de alimentos**. São Paulo: Varela, 2005, 187 p.

MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M; LIMA, A. S. **Processamento de sucos de frutas tropicais**. Fortaleza: Editora UFC, 2007.

MELGAREJO, P.; ARTES, F. Total lipids content and fatty acid composition of oil seed from lesser known sweet pomegranate clone. **Journal of the Food and Agriculture**, v. 80, p.1452-1454, 2000.

McDONALD, A. E.; GRANT, B. R.; PLAXTON, W. C. Phosphite (phosphorous acid): its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 24, n. 10, p. 1505-1519, 2001.

NEMESTOTHY, G. S.; GUEST, D. I. Phytoalexin accumulation, phenylalanine ammonia lyase activity and ethylene biosynthesis in fosetyl-Al treated resistant and susceptible tobacco cultivars infected with *Phytophthora nicotianae* var. *nicotianae*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 37, n. 3, p. 207-219, 1990.

PANICKER, S.; GANGADHARAN, K. Controlling downy mildew of maize caused by *Peronosclerospora sorghi* by foliar sprays of phosphonic acid compounds. **Crop Protection**, v. 18, n. 2, p. 115-118, 1999.

PEREIRA, V. F.; RESENDE, M. L. V.; MONTEIRO, A. C. A.; RIBEIRO JÚNIOR, P. M.; REGINA, M. A.; MEDEIROS, F. C. L. Produtos alternativos na proteção da videira contra o míldio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 1, p. 25-31, 2010.

RITZINGER, C. H. S. P.; SOUZA, J. S. (org.) **Mamão: Fitossanidade**. Cruz das Almas: EMBRAPA, 2000. 91p.

RIBEIRO JÚNIOR, P. M.; RESENDE, M. L. V. DE; PEREIRA, R. B.; CAVALCANTI, F. R.; AMARAL, D. R.; PÁDUA, M. A. de. Fosfito de potássio na indução de resistência a *Verticillium dahliae* kleb., em mudas de cacaueiro (*Theobroma cacao* L.), **Ciência e Agrotecnologia** v. 30, p. 629-636, 2006.

SAUTTER, C. K.; STORCK, L.; RIZZATI, M. R.; MALLMANN, C. A.; BRACKMANN, A. Síntese de trans-resveratrol e controle de podridão em maçãs com uso de elicitores em pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 1097-1103, 2008.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. da S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, v. 30, p. 129-37, 2000.

SMILLIE, R.; GRANT, B. R.; GUEST, D. The mode of action of phosphite: evidence for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* spp in plants. **Phytopathology**, v. 79, p. 921-926, 1989.

SÔNEGO, O. R.; GARRIDO, L. da R.; CZERMAINSKI, A. B. C. Avaliação de fosfitos no controle do míldio da videira. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. 18p. (Embrapa Uva e Vinho. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 11).

SPADARO, D.; GARIBALDI, A.; GULLINO, M. L. Control of *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* on apple combining a biocontrol agent with hot water dipping and Acibenzolar-S-Methyl, baking soda, or ethanol application. **Postharvest Biology and Technology**, v. 33, p. 141-151, 2004.

STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 35, p. 235-270, 1997.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinases: Aplicações industriais e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 388-394, 2007.

VENTURA, J. A.; COSTA, H. Controle de doenças em pós-colheita no mamão: estágio atual e perspectivas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 28, n.2, p. 137-138, 2002.

WALL, M. M. Ascorbic acid, vitamin A, and mineral composition of banana (*Musa* sp.) and papaya (*Carica papaya*) cultivars grown in Hawaii. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 434-445, 2006.

WILSON, C. I.; EL GHAOUTH, A.; CHALUTZ, E.; DROBY, S.; STEVENS, C.; LU, J. Y.; KHAN, V.; ARUL, J. Potential of induced resistance to control postharvest diseases of fruits and vegetables. **Plant Disease**, St. Paul, v. 78, n. 9, p. 837-844, 1994.

## **Conclusões Gerais**

---

---

- 1) Foi observado maior índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) para os isolados, 356, 363, 839, 1056, 1060 e 1189 nos estudos *in vitro*;
- 2) Os isolados 245, 355, 360, 362, 364, 365 e 839 não liberaram zoósporos sob as condições de cultivo utilizado, nos estudos *in vitro*;
- 3) Para os isolados 362 e 364 não houve liberação de zoósporos no cultivo *in vivo* e *in vitro*;
- 4) Os isolados que se demonstraram mais virulentos foram: 356, 357, 358, 359, 361, 363, 839, 1055, 1056, 1057, 1060 e 1189;
- 5) Os isolados provenientes do estado da Bahia demonstraram um comportamento mais virulento e mais agressivo do que os isolados provenientes do estado do Espírito Santo;
- 6) Os isolados 356 e 1060 apresentaram maior crescimento micelial, de aspecto altamente ‘cotonoso’ quando crescido em meio de cultura (CA) e na fruta;
- 7) No conjunto das características epidemiológicas estudadas os isolados 356 e 1060 se apresentaram como os mais agressivos nos estudo *in vivo*;
- 8) As maiores lesões causadas por *P. palmivora*, foram observadas nas maiores concentrações de inóculo, período de molhamento de 60 a 72 horas e temperatura de 25 a 30 °C;
- 9) As inoculações com disco contendo estruturas do fitopatógeno e ferimentos (T1, T2 e T3) para os três isolados estudados (356, 363 e 1060) resultou em maiores lesões sobre o hospedeiro;
- 10) O estágio de maturação influenciou significativamente na severidade da podridão dos frutos para os três isolados de *P. palmivora*, provocando infecção nos frutos;
- 11) Nos tratamentos onde o biocontrolador foi aplicado 1 hora e 24 horas antes do patógeno, houve diminuição na severidade da doença para o isolado 4088 (*T. longibrachiatum*);
- 12) No tratamento onde o antagonista foi inoculado 24 horas antes do patógeno, o isolado 4088 apresentou 88,64% de controle, comportamento semelhante estatisticamente ao fungicida;
- 13) A aplicação do Reforce<sup>®</sup> + ácido salicílico aos seis dias antes da colheita (DAC) foi eficiente no controle da doença e no retardo da maturação das frutas, para ambas as dosagens testadas (3 e 6 mL L<sup>-1</sup>);
- 14) A aplicação de Acibenzolar-S-Metil depois da colheita (DDC) nas duas dosagens testadas (0,15 e 0,30 g L<sup>-1</sup>) foi eficiente contra a podridão dos frutos.