

**PODRIDÃO PEDUNCULAR DO MAMÃO:
VARIABILIDADE DOS AGENTES
ETIOLÓGICOS E ASPECTOS
FISIOPATOLÓGICOS NA PÓS-COLHEITA**

ÂNGELA PIMENTA PERES

2002

TECH CENTRAL

53441

37860 MFN

ÂNGELA PIMENTA PERES

**PODRIDÃO PEDUNCULAR DO MAMÃO: VARIABILIDADE
DOS AGENTES ETIOLÓGICOS E ASPECTOS
FISIOPATOLÓGICOS NA PÓS-COLHEITA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de Doutor.

Orientador
Prof. José da Cruz Machado

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2002

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Peres, Ângela Pimenta

Podridão peduncular do mamão: variabilidade dos agentes etiológicos e aspectos fisiopatológicos na pós-colheita / Ângela Pimenta Peres. -- Lavras : UFLA, 2002.

141 p. : il.

Orientador: José da Cruz Machado.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Mamão. 2. Doença fúngica. 3. Podridão peduncular. 4. Pós-colheita. 5. Aspecto fisiopatológico. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-634.65194

ÂNGELA PIMENTA PERES

**PODRIDÃO PEDUNCULAR DO MAMÃO: VARIABILIDADE
DOS AGENTES ETIOLÓGICOS E ASPECTOS
FISIOPATOLÓGICOS NA PÓS-COLHEITA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 05 de abril de 2002

Dr. Celso Luiz Moretti – EMBRAPA/Hortaliças

Prof. Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima - UFLA

Profa. Dr^a Maria das Graças G. C. Vieira - UFLA

Prof. Dr. Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA



Prof. Dr. José da Cruz Machado
(Orientador) ;

**LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL**

A Kleber, meu marido,

DEDICO

Ao meu filho, Ciro,

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Carlos e Marília Pimenta Peres.

À Dermeval Araújo e família.

À Universidade Federal de Lavras.

À CAPES.

À EMBRAPA Hortaliças

Ao Prof. José da Cruz Machado.

Aos Professores Admilson e Maria Isabel Chitarra.

Aos Professores Luiz Carlos de Oliveira Lima, Maria das Graças G. C. Vieira e Mário Lúcio Vilela de Resende.

Aos pesquisadores do CNPH Celso Luiz Moretti, Gilmar Henz e Adonai Calbo.

Ao professor Osvaldo Yamanishi e à Agronol S.A.

Aos funcionários, professores e alunos dos Departamentos de Ciência dos Alimentos, Fitopatologia e Fitotecnia da UFLA.

Aos funcionários e estagiários dos Laboratórios de Fitopatologia e Pós-colheita do CNPH e do Laboratório de Análise de Alimentos da UFLA.

Aos amigos, Iraídes e Idalmo Garcia, Renata Silva Mann, Rose e Alexandre D'Andrea, Tânia Maria de Moura e Samara Belém Costa.

Aos colegas e amigos que conviveram comigo durante a minha estada na UFLA.

E a todos que ajudaram de alguma forma.

BIOGRAFIA

ÂNGELA PIMENTA PERES, filha de Carlos Guimarães Peres e Marília Pimenta Peres, nasceu em Montes Claros, Minas Gerais, em 20 de maio de 1967.

Graduou-se em Engenharia Agrônômica pela Universidade Estadual de Minas Gerais, *campus* de Ituiutaba, em dezembro de 1990.

De maio de 1991 a fevereiro de 1993 trabalhou como supervisora em escritórios da EMATER-MG na região norte de Minas Gerais. De abril a julho de 1993 exerceu o cargo de professora substituta no Núcleo de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, em Montes Claros-MG.

Em fevereiro de 1994 iniciou o curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração Fitossanidade/Fitopatologia, no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, concluindo-o em agosto de 1996.

Em setembro de 1996, iniciou o curso de Doutorado em Ciência dos Alimentos na Universidade Federal de Lavras, defendendo a tese em abril de 2002.

De junho de 1998 a fevereiro de 2002 foi professora na Escola Agrotécnica Federal de Urutaí/UNED, em Morrinhos, Goiás.

Atualmente faz parte do quadro de professores da Universidade Estadual de Goiás, unidade de Ipameri e Faculdade da Terra de Brasília-DF.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	iii
CAPÍTULO 1.....	1
1 Introdução Geral.....	2
2 Referencial Teórico.....	5
2.1 Principais agentes etiológicos associados à podridão peduncular do mamão.....	6
2.2 Patogênese da podridão peduncular do mamão.....	10
2.3 Medidas de controle da podridão peduncular do mamão.....	16
3 Referências Bibliográficas.....	24
CAPÍTULO 2: Variabilidade morfocultural e genética de isolados fúngicos associados à podridão peduncular do mamão.....	33
1 Resumo.....	34
2 Abstract.....	35
3 Introdução.....	36
4 Material e Métodos.....	38
4.1 Obtenção e procedência dos isolados dos principais patógenos associados à podridão peduncular do mamão.....	38
4.2 Variabilidade morfocultural dos isolados associados à podridão peduncular do mamão, <i>in vitro</i>	39
4.3 Variabilidade genética dos isolados obtidos em cultura pura.....	40
4.3.1 Cultivo dos isolados e extração do DNA genômico.....	41
4.3.2 Amplificação do DNA	41
4.4 Delineamento experimental e análise estatística	43
5 Resultados e Discussão	44
5.1 Índice de velocidade de crescimento micelial dos isolados associados à podridão peduncular do mamão.....	44
5.2 Variabilidade morfocultural das colônias dos isolados associados à podridão peduncular do mamão.....	48

	Página
5.3 Variabilidade genética dos isolados associados à podridão peduncular do mamão	54
6 Conclusões	64
7 Referências Bibliográficas.....	65
CAPÍTULO 3: Aspectos de parasitismo da podridão peduncular do mamão na pós-colheita	69
1 Resumo.....	70
2 Abstract.....	72
3 Introdução.....	73
4 Material e Métodos.....	76
4.1 ENSAIO 1: Virulência de isolados fúngicos associados à podridão peduncular do mamão e algumas alterações enzimáticas, físicas e físico-químicas dos tecidos infectados.....	76
4.1.1 Frutos utilizados.....	76
4.1.2 Inoculações.....	76
4.1.3 Preparo das amostras de frutos inoculados.....	77
4.1.4 Sintomas de infecção.....	78
4.1.5 Análises enzimáticas, físicas e físico-químicas dos tecidos infectados	78
4.1.5.1 Substâncias pécticas.....	78
4.1.5.2 Extração e atividade de pectinametilesterase.....	79
4.1.5.3 Extração e atividade de poligalacturonase.....	79
4.1.5.4 Açúcares solúveis totais.....	80
4.1.5.5 Vitamina C total.....	80
4.1.5.6 Sólidos solúveis totais (SST), acidez total titulável (ATT), pH e relação sólidos solúveis totais:acidez total titulável (SST/ATT)...	80
4.1.5.7 Perda de massa	81
4.1.5.8 Coloração.....	81
4.1.6 Delineamento experimental e análise estatística.....	81
4.2 ENSAIO 2: Produção de gás carbônico e etileno e outras alterações em mamões inoculados com agentes associados à podridão peduncular...	82
4.2.1 Frutos utilizados.....	82
4.2.2 Inoculação dos frutos.....	82
4.2.3 Avaliação da evolução do gás carbônico e etileno em mamões inoculados com isolados associados à podridão peduncular.....	83
4.2.4 Avaliações físico-químicas.....	85
4.2.4.1 Firmeza.....	85
4.2.4.2 Perda de massa, pH, Acidez total titulável (ATT), Sólidos solúveis totais (SST), Coloração, Virulência.....	85
4.2.5 Delineamento experimental e análise estatística.....	86
4.3.1 Tratamento dos frutos com 1-MCP.....	86

	Página
4.3.2 Inoculação dos frutos.....	87
4.3.3 Avaliações físicas e físico-químicas.....	87
4.4 Delineamento experimental e análise estatística.....	88
5 Resultados e Discussão.....	89
5.1 ENSAIO 1: Virulência dos isolados fúngicos associados à podridão peduncular do mamão e algumas alterações enzimáticas, físicas e físico-químicas dos tecidos infectados	89
5.1.1 Virulência dos isolados.....	89
5.1.2 Análises enzimáticas, físicas, físico-químicas dos tecidos infectados	94
5.1.2.1 Substâncias pécticas.....	94
5.1.2.2 Pectinametilesterase	97
5.1.2.3 Poligalacturonase.....	99
5.1.3 Vitamina C.....	101
5.1.4 Açúcares totais	103
5.1.5 Sólidos solúveis totais (SST), acidez total titulável (ATT), pH, e relação sólidos solúveis totais: acidez total titulável (SST/ATT).....	105
5.1.6 Perda de massa	109
5.1.7 Coloração.....	111
5.2 ENSAIO 2: Produção de gás carbônico e etileno e outras alterações em mamões inoculados com agentes associados à podridão peduncular... ..	113
5.2.1 Evolução do etileno e gás carbônico em mamões inoculados com isolados associados à podridão peduncular.....	113
5.2.2 Análises físicas e físico-químicas de frutos inoculados e armazenados	118
5.2.2.1 Perda de massa, firmeza e coloração.....	118
5.2.2.2 Acidez total titulável (ATT) e pH.....	118
5.2.2.3 Sólidos solúveis totais (SST) e relação SST:ATT.....	120
5.2.2.4 Virulência.....	120
5.3 ENSAIO 3: Desenvolvimento da podridão peduncular do mamão e atributos de qualidade do fruto tratado com 1-Metilciclopropeno	121
5.3.1 Sólidos solúveis totais (SST).....	121
5.3.2 Virulência.....	123
5.3.3 pH.....	124
5.3.4 Coloração.....	126
5.3.5 Firmeza.....	128
5.3.6 Acidez total titulável (ATT).....	129
5.3.7 Relação sólidos solúveis totais:acidez total titulável (SS/AT).....	131
6 Conclusões.....	133
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	134
7 Referências Bibliográficas.....	136

RESUMO

PERES, Ângela Pimenta. **Podridão peduncular do mamão: variabilidade dos agentes etiológicos e aspectos fisiopatológicos na pós-colheita.** 2002. 141p. Tese - (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG¹

A podridão peduncular dos frutos de mamoeiro surge após a colheita, geralmente decorrente de fungos que se desenvolvem no local do corte do pedúnculo. Esses agentes podem afetar o metabolismo dos frutos nessa fase, comprometendo a qualidade do produto. Objetivou-se, com este trabalho, estudar a variabilidade dos agentes etiológicos associados à doença e os aspectos de parasitismo de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Phoma caricae papayae* e *Fusarium solani*, no pedúnculo dos frutos de mamoeiro. A variabilidade genética dos isolados foi feita por meio de dendrogramas e coeficientes de similaridade obtidos em análises de AFLP. A variabilidade morfocultural foi feita por meio de índice de velocidade de crescimento micelial e características de colônia, como coloração e aspecto do micélio. Para avaliação dos aspectos de parasitismo, foram montados três ensaios. No primeiro ensaio, avaliaram-se a virulência dos isolados fúngicos por meio de notas de sintomas de infecção além de alterações físicas, químicas e bioquímicas dos tecidos infectados. Num segundo ensaio, foram avaliadas a produção de gás carbônico e etileno e outras alterações físico-químicas de mamões inoculados. No terceiro ensaio, foram verificadas interferências do tratamento de mamões tratados com 1-metilciclopropeno (1-MCP) no desenvolvimento da podridão peduncular causada por *C. gloeosporioides*. Verificou-se uma variabilidade genética entre os isolados das três espécies. Para índice de doença e notas de sintomas, houve diferenças significativas entre os frutos inoculados com isolados dos fungos, comparados à testemunha. No meio BDA e de mamão, foi verificado um maior e mais rápido crescimento micelial para a maioria dos isolados testados, e houve variações nas colorações das colônias desses isolados nos diferentes meios de cultura. De uma maneira geral, os frutos inoculados com os fungos mostraram-se com altos índices de pectinametilsterase (PME) e baixas quantidades de poligalacturonase (PG), baixos teores de açúcares e vitamina C e elevado pH e baixa acidez. Quando os frutos inoculados foram avaliados para a produção de

¹ Comitê Orientador: José da Cruz Machado-UFLA (Orientador), Admilson Bosco Chitarra-UFLA, Luiz Carlos de Oliveira Lima-UFLA e Maria das Graças G. C. Vieira-UFLA.

gás carbônico e etileno, não foram verificadas diferenças significativas para perda de massa, firmeza e coloração. Para acidez e sólidos solúveis, houve diferenças significativas entre os frutos inoculados com os patógenos e a testemunha, e os frutos inoculados apresentaram valores mais baixos dessas variáveis. Foi observado que o 1-MCP proporcionou alterações consideradas positivas nos frutos em alguns atributos importantes na qualidade, como maior acidez, valores mais elevados de sólidos solúveis e maior firmeza; no entanto, não foi verificada nenhuma redução no desenvolvimento de *C. gloeosporioides* no pedúnculo.

ABSTRACT

PERES, Ângela Pimenta. **Stem-end rot of papaya: variability of the causal agents and aspects of post-harvest parasitism.** 2002. 141p. Thesis (Doctorate in Food Science) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG²

The stem-end rot of papaya is a complex disease caused by some fungi which start infection in fruits following harvest. Those fungi may affect fruit metabolism in different intensities making fruits to be rejected by consumers. This research work was aimed at investigating the variability of the fungi causing that disease i.e. *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium solani* and *Phoma caricae papayae* and some aspects of their post harvest parasitism in fruits under controlled conditions. In the first part of the work, variability of different isolates of the three species were verified considering morphocultural and molecular variables. In culture fungi were compared for colony characteristics and growth rates. AFLP markers were used to know the genetic diversity among isolates. In the second part of this Thesis fungi were inoculated artificially in fruits and comparison between isolates were made taking infection index, alterations in physics and chemical properties of fruits, production of polygalacturonase (PG) and pectinametilsterase (PME), and development of the disease under open and closed systems. From the *in vitro* assays, it was possible to see that both species and isolates of each species presented a large variation. For the majority of the parameters analyzed there was consistency in relation to fungal isolates. Morphocultural characteristics were proved as an unreliable mean to distinguish isolates with accuracy. By use of AFLP markers it was possible to characterize 4 groups of isolates within *C.gloeosporioides*, *F. solani* and *P.caricae papayae*. In the second part of the work, the three species of fungi were able to cause infection in fruits at different levels and patterns. Infection by *C. gloeosporioides* was more severe followed by *P.caricae papayae* and *F.solani*. For the formers, infected tissues become dark around inoculation site. One isolate of *C.gloeosporioides* and one isolate of *P.caricae papayae* were seen to be very aggressive under the conditions of this investigation. Infected fruits presented higher activity of PG and PME, lower levels of vitamin C, soluble solutes, high pH and abnormal values that are indicative of quality for

² Guidance Commite: José da Cruz Machado-UFLA (Adviser), Admilson Bosco Chitarra-UFLA, Luiz Carlos de Oliveira Lima-UFLA and Maria das Graças G. C. Vieira-UFLA.

consumption. There was no difference between inoculated fruits and non inoculated fruits regarding levels of CO₂ and ethylene produced by fruits. Infection by *C.gloeosporioides* was not influenced by 1-MCP treatment in the present work, although treated fruit presented better quality in terms of acidity, soluble solutes and texture.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO GERAL

O mercado mundial de frutas frescas movimenta anualmente um montante de US\$ 20 bilhões. A demanda mundial desse mercado tem se mostrado extremamente dinâmica nos últimos anos, havendo por parte dos consumidores europeus, norte-americanos e de alguns países asiáticos um crescente interesse pelas frutas tradicionais tropicais de boa qualidade (Agroanalysis, 1999).

O Brasil é, atualmente, o maior produtor mundial de frutas, com uma produção de 32 milhões de toneladas, uma área cultivada de 2 milhões de hectares, com geração de 4 milhões de empregos diretos e indiretos. Entretanto, a participação desse segmento no comércio externo de frutas frescas é ainda tímida, mesmo tendo o País as condições ideais para garantir um mercado mais expressivo. Entre os obstáculos atuais que impedem um crescimento maior do mercado de frutas no Brasil, estão as barreiras tarifárias e sanitárias impostas pelos países consumidores, as grandes perdas na colheita e pós-colheita, heterogeneidade nos serviços de classificação e embalagem, além de uma marcante ausência de *marketing*.

O mamão brasileiro tem tido boa aceitação pelos consumidores americanos, mercado conquistado a partir de 1998 por algumas empresas brasileiras, que têm seguido as normas estabelecidas pelo USDA, após adoção do Sistema Integrado de Medidas para Diminuição de Risco - *System Approach*.

O fruto brasileiro apresenta excelente qualidade, ótimo sabor, boa aparência, e pode ser exportado durante os doze meses do ano. Essa regularidade de suprimento é uma das grandes vantagens competitivas do mamão brasileiro, diante dos demais países fornecedores desse produto.

Dados dos últimos dez anos deixam claro que o Brasil é o maior produtor mundial de mamão, o México o maior exportador e os Estados Unidos o principal importador (Manica & Oliveira Júnior, 2000). As exportações do mamão no Brasil representam 2% do total de todas as espécies exportadas, e, do total de mamão produzido no País, 3.300.000 t em 40.000 ha (Agrianual, 2002), apenas 1% é exportado.

Essa discreta posição na pauta de exportações de frutas frescas deve-se também, entre outras razões, à sua fragilidade na fase pós-colheita, levando a perdas advindas de moléstias ou podridões que surgem nessa fase. Entre essas doenças, encontra-se a podridão peduncular, que surge quando os fungos desenvolvem-se no local do corte do pedúnculo, ou nas rachaduras, ou mesmo nos ferimentos que ocorrem durante a colheita.

Diversos patógenos têm sido relatados como membros do complexo da podridão do pedúnculo do fruto, sendo citados na literatura *Phoma caricae-papayae*, *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium* spp, *Phomopsis* sp, *Alternaria alternata*, *Stemphylium lycopersici*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Mycosphaerella* sp. As medidas de controle limitam-se a evitar ferimentos durante as fases de colheita, transporte e armazenamento, além de alguns tratamentos químicos e físicos dos frutos, e desinfestação dos depósitos de armazenagem.

A identificação dos mecanismos envolvidos nesse processo patogênico é de suma importância, pois possibilita o manejo mais adequado dos frutos e fornece subsídios para posteriores trabalhos de melhoramento genético em mamoeiros, associando às características comerciais desejáveis do fruto a resistência às doenças.

Assim sendo, objetiva-se com a presente pesquisa detectar a variabilidade que existe entre os agentes que causam a podridão peduncular e verificar algumas alterações de natureza diversa que ocorrem no processo de

parasitismo dos frutos pelos principais componentes causadores dessa doença. Busca-se, em última análise, conhecer melhor os eventos que caracterizam a podridão peduncular, considerando-se a produção de alguns compostos e alterações físico-químicas na composição dos frutos portadores dessa enfermidade.

Como objetivos específicos, são propostos, portanto:

- 1) Isolar, caracterizar e diferenciar os fungos associados à podridão peduncular do mamão, por meio de aspectos culturais e moleculares;
- 2) Verificar a virulência e suas implicações em frutos infectados artificialmente pelos agentes causais da podridão peduncular;
- 3) Avaliar o efeito do 1-metilciclopropeno (1-MCP) no desenvolvimento da podridão peduncular causada por *Colletotrichum gloeosporioides*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Doenças causadas por fungos são uma das maiores causas das perdas pós-colheita de produtos agrícolas destinados ao consumo ou à indústria (Sommer, 1985). Estima-se que essas perdas têm sido da ordem de 25% nos países desenvolvidos e 50% nos países em desenvolvimento (Droby, 2000).

Segundo Chitarra & Chitarra (1990), as perdas pós-colheita variam significativamente nas diferentes etapas, em função da safra, variedade, doenças, clima, sistema de colheita, processamento, armazenamento, manuseio e comercialização, bem como da condição social e cultural da população considerada.

De maneira geral, pode-se atribuir a essas perdas três causas principais: aquelas resultantes dos processos fisiológicos de amadurecimento em si; as provindas dos efeitos físicos do manuseio, e aquelas provenientes de doenças pós-colheita (Salunkhe & Desai, 1984).

Na cultura do mamão, a incidência de doenças causadas por fungos, tanto no pomar quanto na fase pós-colheita, exerce uma ação limitante sobre a produção final e o valor comercial dos frutos. Segundo Chalfoun & Lima (1986) na fase pós-colheita, o ataque de fungos torna-se importante, principalmente por causa da relação dos mesmos à queda no valor nutricional dos frutos. Citam esses autores que em mamão foi verificado que frutos sadios apresentam um aumento no teor de vitamina C nos primeiros quatro dias e, posteriormente, ocorre um rápido declínio, ao passo que, em frutos infectados, esse declínio acontece desde o primeiro dia após a sua colheita.

Frutos e hortaliças possuem propriedades físicas e químicas que alteram a suscetibilidade à infecção e o desenvolvimento de doenças pós-colheita (Eckert, 1975). À medida que o fruto amadurece ele torna-se mais suscetível a

infecções na pós-colheita. Várias teorias têm sido propostas para explicar esse fenômeno, e entre elas estão fatores nutricionais, enzimas, toxinas, reconhecimento patógeno-hospedeiro e metabolismo energético (Eckert, 1977; Simmonds, 1963, Tomkins, 1951).

Informações a respeito das modificações físicas e bioquímicas que ocorrem nos frutos durante a infecção por organismos fitopatogênicos são importantes para elucidar os processos de desenvolvimento de muitas doenças, uma vez que essa interação envolve modificações profundas no fruto que, na maioria das vezes, produz substâncias associadas à resistência. Tais informações certamente são importantes para desenvolver medidas de controle baseadas na modificação da resposta do hospedeiro (Bostock & Stermer, 1989).

2.1 Principais agentes etiológicos associados à podridão peduncular do mamão

As podridões pedunculares de frutos que compõem a denominada “podridão peduncular do mamão” surgem após a colheita, quando os fungos desenvolvem-se no local do corte do pedúnculo, ou nas rachaduras, ou mesmo nos ferimentos que ocorrem durante a colheita (Bleinroth, 1995). De acordo com conceitos estabelecidos em Fitopatologia, a podridão peduncular é um complexo de doenças que inclui vários fungos responsáveis, como *Colletotrichum* sp, *Phoma* sp, *Fusarium* sp, *Alternaria* sp, *Cladosporium* sp, etc. Essas doenças são difíceis de serem distinguidas em frutos em estágios iniciais de pós-colheita, exceto por observações microscópicas e, por isso, são conhecidas como “doenças de armazenamento”.

Segundo Medina (1989), alguns outros gêneros de fungos podem também ser responsáveis pelas podridões pedunculares em mamoeiro, como *Botryodiplodia* sp, *Phomopsis* sp, *Stemphylium lycopersici* e *Mycosphaerella* sp.

A podridão causada por *Colletotrichum gloeosporioides* geralmente manifesta-se em frutos em adiantado estágio de desenvolvimento ou já maduros, mas o fungo pode penetrar os frutos ainda verdes e aí permanecerem em estado quiescente, até que se estabeleçam condições propícias para o seu desenvolvimento, o que geralmente ocorre com o amadurecimento.

Segundo Eckert (1975), infecções de mamões por *C. gloeosporioides* desenvolvem-se no fruto na presença de água livre na superfície dos mesmos, condição essa que permite a germinação de esporos e a penetração. Baseado em estudos de Stanghellini & Aragaki (1966), pode-se concluir que lesões nos mamões maduros podem ter início a partir de apressórios do tubo germinativo, que penetram através dos estômatos nos frutos ainda imaturos e permanecem quiescentes nas cavidades subestomatais.

A temperatura de 30 °C é considerada ideal para o crescimento micelial e germinação de esporos de *C. gloeosporioides* (Akamine & Arisumi, 1953). Smith & Black (1990) descreveram diferenças culturais entre *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* e *C. fragariae* isolados de morango e verificaram que *C. gloeosporioides* teve um crescimento rápido a 32 °C, formando conídios cilíndricos com finais arredondados e micélio de coloração verde-escura. Gupta & Nema (1979), trabalhando com diferentes temperaturas e umidade no desenvolvimento de podridões de mamão, concluíram que a doença causada por *C. papayae* (syn. *C. gloeosporioides*) foi favorecida por temperaturas que variaram entre 25-30 °C e alta umidade relativa, enquanto temperaturas mais baixas ou elevadas reduziram o desenvolvimento da doença.

Silva (1999), em trabalhos sobre o desenvolvimento de metodologias de inoculação para patógenos associados à podridão peduncular do mamão, sob temperaturas de 20 e 25 °C, não encontrou significância estatística entre as temperaturas, sugerindo, por conseguinte, a temperatura de 25 °C para posteriores ensaios de laboratório em estudos com essa enfermidade.

De acordo com Kaufmann & Weidemann (1996), *C. gloeosporioides* é uma espécie de fungo geneticamente variável, capaz de causar doença em uma ampla variedade de hospedeiros. Vários métodos moleculares e genéticos têm sido testados para diferenciar isolados desse patógeno em diferentes hospedeiros vegetais (Bonde *et al.*, 1991). Entre esses métodos, a eletroforese de proteínas tem sido usada para caracterizar isolados desse fungo em diferentes hospedeiros e estimar a correlação genética dentro e entre grupos de isolados (Digby & Weidemann, 1991). A eletroforese de isoenzimas foi usada por Kaufmann & Weidemann (1996), que verificaram uma grande diversidade fenotípica entre isolados de *C. gloeosporioides* obtidos de cinco gêneros de hospedeiros diferentes. Os autores discutem que o rearranjo cromossômico pode desempenhar um importante papel na geração dessa variabilidade e que esse processo pode acontecer tanto no crescimento somático quanto na recombinação parasexual, podendo haver uma adição ou deleção de cromossomas durante a evolução do patógeno.

Métodos para análise genética de microrganismos em nível de DNA têm sido utilizados para se evitar ambigüidades fisiológicas e ambientais. Nesse âmbito, os marcadores moleculares RFLPs (Polimorfismo de tamanho de fragmentos amplificados) e RAPDs (Polimorfismo de fragmentos amplificados ao acaso) permitem uma rápida comparação dos genomas dos microrganismos. Sreenivasaprasad *et al.* (1992) utilizaram análises de RAPD e RFLP para diferenciar espécies e isolados de *C. acutatum*, *C. fragariae* e *C. gloeosporioides* de morango. Os autores verificaram que os isolados de *C. acutatum* foram heterogêneos na composição molecular e distintos de *C. gloeosporioides* e *C. fragariae*.

De modo geral, *Fusarium* spp causa podridões em frutos, mas em mamão, *Fusarium solani* é o mais comum. *F. solani* é um patógeno que requer algum tipo de fator de predisposição, como estresse ou injúria dos frutos antes

do seu estabelecimento. Segundo Reis *et al.* (1997), a doença causada por esse fungo é mais comum quando há prevalência de condições de alta umidade e alta incidência de outros patógenos de pós-colheita, quando, então, o fungo ocorre como invasor secundário. Frequentemente, esse fungo tem sido visto como um invasor secundário em lesões causadas por *C. gloeosporioides* (Quimio, 1976).

Em mamões, os sintomas de *Fusarium* podem ocorrer tanto na superfície como no pedúnculo e caracterizam-se por lesões de cerca de 15 mm de diâmetro e deprimidas. Nas lesões, são produzidos micélio branco e massa de confídios (Saxena & Sharma, 1981; Alvarez & Nishijima, 1987).

Ascochyta caricae-papayae (syn. *Phoma caricae papayae*) mostrou estar associado a podridões na polpa de frutos de mamoeiro (Campacci, 1951; Mattos *et al.*, 1974). As lesões causadas por este fungo são negras, apresentando um aspecto mumificado, com picnídios separados e embebidos no tecido doente (Hunter & Buddenhagen, 1972). Esse patógeno é também o principal causador de podridões pedunculares em mamões no Havaí (Hunter & Buddenhagen, 1972; Chau e Alvarez, 1979).

Chau & Alvarez (1979) estudaram o papel dos ascosporos de *Mycosphaerella*, forma sexuada de *Phoma caricae papayae*, na podridão peduncular de frutos de mamão e verificaram que o patógeno foi capaz de invadir o fruto por aberturas naturais no pedúnculo, e os frutos mostraram sintomas iniciais da doença após 3 a 4 dias, com extensivo escurecimento no sétimo dia de inoculação. Os autores discutem que os ascosporos desse patógeno, presentes nos frutos caídos no solo, penetram pelo pedúnculo quebrado e invadem os tecidos vasculares em poucas horas.

Bleinroth (1995) caracteriza a podridão causada por *Mycosphaerella* sp. como uma área translúcida ao redor do pedúnculo. No estágio inicial, somente uma leve cor marrom do pedúnculo é identificada como o tecido vascular sendo atacado pelas hifas do fungo. Em estágio mais adiantado, as bordas permanecem

traslúcidas e o tecido infectado torna-se enrugado, seco e de cor preta. No estágio avançado, forma-se um micélio branco na inserção do pedúnculo.

2.2 Patogênese da podridão peduncular do mamão

As doenças pós-colheita podem ser iniciadas por dois tipos distintos de mecanismos infectivos:

- 1) a infecção ativa, com processo que se desenvolve à medida que as condições ambientais são favoráveis ao crescimento do patógeno;
- 2) a infecção quiescente, que é iniciada antes da maturidade do hospedeiro, mas que torna-se ativa apenas após a colheita, quando o fruto amadurece. (Eckert, 1977).

Em mamões, esporos de *C. gloeosporioides* germinam sob condições de umidade na superfície dos frutos, durante o seu desenvolvimento ainda na planta. O apressório é formado no final do tubo germinativo, em algumas horas previamente à infecção (Stanguellini & Aragaki, 1966). Esse apressório é considerado mais resistente às condições desfavoráveis, se comparado aos esporos e, além disso, ele se adere fortemente à superfície dos frutos para dar suporte mecânico durante o processo de infecção (Greene, 1966). Esse fenômeno, denominado quiescência ou infecção quiescente, pode permanecer por meses com o fungo ainda viável, ou desenvolver a doença assim que o fruto amadurece.

Segundo Hwang *et al.* (1995), sinais químicos, como produção de fosfato e íons cálcio, monossacarídeos, acroleína e gradientes de pH, assim como a temperatura, induzem à formação do apressório. Prusky (1996) afirma que a modulação dos mecanismos da quiescência por métodos biológicos, físicos e químicos pode fornecer subsídios para novas opções de controle de danos pós-colheita e reduzir o uso de agrotóxicos.

Durante os eventos que envolvem o amadurecimento de frutos, ocorrem inúmeras mudanças bioquímicas, normalmente resultando num aumento no teor de açúcares solúveis, o que contribui para uma maior sobrevivência e crescimento de fungos fitopatogênicos (Dennis, 1983). Prusky (1996) afirma que o etileno produzido pelo hospedeiro no processo de maturação atua como um sinal para a finalização da dormência do apressório na superfície do fruto. Esses dados foram verificados em experimentos *in vitro* utilizando-se concentrações de etileno muito menores que aquelas produzidas durante o amadurecimento do fruto, o que induziu à germinação e formação de apressório (Flaishman & Kolattukudy, 1994).

Quando o patógeno confronta-se com a parede celular vegetal, esse enfrenta uma barreira complexa, composta por polímeros associados através de diferentes ligações químicas, que requerem enzimas específicas para a sua degradação (Bateman & Basham, 1976).

Um aspecto característico de muitos microrganismos patogênicos é sua habilidade em produzir uma série de enzimas capazes de degradar os polímeros complexos daquele tipo de parede celular. Em muitas infecções causadas por agentes microbianos, a permeabilidade da parede celular é alterada, levando à penetração do patógeno e posterior colonização dos tecidos vegetais (Bateman & Basham, 1976). Um dos sintomas mais comuns das doenças pós-colheita é a desorganização do tecido do hospedeiro, resultado da ação dessas enzimas secretadas por patógenos. Em muitos casos, essa interação resulta numa podridão mole, processo denominado maceração. A finalidade dessas enzimas é tanto romper barreiras e defesas quanto colocar em disponibilidade nutrientes a partir de substâncias constituintes dos tecidos vegetais infectados.

Segundo Rodrigues Júnior (1980), o papel desempenhado por essas enzimas na patogênese é atualmente aceito não só pela universalidade da sua produção, como também pela versatilidade com relação à especificidade dessas

enzimas para as ligações glicosídicas que existem nas paredes das células vegetais.

Vidhyasekaran (1985) afirma que enzimas exocelulares são importantes para os fungos no processo patogênico, podendo funcionar tanto na indução da resistência natural do hospedeiro como na produção de produtos solúveis, que podem ser absorvidos e utilizados como alimento.

Diante de uma infecção fúngica, foi evidenciado ocorrer solubilização parcial de açúcares neutros não-celulósicos de polissacarídeos compostos de ramnosil, arabinosil, xilosil e galactosil, assim como da hidrólise substancial dos compostos poliuronídeos da estrutura da parede celular (Tobias *et al.*, 1993).

Dentre os diferentes grupos de enzimas produzidas por fitopatógenos, podem ser mencionadas as enzimas cuticulares, pécticas, celulolíticas e hemicelulolíticas. Estudos de Dickman & Patil (1986) com *C. gloeosporioides* em frutos de mamão verificaram que alguns mutantes do patógeno deficientes em cutinase mostraram-se altamente patogênicos sobre a superfície injuriada dos frutos e, curiosamente, a patogenicidade dos mutantes podia ser restaurada quando do fornecimento de cutinase exógena.

Trabalhos de Kolattukudy (1985) sustentam a idéia de que esporos fúngicos em fase inicial de germinação, quando na superfície do hospedeiro, excretam uma pequena quantidade de cutinase pré-formada. Essa cutinase provavelmente teria como função a liberação de monômeros, a partir da cutícula da planta, os quais ativariam a transcrição do gene da cutinase, com a conseqüente produção massal da enzima requerida para a penetração da cutícula. Após a penetração, a quantidade de monômeros diminui levando, conseqüentemente, à paralisação da transcrição gênica.

Dickman *et al.* (1989) fizeram uma construção gênica contendo uma região que codifica para a cutinase a partir do genoma de *Fusarium* e transferiram para *Mycosphaerella*, um fungo que afeta frutos de mamão apenas

quando a casca do fruto é mecanicamente injuriada após a inoculação. Os autores verificaram que os microrganismos transformados foram capazes de infectar frutos de mamão intactos e que esse tipo de infecção pode ser prevenida por anticorpos contra essa cutinase isolada de *Fusarium*.

Para *C. gloeosporioides*, componentes cerosos da cutícula presentes na superfície do hospedeiro induzem à germinação e diferenciação do apressório. Genes expressos durante a indução da germinação do apressório desse fungo sobre ceras na superfície do hospedeiro já foram clonados. O desligamento de um desses genes, *cap20*, causou falhas dos mutantes em penetrar no tecido hospedeiro (Mendgen *et al.*, 1996).

Diante dessas afirmações, é importante considerar que a cutinase constitui-se em alvo potencial para o controle de doenças vegetais. Pode-se afirmar que a desativação dessa enzima (inibição da sua ação e/ou síntese-excreção), na superfície do hospedeiro, evitaria, portanto, a penetração e, consequentemente, protegeria as plantas contra algumas doenças fúngicas.

Entretanto, alguns autores questionam o papel da cutinase no processo de penetração fúngica, sugerindo que em alguns experimentos o gene estudado pode ter sido ativado apenas durante o crescimento saprofítico, em detrimento da ativação do gene da cutinase requerido para a patogenicidade (Mendgen *et al.*, 1996).

Vários autores têm comprovado que enzimas pectinolíticas são produzidas por bactérias, fungos e plantas superiores (Rombouts & Plinik, 1986; Thibaut & Mercier, 1978). Das enzimas produzidas por fungos, as que degradam as substâncias pécticas parecem ser as mais importantes, causando a maceração do tecido vegetal, perda de eletrólitos e morte das células (Rodrigues Júnior, 1980).

Pascholati (1995) afirma que a separação das células, ou maceração, é consequência da destruição da integridade estrutural da lamela média,

principalmente por endopoligalacturonases e endopectatoliasas. A morte celular ocorre, aparentemente, por causa do enfraquecimento da parede celular primária, em virtude do rompimento das ligações α -1,4 entre os resíduos de ácido galacturônico, o que ocasiona a alteração da permeabilidade seletiva da membrana plasmática sob condições de estresse osmótico.

Quando cultivados em meio contendo partes de parede celular de plantas ou polímeros, tais como pectina, ácido galacturônico, celulose, xilanas e outros compostos, muitos fungos sintetizam uma série de enzimas requeridas para degradar fontes de carbono. A presença de um polímero simples, tal como o ácido galacturônico, é suficiente para induzir um número de enzimas diferentes, como poligalacturonases, pectina e pectatoliasas e pectinametilsterases (Mendgen *et al.*, 1996).

Um aspecto característico que muitas doenças pós-colheita têm em comum é que, em muitos estádios, entre a inoculação do patógeno e o desenvolvimento de doenças no hospedeiro, o crescimento do mesmo é impedido. O período quiescente de colonização pelo patógeno varia, e tem sido atribuído à presença de compostos tóxicos, à ausência de determinadas substâncias essenciais ao mesmo, ao potencial inadequado das enzimas para colonização e/ou à produção de fitoalexinas após a infecção. Compostos inibitórios, especialmente fenólicos e seus derivados, e fitoalexinas, que são componentes fungitóxicos pré-formados, estão altamente associados com a resistência dos tecidos de plantas à degradação microbiana (Swineburne, 1983).

Em infecções por *C. gloeosporioides* em frutos de abacate, ambas as enzimas degradadoras de pectina e penetração do tecido do fruto são inibidas por epicatequinas, um composto fenólico presente na casca de abacates imaturos. Durante o amadurecimento, os níveis desse composto decrescem de maneira a não inibir as enzimas pecticas, e o fungo retorna a sua habilidade de crescimento nos tecidos do hospedeiro (Mendgen *et al.*, 1996). Esses autores sugerem,

portanto, que lipídios presentes na superfície do hospedeiro contêm, ambos, indutores e inibidores da germinação do esporo e formação do apressório, e o balanço dessas substâncias pode ser responsável pela ativação seletiva do patógeno em se tornar quiescente ou iniciar o processo de parasitismo.

Quando uma planta é atacada por um patógeno potencial, há a elicitação de respostas complexas de defesa, com a ativação de vários genes, resultando na síntese e acúmulo de metabólitos secundários (fitoalexinas e outros fenólicos), macromoléculas estruturais (calose, lignina e glicoproteína rica em hidroxiprolina) e de uma variedade de proteínas (proteínas relacionadas com a patogênese, inibidores de enzimas, enzimas hidrolíticas e enzimas do metabolismo secundário) (Bell, 1981; Benhamou *et al.*, 1991). Echeverri *et al.* (1997) isolaram uma fitoalexina a partir de frutos de mamão denominada *danielone 1*, e verificaram que esse composto tem uma alta atividade antifúngica contra *Colletotrichum*.

Saxena & Saksena (1981), estudando o efeito do látex de mamão na germinação dos conídios de alguns fungos, verificaram uma inibição de 100% dos esporos de *Fusarium* sp e *C. papayae*; concluindo que esse pode ser o fator de inibição da doença em frutos imaturos.

Informações a respeito das mudanças bioquímicas que ocorrem nos frutos em pós-colheita são importantes para elucidar os processos de desenvolvimento de muitas doenças. Tais informações certamente podem indicar o desenvolvimento de medidas de controle baseadas na modificação da resposta do hospedeiro (Bostock & Stermer, 1989). Dessa forma, estudos envolvendo mudanças físicas, químicas e bioquímicas, aliados a fatores de resistência, são importantes no prolongamento da vida útil de prateleira dos frutos, atualmente um dos principais alvos dos estudos em fisiologia pós-colheita.

2.3 Medidas de controle da podridão peduncular do mamão

O controle das doenças pós-colheita de frutos de mamão tem sido alcançado com a adoção de um conjunto de medidas envolvendo fatores pré-colheita até outras medidas na cadeia de comercialização.

Perdas substanciais podem ocorrer durante esse período se o produto não for tratado com um inibidor de crescimento microbiano efetivo e armazenado em um ambiente desfavorável ao desenvolvimento de doenças (Eckert, 1977). Entretanto, o controle das doenças nessa fase depende de medidas adotadas na pré-colheita, visando a reduzir o número de infecções quiescentes, uma vez que os tratamentos em pós-colheita são mais efetivos em níveis mínimos de infecção na época da colheita.

As injúrias nos frutos, que acontecem na fase pós-colheita, são um ponto de partida para o início de doenças causadas por patógenos envolvidos com podridões pedunculares. Além disso, injúrias fisiológicas causadas por frio, calor, deficiência de oxigênio e outros agentes ambientais predispõem os produtos agrícolas às doenças nessa fase (Eckert, 1977). Frutos tropicais podem ser injuriados a temperaturas de armazenamento abaixo de 10 °C, aumentando a predisposição aos patógenos, principalmente quando os sintomas por injúria por frio não são aparentes.

Segundo Gutierrez (1994), possivelmente o fator mais importante que afeta as perdas pós-colheita é o meio circundante, ou seja, as altas temperaturas e umidades relativas, que favorecem o desenvolvimento de infecções, e os danos pelo frio e danos mecânicos, que predispõem os produtos tropicais e subtropicais às infecções.

O controle da atmosfera da casa de embalagem, que contém uma quantidade de propágulos considerável para o desenvolvimento dessas doenças, da água utilizada na limpeza, tratamento químico e hidrotérmico dos frutos,

podem ser tomadas como medidas fundamentais no sistema de manejo em pós-colheita.

As estratégias de controle em pós-colheita, além de todas as medidas anteriormente citadas, envolvem tratamento químico, térmico, irradiação, armazenamento em baixas temperaturas, além de armazenamento sob controle atmosférico, no sentido de erradicar ou atenuar o estabelecimento de patógenos na superfície do hospedeiro.

O mamão, como todas as frutas tropicais, é altamente sensível às temperaturas baixas. Os sintomas de danos brandos produzidos pelo frio são o retardamento e a desuniformidade na maturação do fruto, com o aumento da sua suscetibilidade a fungos que comumente não o atacam.

Broughton *et al.* (1977) armazenaram mamões do grupo Solo e observaram que a temperatura de 20 °C foi ótima para induzir a maturação pós-colheita. Temperaturas acima de 20 °C tornaram o fruto suscetível ao ataque de fungos, ao passo que as abaixo, atrasaram o começo do climatério e permitiram a manifestação de injúria por frio.

Bleinroth (1995) afirma que a temperatura que inibe a respiração e, conseqüentemente, o metabolismo do mamão, situa-se abaixo de 8 °C, nível, portanto, que afeta a fruta. Dessa forma, recomenda-se que, ao serem retiradas da refrigeração, as frutas passem por um processo de adaptação às temperaturas mais elevadas, mantendo-se durante 12 horas ou mais na antecâmara, cuja temperatura deverá estar entre 15 e 18 °C, a fim de evitar a condensação de água nos frutos, que pode umedecer a embalagem e favorecer o desenvolvimento de fungos (Chen & Paull, 1986).

O tratamento com água quente para controlar doenças de frutos de mamão foi desenvolvido em 1949, quando o Departamento de Fisiologia de Plantas da Universidade do Havaí, em cooperação com o Departamento de

Agricultura dos Estados Unidos (USDA), estudava um processo para a desinfestação dos frutos que se destinavam à exportação (Akamine, 1967).

Segundo Akamine & Arisumi (1953), o principal tratamento indicado para controle de doenças em pós-colheita de mamão é o hidrotérmico (48 a 49 °C por 20 minutos), que é preconizado na Instrução Administrativa que registra as condições que regulamentam a entrada do mamão do Brasil nos Estados Unidos (Federal Register 13/03/98 v.63, n.49, p.12396).

Alguns autores afirmam que exposições rápidas a altas temperaturas (54 °C por 3 minutos) podem ser eficazes no controle de patógenos pós-colheita em mamão (Couey *et al.*, 1984).

No Brasil, dentre as medidas adotadas pelo *System Approach*, estão a lavagem dos frutos para remoção dos resíduos aderidos e o tratamento hidrotérmico (48 ± °C durante 20 minutos), para controlar doenças de pós-colheita. Posteriormente, é recomendado o resfriamento dos frutos em água a 10 °C durante 17 minutos, podendo-se efetuar ainda um tratamento combinado, em que se emerge a fruta em água aquecida e logo a seguir, por aspersão, aplica-se um fungicida misturado a uma emulsão de cera, que dará maior proteção à fruta (FrutiSeries, 2000). Esse sistema é um conjunto de medidas adotadas recentemente por exportadores brasileiros, e envolve principalmente o controle da mosca-das-frutas (*Ceratitidis capitata*), que tem sua entrada proibida nos Estados Unidos.

O principal obstáculo a ser enfrentado no uso da termoterapia visando ao controle de doenças em pós-colheita é a sensibilidade dos frutos ao calor. Danos visíveis nos frutos são uma expressão de danos prévios no metabolismo. Em mamões, o sistema que produz a poligalacturonase pode ser danificado pelo tratamento a altas temperaturas. Dessa forma, falhas no tratamento térmico podem produzir mamões excessivamente macios durante o amadurecimento (Couey, 1989).

O amaciamento que ocorre nos mamões é decorrente das mudanças no metabolismo dos carboidratos de parede celular, resultando no decréscimo líquido de certos componentes estruturais. Mamões maduros produzem um sistema enzimático que converte o ACC (ácido 1-amino ciclopropano) em etileno, o que contribui também para o amadurecimento.

Chan Jr. (1991) observou os efeitos do calor sobre a inativação da ACC oxidase, enzima formadora do etileno, em mamões colhidos em diferentes estádios de maturação, e verificou que, no mesocarpo e endocarpo de frutos com 25 e 50 % da casca amarela, essa enzima foi mais sensível do que em frutos em início de amadurecimento. Em trabalhos envolvendo inativação térmica de alguns patógenos pós-colheita de frutos de mamão foi verificado que, para a erradicação de esporos dormentes de *Rhizopus stolonifer*, o tratamento a altas temperaturas pode afetar o amadurecimento normal, em virtude da redução da atividade da ACC oxidase (Chan Jr, 1986).

Chan Jr. *et al.* (1981) afirmam que o tratamento térmico para desinfestação de insetos em mamões pode injuriá-los, causando áreas amolecidas ou endurecidas. Os autores discutem que essa injúria pode estar associada com a inativação das enzimas degradadoras de parede celular, uma vez que as mesmas atuam numa temperatura ótima de 45 °C e pH 4,6.

Nos estudos de Yaguchi *et al.* (1998), envolvendo o controle da podridão peduncular do mamão por tratamento térmico, verifica-se que a combinação de vapor e água quente tem um efeito inibitório na doença. Os autores testaram temperaturas que variaram de 48,9 a 51,7 °C, e concluíram que, apesar de o tratamento com água quente ter a possibilidade de danificar o fruto e afetar o amadurecimento, ele pode reduzir a doença. Bleinroth (1995) afirma que o tratamento de mamões com água quente por 20 minutos é considerado por muitos produtores como muito longo, principalmente quando se tem grande quantidade de frutas. O autor alerta que há necessidade de se ter muito cuidado

para que a temperatura não se exceda, e também com relação ao tempo, caso contrário, podem ocorrer danos sérios às frutas, inibindo o seu processo de amadurecimento normal, ou causando escaldaduras e mesmo predispondo as frutas a outras doenças.

Extensos estudos envolvendo o controle químico ou químico aliado à termoterapia têm sido conduzidos ao longo dos anos, envolvendo as doenças em pós-colheita do mamão (Akamini & Arisumi, 1953; Couey & Farias, 1979; Gupta & Pathak, 1990; Lay-Yee et al., 1998; Silva, 1999). Segundo Bleinroth (1995), a imersão de frutas após a colheita, em solução fungistática, na temperatura ambiente, não tem produzido efeito na destruição dos esporos dos fungos, por causa da sua resistência. O tratamento hidrotérmico com fungicidas em suspensão e o resfriamento por ventilação forçada têm sido indicados. No entanto, Rodov *et al.* (1995) apontam a presença de fungicida como um risco no aumento dos danos pelo calor, durante a imersão a quente.

No Brasil, em pós-colheita, tem-se utilizado em larga escala fungicidas do grupo dos benzimidazóis, que possuem sérias restrições de uso pelo fato de selecionar estirpes resistentes de certos fungos. Além disso, o uso de misturas de fungicidas e/ou produtos alternados pode provocar o surgimento de sensibilidade colateral, em que a resistência a determinado produto poderia afetar a efetividade de outros do mesmo grupo. Outro fator a ser considerado é o acúmulo de produtos químicos na cadeia alimentar, que pode acarretar sérios prejuízos ao consumidor quando não são observados os períodos de carência e as doses máximas de resíduos toleradas pela legislação (Kretzschmar, 1991). Diante disso, o uso de agrotóxicos em produtos consumidos *in natura* deve ser severamente restringido, principalmente pelos possíveis danos causados à saúde humana.

Algumas práticas comerciais no sentido de se retardar o amadurecimento de frutos e, conseqüentemente, o ataque de patógenos, têm sido

adotadas há alguns anos. Essas práticas envolvem o armazenamento de frutos climatéricos sob atmosfera controlada ou atmosfera modificada com baixo nível de oxigênio e alto CO₂, inibindo ou diminuindo a produção de etileno. Gutierrez (1994) afirma que as baixas temperaturas, baixos níveis de oxigênio, altos níveis de CO₂ e a umidade relativa correta podem restringir a velocidade da infecção pós-colheita, retardando a velocidade de maturação e senescência do produto, reduzindo o crescimento de patógenos.

Estudos clássicos de Kidd e West, conduzidos na década de 20, apontaram os benefícios da modificação da atmosfera na redução da taxa respiratória dos produtos armazenados em cerca de 50%. Assim, há um efeito direto ou indireto sobre patógenos, com redução de doenças (incidência e severidade) (Chitarra & Chitarra, 1990).

Mosca (1992) verificou que a associação entre o cloreto de polivinila (PVC) auto-adesível e a refrigeração para o mamão (12 °C e 85-90% UR) retardou significativamente a perda de massa, a coloração externa e o desenvolvimento de doenças. Medina & Silva (1994) observaram que o revestimento de cera reduziu entre 50 e 70% a perda de peso, retardando ainda o enrugamento e propiciando uma melhoria na aparência do mamão, além de modificar a atmosfera interna dos frutos e ser efetivo em retardar a maturação.

Spalding & Reeder (1974) conservaram mamões do grupo Solo sob 18,3°C, por 6 dias, em atmosfera com 1% de O₂ e 10% de CO₂, observando menor desenvolvimento de doenças quando comparou-se com os frutos mantidos no ambiente ou em atmosfera em concentração de O₂ maior que 10 %.

Kader (1998) recomenda que o controle atmosférico para frutos de mamão pode variar de 2-5% de O₂ e 5-8% de CO₂ em temperaturas entre 10-15°C, com umidade relativa de 90-95%, para transporte e/ou armazenamento em torno de 2 semanas. O autor afirma que a exposição a baixos níveis de O₂ e /ou

altos níveis de CO₂ por curta duração pode ser usada para prevenção de algumas desordens fisiológicas, patógenos e/ou insetos.

Fonseca *et al.* (2000) estudando o efeito de diferentes combinações de oxigênio e de dióxido de carbono e a elevação da umidade relativa, na conservação pós-colheita de mamão "Sunrise Solo" e "Golden", verificaram que as atmosferas de 3% O₂/3% CO₂ e de 3% O₂/6% CO₂ durante 20 dias, possibilitaram uma melhor conservação pós-colheita dos mamões de ambas as cultivares. Entretanto, Bleinroth (1995) afirma que os resultados obtidos com o controle atmosférico aplicado ao mamão não têm sido satisfatórios. O autor salienta que estudos sobre a modificação da atmosfera no sentido de melhorar a preservação do mamão prosseguem, tendo em vista a consecução de resultados satisfatórios que permitam a manutenção da qualidade da fruta por um período relativamente longo.

A irradiação gama tem demonstrado uma certa eficácia na conservação do mamão, quando aplicada em doses corretas e no estágio de amadurecimento adequado para reduzir o metabolismo da fruta. A desaceleração da respiração só se processa, entretanto, quando a fruta irradiada é colocada sob refrigeração (Bleinroth, 1995). O tratamento do mamão que combina água quente e irradiação permite controlar melhor as doenças pós-colheita. Nesse caso, a dosagem aplicada deve ser de 0,50 a 0,75 KGy. Os tratamentos combinados de alta temperatura e curto tempo (HTST), nos quais se expõe a fruta a 60 °C durante 20 segundos e, em seguida, aplica-se a irradiação, têm permitido um melhor controle de fungos e redução do seu desenvolvimento, quando comparados ao sistema convencional de tratamento em água quente (49 °C por 20 minutos). Pesquisas conduzidas na Flórida-USA, com mamões do grupo Solo, submetidos à irradiação e posteriormente armazenados a diferentes temperaturas, mostraram que sob doses de 0,675 KGy, cerca de 53% dos frutos irradiados mostraram sintomas de podridão peduncular (Miller & McDonald,

1999). Esses pesquisadores sugerem que mamões importados sejam rapidamente distribuídos no mercado e mantidos durante as operações de transporte e armazenamento sob temperaturas de 15 °C, com ou sem exposição à irradiação. Para mamões, são recomendadas doses de 0,25-0,35 KGy para retardar a maturação e de 1-4 KGy para aumentar o tempo de prateleira, retardando o aparecimento de fungos.

Na metade dos anos 90, pesquisadores da Universidade da Carolina do Norte-USA, estudando o processo natural do amadurecimento e efeitos do etileno nas plantas, descobriram o 1-MCP (1-Meticiclopropeno), que age por meio de fixação preferencial ao receptor de etileno, bloqueando, desse modo, os efeitos do etileno procedente de fontes internas e externas. Segundo Wills *et al.* (1998), o 1-MCP liga-se irreversivelmente aos receptores do etileno em tecidos de plantas sensíveis, e um simples tratamento a baixas concentrações por algumas horas à temperatura ambiente, confere proteção contra o etileno por alguns dias.

Em mamões, esse produto tem sido preferencialmente testado em atributos como firmeza, coloração, taxa de respiração e etileno, e °brix em função do retardamento dos processos de amadurecimento pela competição com sítios receptores do etileno (Ergun & Huber, 2001).

Dados de Jacomino (2000) mostram que mamões Sunrise Solo tratados com 1-MCP a 90 ppb por 12 horas a 20 °C, quando no estágio verde, apresentaram atraso de maturação consideravelmente elevado em relação aos frutos não tratados, e esse atraso resultou em maior firmeza de polpa e menor percentagem de frutos com podridões.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROANALYSIS. Especial sobre fruticultura. São Paulo: Fundação Getúlio Vargas. 1999. 82p.

AKAMINE, E. K.; ARISUMI, T. Control of postharvest storage decay of fruits of papaya (*Carica papaya* L.) with special reference to the effect of hot water. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, New York, v. 61, n. 1, p. 270-274, June 1953.

AKAMINE, E. K. History of hot water treatment of papayas. **Hawaii Farm Science**, Hawaii, v. 16, n. 3, p. 4-6, 1967.

ALVAREZ, A. M.; NISHIJIMA, W. T. Postharvest diseases of papaya. **Plant Disease**, St. Paul, v. 71, n. 8, p. 681-686, Aug. 1987.

AGRIANUAL – Anuario da Agricultura Brasileira. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2002. 536p.

BATEMAN, D. F.; BASHAM, H. G. Degradation of plant cell wall and membranes by microbial enzymes. In: HEITFUSS, R.; WILLIAMS, P. H. (Ed.). **Encyclopedia plant physiology** - physiological plant pathology. Berlin: Springer-Verlag, 1976. v. 4. p. 316-355.

BELL, A. A. Biochemical mechanisms of disease resistance. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 32, p. 21-81, 1981.

BENHAMOU, N.; GRENIER, J.; CHRISPPEELS, J. M. Accumulation of β -fructosidase in cell wall of tomato roots following infection by a fungal wilt pathogen. **Plant Physiology**, Washington, v. 97, n. 2, p. 23-34, Oct, 1991.

BLEINROTH, E. W. In: **Mamão para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita** (GAYET, J. P.; BLEINROTH, E. W.; MATALLO, M.; GARCIA, E. E. C.; GARCIA, A. E.; ARDITO, E. F. G.; BORDIN, M. R.) Brasília: EMBRAPA - FRUPEX, 1995. 38p.

BONDE, M. R.; PETERSON, G. L.; MAAS, J. L. Isozyme comparisons for identification of *Colletotrichum* species pathogenic to strawberry. **Phatopathology**, St. Paul, v. 81, n. 12, p. 1523-1528, Dec. 1991.

BOSTOCK, R.; STERMER, B. A. Perspectives on wound healing in resistance to pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 27, p. 343-371, 1989.

BROUGHTON, W. J.; HASHIM, A. W.; SHEN, T. C.; TAN, I. K. P. Maturation of Malaysian fruits I. Storage conditions and ripening of papaya (*Carica papaya* L. cv. Sunrise Solo). **Mardi Research Bulletin**, v. 5, n. 1, p. 59-72, 1977.

CAMPACCI, C. A. Antracnose e ascochytose do mamoeiro. **O Biológico**, Campinas, v. 17, n. 12, p. 225-226, dez. 1951.

CHALFOUN, S. M.; LIMA, R. D. de. Doenças causadas por fungos e nematóides em mamoeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 12, n. 134, p. 40-44, fev. 1986.

CHAN Jr. , H. T. Effects of heat treatments on the ethylene forming enzyme system in papayas. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 51, n. 3, p. 581-583, May/June 1986.

CHAN Jr., H. T. Ripeness and tissue depth effects on heat inactivation of papaya ethylene-forming enzyme. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, n. 4, p. 996-998, July/Aug. 1991.

CHAN Jr. , H. T.; TAM, S. Y. T.; SEO, S. T. Papaya polygalacturonase and its role in thermally injured ripening fruit. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 46, n. 1, p. 190-191, Jan./Feb. 1981.

CHAU, K. F.; ALVAREZ, A. M. Role of *Mycosphaerella* ascospores in stem-end rot of papaya fruit. **Phytopathology**, St. Paul, v. 69, n. 5, p. 500-503, May 1979.

CHEN, N. M.; PAULL, R. E. Development and prevention of chilling injury in papaya fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 111, n. 4, p. 639-643, July 1986.

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

COUEY, H. M. Heat treatment for control of postharvest diseases and insect pests of fruits. **HortScience**, Alexandria, v. 24, n. 2, p. 198-202. Apr. 1989.

COUEY, H. M.; ALVAREZ, A. M.; NELSON, M. G. Comparison of hot-water spray and immersion treatments for control of postharvest decay of papaya. **Plant Disease**, St. Paul, v. 68, n. 5, p. 436-437, May 1984.

COUEY, H. M.; FARIAS, G. Control of postharvest decay of papaya. **HortScience**, Alexandria, v. 14, n. 6, p. 719-721, 1Dec. 1979.

DENNIS, C. Salad crops. In: DENNIS, C. **Postharvest pathology of fruits and vegetables**. New York: Academic Press, 1983. p. 157-176.

DICKMAN, M. B.; PATIL, S. S. Cutinase deficient mutants of *Colletotrichum gloeosporioides* are nonpathogenic to papaya fruit. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 28, n. 2, p. 235-242, Mar. 1986.

DICKMAN, M. B.; PODILA, G. K.; KOLATTUKUDY, P. E. Infection of cutinase gene into a wound pathogen enables it to infect intact host. **Nature**, London, v. 342, n. 6248, p. 446-448, Nov. 1989.

DIGBY, S.; WEIDEMANN, G. J. SDS PAGE as a means of identifying diversity in *Colletotrichum gloeosporioides*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 81, p. 1191, 1991. Abstracts.

DROBY, S. Biologically and physically-based methods for the control of postharvest decay of fruits. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 16., 2000, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBF, 2000.

ECHEVERRI, F.; TORRES, F.; QUINONES, W.; CARDONA, G.; ARCHBOLD, R.; ROLDAN, J; BRITO, I.; LUIS, J. G.; LAHLOU, EL-HASSANE. Danielone, a phytoalexin from papaya fruit. **Phytochemistry**, Oxford, v. 44, n. 2, p. 255-256, Jan. 1997.

ECKERT, J. W. Control of postharvest diseases. In: SIEGEL, M. R.; SISLER, H. D. (Ed.). **Antifungal compounds**. New York: Marcel Dekker, 1977. v. 1, p. 269-352.

ECKERT, J. W. Postharvest pathology. In: PANTASTICO, ER. E. (Ed.). **Postharvest physiology, handling and utilization of tropical and subtropical fruits and vegetables**. Westport, Connecticut: The Avi Publishing Company, 1975. p.393-414.

ERGUN, M.; HUBER, D. J. Delaying papaya fruit ripening by 1-methylcyclopropene. **HortScience**, Alexandria, v. 36, n. 3, p. 452, June 2001. Proceedings. . .

FLAISHMAN, M. A.; KOLATTUKUDY, P. E. Timing of fungal invasion using host's ripening hormone as a signal. **Proceedings of the Natural Academic Science**, Washington, v. 91, n. 14, p. 6579-6583, July 1994.

FONSECA, M. J. de O.; CENCI, S. A.; LEAL, N. R.; BOTREL, N. Uso da atmosfera controlada na conservação de frutos de mamoeiros 'Sunrise Solo' e 'Golden'. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 16., 2000, Poços de Caldas, MG. **Anais...** Poços de Caldas: SBF, 2000. p.388.

FRUITSÉRIES 7. **Mamão**. Brasília: Ministério da Integração Nacional: Brasília, 2000. Boletim Informativo.

GREENE, G. L. Response of conidia and apleria of *Gloeosporium musarum* to hypochlorous acid. **Phytopathology**, St. Paul, v. 56, n. 10 p. 1201, Oct. 1966.

GUPTA, A. K.; PATHAK, V. N. Epidemiology and management of papaya fruit rots. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 16, p. 92-105, Apr./June 1990.

GUPTA, O.; NEMA, K. G. Effect of different temperature and relative humidity on the development of fruit rots of papaya caused by *Botryodiplodia theobromae*

and *Colletotrichum papayae*. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v. 32, n. 1, p. 106-107, Mar. 1979.

GUTIERREZ, A. A. F. **Manejo postcosecha de frutas y hortalizas en Venezuela: experiencias y recomendaciones**. San Carlos, Cojedes: UNELLEZ, 1994. 320p.

HUNTER, J. E.; BUDDENHAGEN, I. W. Incidence, epidemiology and control of diseases of papaya in Hawaii. **Tropical Agriculture**, Trinidad, v. 49, n. 1, p. 61-71, Jan. 1972.

HWANG, C. H.; FLAISHMAN, M. A.; KOLATTUKUDY, P. E. Cloning of a gene expressed during appressorium formation by *Colletotrichum gloeosporioides* and marked decrease in virulence by disruption of this gene. **Plant Cell**, Rockville, v. 7, n. 2, p. 183-193, Feb. 1995.

JACOMINO, A. Relatório técnico: "Uso do 1-metilciclopropeno para retardar o amadurecimento e senescência de mamão". Piracicaba: ESALQ-USP, 2000.

KADER, A. A. Advances in controlled atmosphere applications for quality maintenance of fresh fruits. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA – Conferências, 15, 1998. Poços de Caldas. **Anais...** Poços de Caldas: SBF, 1998. p.136-150.

KAUFMANN, P. J.; WEIDEMANN, G. J. Isozyme analysis of *Colletotrichum gloeosporioides* from five host genera. **Plant Disease**, St. Paul, v. 80, n. 11, p. 1289-1293, Nov. 1996.

KOLATTUKUDY, P. E. Enzymatic penetration of the plant cuticle by fungal pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 23, p. 223-250, 1985.

KRETZSCHMAR, A. A. Controle biológico de patógenos que ocorrem em pós-colheita. In: BETTIOL, W. (Org.). **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. 388p.

LAY-YEE, M.; CLARE, G. K.; PETRY, R. J.; FULLERTON, R. A.; GUNSON, A. Quality and disease incidence of 'Waimanalo Solo' papaya following forced-air heat treatments. *HortScience*, Alexandria, v. 33, n. 5, p. 878-880, Aug. 1998.

MANICA, I.; OLIVEIRA JÚNIOR, M. E. de. Produção e comércio de mamão no mundo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 16., 2000, Fortaleza. *Anais...* Fortaleza: SBF, 2000.

MATTOS, J. K. A.; FONSECA, J. V. L.; TAKATSU, A.; FONTES, A. C. A. A ascochytose do mamoeiro 1. Observação acerca de sua ocorrência no Distrito Federal. *Cerrado*, Brasília, v. 25, n. 6, p. 18-19, set. 1974.

MEDINA, J. C. *Cultura mamão*. Campinas: ITAL, 1989. p.1-117. Série Frutas Tropicais, 7.

MEDINA, V. M.; SILVA, J. R. R. Revestimento do mamão 'Sunrise Solo' com ceras de carnaúba e polietileno. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13., 1994, Salvador. *Anais....* Salvador: SBF, 1994. v. 2, p.655.

MENDGEN, K.; HAHN, M.; DEISING, H. Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v. 34, p. 367-386, 1996.

MILLER, W. R.; McDONALD, R. E. Irradiation, stage of maturity at harvest, and storage temperature during ripening affect papaya fruit quality. *HortScience*, Alexandria, v. 34, n. 6, p. 1112-1115, Dec. 1999.

MOSCA, J. L. *Conservação pós-colheita de frutos do mamoeiro Carica papaya (L.) 'Improved Sunrise Solo line 72/12', com utilização de filmes protetores e cera, associados a refrigeração*. 1992. 91p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

PASCHOLATI, S. F. Fitopatógenos: arsenal enzimático. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. *Manual de fitopatologia*. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p.365-392.

PRUSKY, D. Pathogen quiescence in postharvest diseases. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 34, p. 413-434, 1996.

QUIMIO, T. H. Pathogenicity and cultural characteristics of *Fusarium solani* from papaya. **Kalikasan**, Laguna, v. 5, p. 241-250, 1976.

REIS, A. , MARIANO, R. de L. R. , MENEZES, M. *Fusarium solani*, agente causal de uma podridão de frutos de mamão no Estado de Pernambuco. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 23, n. 3/4, p. 257-259, 1997.

RODOV, V.; BEM-YEHOSHUA, S.; FANG, D.; KIM, J. J.; ASHKENAZI, R. Preformed antifungal compounds of lemon fruit: citral and its relation to disease resistance. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 43, n. 4, p. 1057-1061, Apr. 1995.

RODRIGUES JÚNIOR, C. J. **Mecanismos de resistência das plantas aos agentes patogênicos**: junta de Investigações Científicas do Ultramar. Oeiras, Lisboa: Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro, 1980.

ROUMBOUTS, F. M. e PILNIK, N. Pectinases and other cell-wall degrading enzymes of industrial importance. **Symbiosis**, Phyladelphia, v. 2, p. 79-80, 1986.

SALUNKHE, D. K.; DESAI, B. B. Papaya. In: **Postharvest biotechnology of fruits**. CRC Press, 1984. p.13-26.

SAXENA, A. K.; SAKSENA, S. B. Effect of papaya latex on the germination of certain fungi. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v. 34, n. 4, p. 505-506, Dec. 1981.

SAXENA, R. M.; SHARMA, K. D. Deterioration of papaya fruits by fungi. **Agricultural Science Digest**, Lafayette, v. 1, p. 140-142, 1981.

SILVA, F. A. N. **Aspectos patogênicos e controle químico da podridão peduncular de mamão (*Carica papaya* L.)**. 1999. 62p. Dissertação (Mestrado em) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SIMMONDS, J. H. Studies in the latent phase of *Colletotrichum* species causing ripe rots of tropical fruits. **Queensland Journal of Agricultural Science**, Brisbane, v. 20, p. 373, 1963.

SMITH, B. J.; BLACK, L. L. Morphological, cultural, and pathogenic variation among *Colletotrichum* species isolated from strawberry. **Plant Disease**, St Paul, v. 74, n. 1, p. 69-76, Jan. 1990.

SOMMER, N. E. Strategies for control of postharvest diseases of selected commodities. In: KADER, A. A.; KASMIRE, R. F.; MITCHEL, G. F.; REID, M. S.; SOMMER, N. F.; THOMPSON, J. F. (Ed.). **Postharvest technology of horticultural crops**. Davis, California: Cooperative extension, University of California, 1985. p. 83-99.

SPALDING, D. H.; REEDER, W. F. Current status of controlled atmosphere storage of four tropical fruits. **Proceedings of the Florida Horticultural Society**, Miami, v. 87, p. 334-337, 1974.

SREENIVASAPRASAD, S.; BROWN, A. E.; MILLS, P. R. DNA sequence variation and interrelationships among *Colletotrichum* species causing strawberry anthracnose. **Physiological Molecular Plant Pathology**, London, v. 41, n. 4, p. 265-281, Oct. 1992.

STANGHELLINI, M. E.; ARAGAKI, M. Relation of periderm formation and callose deposition to anthracnose resistance in papaya fruit. **Phytopathology**, St. Paul, v. 56, n. 4, p. 444-450, Apr. 1966.

SWINEBURNE, T. R. Quiescent infections in post-harvest disease. In: DENNIS, C. **Post harvest pathology of fruits and vegetables**. New York: Academic press, 1983. p. 1.

THIBAUT, J. F.; MERCIER, C. *Aspergillus niger* endopolygalacturonase: 2. Characterization and some properties. **Journal of Food Biochemistry**, Westport, v. 2, p. 379-93, 1978.

TOBIAS, R. B.; CONWAY, W. S.; SAMS, C. E.; GROSS, K. C.; WHITAKER, B. D. Cell wall composition of calcium-treated apples inoculated with *Botrytis cinerea*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 32, n. 1, p. 35-39, Jan. 1993.

TOMKINS, R. G. The microbiological problems in the preservation of fresh fruits and vegetables. **Journal of Science and Food Agriculture**, London, v. 381, n. 2, p. 381-386, Apr. 1951.

VIDHYASEKARAN, P. **Physiology of disease resistance in plants**, v. 2, 1985.

WILLS, R.; McGLASSON, B.; GRRAHAM, D.; JOYCE, D. **Postharvest - an introduction to the physiology & handling of fruit, vegetables & ornamentals**. 4. ed. Adelaide, South australia: Hyde Park Press, 1998. 262p.

YAGUCHI, Y.; NAKAMURA, S.; JOHNSON, G. I. HIGHLEY, E.; JOYCE, D. C. Disease resistance in fruit. In: **INTERNATIONAL WORKSHOP HELD AT CHIANG MAI, 1998, Thailand. Proceedings...** Thailand: AClAR, 1998. p.193-201. AClAR - Proceedings Series, n. 80,



CAPÍTULO 2

VARIABILIDADE MORFOCULTURAL E GENÉTICA DE ISOLADOS
FÚNGICOS ASSOCIADOS À PODRIDÃO PEDUNCULAR DO MAMÃO

1 RESUMO

PERES, Ângela Pimenta. Variabilidade morfo-cultural e genética de isolados fúngicos associados à podridão peduncular do mamão. 2002. 141p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹

Objetivou-se, com este trabalho, verificar a variabilidade morfo-cultural e genética de isolados associados à podridão peduncular do mamão. As avaliações morfo-culturais foram feitas pelo índice de crescimento micelial e características das colônias, como coloração e tipo de micélio, quando os isolados foram crescidos em diferentes meios de cultura (BDA, MDA – meio de mamão e Czapek). A variabilidade genética foi verificada por meio de análises de AFLP. Os isolamentos dos organismos a serem estudados foram feitos em frutos obtidos de diferentes regiões produtoras do Brasil. Foram estudados oito isolados de cada uma das três espécies mais incidentes (*Colletotrichum gloeosporioides*, *Phoma caricae-papayae* e *Fusarium solani*). Foi verificado que os meios BDA e MDA promoveram um maior e mais rápido crescimento micelial para a maioria dos isolados testados e houve variações nas colorações das colônias desses isolados nos diferentes meios. A análise de AFLP gerou um total de 339 bandas polimórficas, indicando uma variabilidade genética entre os isolados de cada espécie fúngica, com alguns desses isolados formando grupos divergentes dos demais.

¹ Comitê Orientador: José da Cruz Machado-UFLA (Orientador), Admilson Bosco Chitarra-UFLA, Luiz Carlos de Oliveira Lima-UFLA e Maria das Graças G. C. Vieira-UFLA.

2 ABSTRACT

PERES, Ângela Pimenta. Morphocultural and genetic variability of isolates of the fungi causing stem-end rot of papaya. 2002. 141p. Thesis (Doctorate in Food Science) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹

The objective of this work was to look at the variability between isolates of the three fungal species, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium solani* and *Phoma caricae papaya* associated with stem-end rot in papaya fruits which were produced in different regions of Brazil. In one trial, comparisons were made considering morphological and cultural characteristics exhibited by the fungi grown in different media: Potato dextrose agar (PDA), Papaya extract agar (MEA) and Czapek. In general, mycelial growth of all fungi was higher in PDA and MEA and no correlation was seen between growth rates and other morphocultural characteristics such as color, colony type and others for all isolates compared. The analysis of AFLP markers revealed that there is a huge genetic variation between isolates as demonstrated by the production of 339 bands in electrophoretic gel. With basis on genetic diversity it was possible to characterize four groups of *C.gloeosporioides*, *F.solani* and *P.caricae papayae*.

¹ Guidance Commite: José da Cruz Machado-UFLA (Adviser), Admilson Bosco Chitarra-UFLA, Luiz Carlos de Oliveira Lima-UFLA and Maria das Graças G. C. Vieira-UFLA.

3 INTRODUÇÃO

Durante a operação de colheita de frutos e hortaliças, ferimentos são produzidos e através deles microrganismos patogênicos podem penetrar e, posteriormente, causar as deteriorações pós-colheita. Além do corte do pedúnculo, danos provocados na superfície dos tecidos do fruto por ocasião da colheita, manuseio e transporte são uma constante (Eckert, 1975). As podridões pedunculares dos frutos de mamoeiro que surgem após a colheita são conseqüência de vários desses fatores, sendo causadoras de perdas econômicas consideráveis.

Podridões pedunculares são o resultado da colonização dos tecidos do fruto por um complexo de fungos, incluindo *Phoma caricae-papayae*, *Botryodiplodia* sp, *Phomopsis* sp, *Fusarium* sp, *Alternaria alternata*, *Stemphylium lycopersici* e *Colletotrichum gloeosporioides*. Esses fungos desenvolvem-se no local do corte do pedúnculo, ou nas rachaduras, ou mesmo nos ferimentos que ocorrem durante a colheita.

Estudos também têm mostrado que fungos como *C. gloeosporioides* podem penetrar nos frutos ainda verdes, sem injúrias mecânicas, e permanecerem em estado quiescente até que se estabeleçam condições propícias para o seu desenvolvimento, o que geralmente ocorre com o amadurecimento (Akamine & Arisumi, 1953, Chau & Alvarez, 1983, Eckert, 1977).

Fusarium solani é um patógeno associado à podridão peduncular do mamão e que requer algum tipo de fator de predisposição como estresse ou injúria dos frutos antes do seu estabelecimento. Frequentemente, tem sido visto como um invasor secundário em lesões causadas por outros fungos como *C. gloeosporioides* (Quimio, 1976).

Ascochyta sp. (syn. *Phoma caricae-papayae*) foi o primeiro patógeno a ser referenciado como causador da podridão peduncular de frutos do mamoeiro. Esse fungo tem mostrado uma alta agressividade quando associado a algum estresse causado no fruto (Silva, 1999).

A crescente demanda mundial por frutas tropicais tem exigido dos produtores e exportadores uma preocupação quanto à produção de frutas de melhor qualidade fitossanitária, tornando essencial o desenvolvimento de programas de controle, incluindo a diagnose prévia desses patógenos que são problemas em pós-colheita.

A caracterização morfológica é tradicionalmente empregada para a identificação de fungos fitopatogênicos e envolve análise de pigmentação das colônias, textura, forma marginal e velocidade de crescimento micelial, processo de formação, forma e tamanho de esporos (Burgess *et al.*, 1995), além de patogenicidade (Valim-Labres *et al.*, 1997). Entretanto, essa caracterização, embora útil, é bastante limitada por causa do baixo número de caracteres passíveis de serem analisados (Fungaro, 2000), da alta instabilidade e dependência da composição do meio utilizado, das condições de incubação e variações intrínsecas ao patógeno.

Diante disso, as técnicas moleculares baseadas em análise de DNA têm possibilitado o desenvolvimento de métodos rápidos, sensíveis e específicos de detecção de fitopatógenos e que poderão ser utilizados num futuro próximo como parte dos programas de controle de qualidade de frutos para exportação.

Objetivou-se, com este trabalho, verificar a variabilidade morfocultural e genética dos principais agentes associados à podridão peduncular do mamão, obtidos de diferentes regiões produtoras do Brasil. Ressalta-se que esse tipo de estudo ainda não havia sido realizado nas condições brasileiras.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Obtenção e procedência dos isolados dos principais patógenos associados à podridão peduncular do mamão

Utilizando-se frutos de mamoeiro obtidos de regiões produtoras dos Estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Bahia e Amazonas, foram feitos isolamentos dos organismos a serem estudados. Foi feito primeiramente câmara úmida do pedúnculo, que foi cortado em pedaços, desinfestado superficialmente com álcool, hipoclorito de sódio 1 % e lavado em água destilada esterilizada. O material foi incubado em caixas gerbox contendo duas folhas de papel de filtro umedecidas em água destilada esterilizada, por um período de 48 horas a 20 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas luz/escuro. Posteriormente, procedeu-se ao isolamento direto dos fungos, em câmara asséptica, com o auxílio de um estilete flambado, onde porções da colônia fúngica foram transferidas para placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo meio BDA (200 g batata, 20 g ágar e 20 g dextrose/1000 mL de água), e incubados em câmaras de 20 ± 2 °C sob regime de alternância de 12 horas luz/escuro. Após o crescimento dos isolados, dois discos de 5 mm de micélio foram retirados das margens das colônias, transferidos para novas placas de Petri contendo meio BDA, e incubados nas mesmas condições anteriormente descritas, por um período de 5 a 7 dias, quando se obtiveram as culturas puras. Por meio de preparações em lâminas e observações ao microscópio ótico, fez-se a confirmação dos organismos baseada em características morfológicas e literatura especializada. De cada espécie, foram tomados aleatoriamente oito isolados dos fungos citados na literatura como associados à podridão peduncular do mamão. Na Tabela 1 encontra-se a procedência dos isolados utilizados neste trabalho.

TABELA 1 Procedência de isolados de *C. gloeosporioides*, *F. solani* e *P. caricae papayae*, associados à podridão peduncular do mamão. UFLA, Lavras, MG, 2002.

<i>F. solani</i>		<i>C. gloeosporioides</i>		<i>P. caricae papayae</i>	
Isolado	Procedência	Isolado	Procedência	Isolado	Procedência
F-08	Amazonas	C-10	Bahia	A-31	Bahia
F-25	Bahia	C-26	Bahia	A-15	Espírito Santo
F-29	Bahia	C-27	Bahia	A-20	Espírito Santo
F-33	Bahia	C-32	Bahia	A-24	Espírito Santo
F-01	Espírito Santo	C-34	Bahia	A-42	Minas Gerais
F-18	Espírito Santo	C-12	Espírito Santo	A-43	Minas Gerais
F-36	Espírito Santo	C-17	Espírito Santo	A-44	Minas Gerais
F-40	Minas Gerais	C-19	Espírito Santo	A-45	Minas Gerais

4.2 Variabilidade morfocultural dos isolados associados à podridão peduncular do mamão, *in vitro*

O experimento foi conduzido no Laboratório de Patologia de Sementes da UFLA, nos meses de dezembro de 2000 a janeiro de 2001.

Os isolados de *P. caricae*, *C. gloeosporioides* e *F. solani*, oriundos de frutos de mamoeiro, foram repicados em placas de Petri com 9 cm de diâmetro contendo meio BDA e incubados a 20 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas luz/escuro. Essas espécies foram as mais comumente encontradas associadas ao pedúnculo dos frutos analisados.

Após um período de 7 dias, um disco de meio contendo micélio foi retirado da periferia da colônia e transferido para o centro de novas placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo o meio a ser testado. Os isolados foram cultivados em meio BDA, meio Czapek e meio MDA (200 g mamão, 20 g ágar e

20 g dextrose/1000 mL de água), em câmara com temperatura de 20 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas.

Durante um período de 7 dias, foram feitas avaliações da taxa de crescimento dos isolados, a intervalos de 24 horas, medindo-se dois diâmetros ortogonais entre si na face inferior das placas, até que uma das placas (repetição) de cada um dos isolados apresentasse o maior diâmetro em cada meio. De posse dos dados, foram calculados os índices de velocidade de crescimento micelial segundo a fórmula:

$$IVCM = \frac{C_1}{N_1} + \frac{C_2}{N_2} \dots + \frac{C_N}{N_N}$$

em que:

IVCM= índice de velocidade de crescimento micelial

C_1 = crescimento micelial no primeiro dia

N_1 = número de dias

As características morfológicas utilizadas na análise dos isolados foram:

(a) coloração e tipo de micélio (aspectos de densidade e homogeneidade das hifas); (b) posição do micélio em relação ao substrato; (c) presença e ausência de anelamento.

A coloração das culturas foi descrita conforme o sistema de Munsell (1975) de notação de cores.

4.3 Variabilidade genética dos isolados obtidos em cultura pura

O estudo foi realizado na Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG (Brasil), no período de 1997 a 1998, sendo as análises moleculares de DNA usando AFLP (polimorfismo de tamanho de fragmentos amplificados) realizadas no período de 2000 a 2001 na Brigham Young University-Utah (USA).

4.3.1 Cultivo dos isolados e extração do DNA genômico

Oito isolados de cada um dos três gêneros (*C. gloeosporioides*, *P. caricae papayae* e *F. solani*) foram cultivados em meio BDA por 7 dias. Após esse período, um disco de BDA de 5 mm de diâmetro foi transferido para erlenmeyer contendo 150 mL de meio líquido, formulado com 10 g de glicose; 1 g de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$; 0,2 g de KCl; 0,2 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$; 5 g de extrato de levedura; 1 mL de $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O} \cdot 5 \%$ p/v; 1 mL de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O} \cdot 1 \%$ p/v, para 1000 mL de água destilada esterilizada (Mills *et al.*, 1994). Os erlenmeyers com meio líquido contendo o isolado foram mantidos em agitador com temperatura de 20 °C sob agitação, no escuro, por mais 7 dias. Foram feitas quatro repetições por isolado. Para posterior extração do DNA, o micélio produzido foi coletado a vácuo em câmara de fluxo laminar e liofilizado em liofilizador Modelo L4KR Edwards, por 48 horas, sob temperatura de -40 °C, pressão 10^{-1} mbar. As extrações do DNA nuclear foram executadas empregando Kit DNeasy Qiagen (1999).

4.3.2 Amplificação do DNA

As análises de AFLP foram desenvolvidas usando o protocolo da "Life Technologies" (1999). A amplificação seletiva foi feita com primers *Eco RI* + 2 pares de bases e *Mse I* + 2 pares de base (Cheung, 2000), para as diferentes combinações dos *primers* (Tabela 2), sendo os primers *Eco RI* marcados com radioisótopo fósforo 32 .

Os produtos das amplificações foram carreados por 2 horas e 30 minutos em gel desnaturante de poli(acrilamida) 12,5 %, que sofreram previamente uma pré-corrida por 15 minutos. Os géis ao final da migração foram secos em papel Whatman 3MM. Subseqüentemente, autoradiogramas (Filme de Raios X, Kodak) foram expostos por 1 a 7 dias para visualização dos fragmentos de AFLP.

TABELA 2 Combinação de *primers* (Gibco BRL) utilizados no estudo sobre variabilidade de isolados associados à podridão peduncular do mamão. UFLA, Lavras-MG, 2002.

Pré Amplificação	Combinação de <i>primers</i>	
	EcoRI	MseI
AC	EAT	MCG
AC	EAT	MCA
AC	EAT	MCG
AC	EAT	MCC
AC	EAA	MCA
AC	EAA	MCC
AC	EAA	MCT
AC	EAA	MCG

Para a análise dos dados, foram consideradas a presença e ausência de fragmentos de AFLP, os quais foram obtidos em autoradiogramas e transferidos para uma matriz onde a ausência de uma dada banda foi denominada por 0 e a presença por 1. As diferenças de intensidade de bandas não foram consideradas, uma vez que o marcador tipo AFLP é dominante. As análises foram desenvolvidas com o programa NTSYS-PC 2.1 (Rohlf, 2000), usando o procedimento SIMQUAL. As similaridades entre os genótipos analisados foram calculadas com o Coeficiente de Dice (1945). Esse coeficiente omite a consideração de empates negativos (00) e dá um maior peso para os empates de (11) do que para aqueles (01 e 10).

Os isolados foram agrupados com o procedimento SAHN usando a análise de agrupamento UPGMA (unweighted pair-group method, arithmetic average) (Rohlf, 2000).

4.4 Delineamento experimental e análise estatística

Para as taxas de crescimento micelial, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), constando de 4 repetições por isolado, para cada meio de cultura testado.

As análises foram realizadas utilizando o sistema SAEG - Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (UFV, 1997).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Índice de velocidade de crescimento micelial dos isolados associados à podridão peduncular do mamão

Uma maior homogeneidade no índice de crescimento micelial foi obtida com *C. gloeosporioides* crescido em meio de mamão (MDA), onde foram observadas médias elevadas e não foram observadas diferenças significativas entre os isolados. De maneira geral, não houve diferenças significativas entre os meios de cultura, e o meio Czapek permitiu um menor crescimento da maioria dos isolados de *C. gloeosporioides* estudados. O isolado C-17 cresceu menos em meio BDA e mais em meio Czapek, em relação aos demais. Isolados, como o C-32 e o C-34, mostraram altos índices de crescimento micelial, principalmente em meio BDA e MDA, indicando que os isolados podem se comportar diferentemente no meio de cultura *in vitro* ou mesmo em condições de substrato do hospedeiro, durante o processo de patogênese (Tabela 3). Com base nos resultados, sugere-se que o meio BDA seja promissor em trabalhos de identificação para *C. gloeosporioides*, por permitir maior homogeneização.

Os isolados de *F. solani*, em sua maioria, desenvolveram-se mais lentamente em meio Czapek, e comportaram-se semelhantemente nos meios MDA e BDA. O isolado F-40 teve um destacado crescimento em meio BDA, que se mostrou estatisticamente diferente dos demais meios. De forma análoga, o meio MDA propiciou um crescimento homogêneo para *F. solani* (Tabela 4).

Quanto aos isolados de *P. caricae papayae*, em sua maioria, cresceram mais rapidamente em meio BDA e MDA. O meio Czapek promoveu o crescimento mais lento desses isolados. Foi observado um padrão de crescimento similar entre os isolados A-43, A-44 e A-45, todos procedentes do norte de Minas Gerais (Tabela 5).

TABELA 3 Índice de velocidade de crescimento micelial dos isolados de *C. gloeosporioides* associados à podridão peduncular do mamão, em diferentes meios de cultura (BDA, MDA e Czapek). UFLA, Lavras, MG, 2002.

Isolado	Meios de Cultura		
	BDA ¹	MDA ¹	CZAPEK ¹
C-10 ²	6,83 AB a	6,76 A a	4,55 B b
C-12	7,01 AB ab	7,50 A a	6,01 AB b
C-17	5,63 B b	7,46 A a	6,48 A ab
C-19	6,88 AB ab	7,36 A a	5,94 AB b
C-26	6,16 B a	6,11 A a	5,17 AB a
C-27	5,78 B a	6,09 A a	5,80 AB a
C-32	8,16 A a	7,61 A a	5,45 AB b
C-34	7,04 AB a	7,46 A a	4,46 B b
Média	6,68	7,04	5,48

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula nas colunas, para cada meio de cultura, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

²Médias seguidas de pelo menos uma letra minúscula nas linhas, para cada isolado, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Coefficiente de variação - 11,54%

Pelos dados pode-se verificar que houve uma grande variação quanto à velocidade de crescimento micelial entre os isolados associados à podridão peduncular de frutos de mamoeiro, quando cultivados em BDA e entre os demais meios de cultura estudados. Reese *et al.* (1968), English & Albersheim (1993) afirmam que o crescimento dos fungos pode ser estimulado quando os mesmos crescem em meio de cultura contendo monossacarídeos. No entanto, alguns autores discutem que o aumento nos níveis de açúcares do meio normalmente reprime a atividade de alguns microrganismos. Esse fato pode justificar, por exemplo, o crescimento lento em meio MDA para isolados como F-40 e A-20, em relação aos demais isolados da espécie, uma vez que além da

dextrose, esse meio contava também com a fonte de açúcar proveniente do mamão. Entretanto, para a maioria dos isolados estudados, baseado nas análises de índice de velocidade de crescimento micelial, pode-se afirmar que os meios BDA e MDA, além de permitirem uma maior homogeneidade de IVCM para a maioria dos isolados, favoreceram o crescimento mais rápido dos fungos, quando comparado ao meio Czapek (Tabela 5).

Diante desses resultados, pode-se afirmar que os fungos fitopatogênicos apresentam comportamentos diversos em diferentes meios de cultivo, sendo que em meios contendo açúcares prontamente assimiláveis ou parte dos componentes presentes também em seus hospedeiros, existe uma tendência de crescimento mais rápido por parte dos isolados.

TABELA 4 Índice de velocidade de crescimento micelial dos isolados de *F. solani* associados à podridão peduncular do mamão, em diferentes meios de cultura (BDA, MDA e Czapek). UFLA, Lavras, MG, 2002.

Isolado	Meios de cultura		
	BDA ¹	MDA ¹	CZAPEK ¹
F-01 ²	7,00 B a	6,91 C a	6,27 BC a
F-08	7,14 B a	6,82 C a	6,79 AB a
F-18	7,38 B a	7,05 BC a	6,99 AB a
F-25	7,43 B a	7,99 AB a	6,52 ABC b
F-29	6,60 B ab	7,31 ABC a	6,39 ABC b
F-33	7,54 B ab	8,30 A a	7,38 A b
F-36	6,57 B a	7,09 BC a	5,57 C b
F-40	8,85 A a	7,58 ABC b	7,24 AB b
Média	7,31	7,38	6,60

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula nas colunas, para cada meio de cultura, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

²Médias seguidas de pelo menos uma letra minúscula nas linhas, para cada isolado, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05). Coeficiente de variação - 6,53%

TABELA 5 Índice de velocidade de crescimento micelial dos isolados de *P. caricae papayae* associados à podridão peduncular do mamão, em diferentes meios de cultura (BDA, MDA e Czapek). UFLA, Lavras, MG, 2002.

Isolado	Meios de cultura		
	BDA ¹	MDA ¹	CZAPEK ¹
A-15 ²	7,63 ABa	7,67 AB a	7,14 AB a
A-20	6,40 BC a	5,02 D b	4,21 D b
A-24	6,13 CD a	6,40 BCD a	4,95 CD b
A-31	7,15 ABC a	7,72 A a	7,26 A a
A-42	4,96 D b	6,09 CD a	5,90 BC ab
A-43	7,97 A a	7,54 AB ab	6,96 AB b
A-44	7,17 ABC a	6,50 ABC a	7,19 AB a
A-45	7,55 AB a	6,79 ABC a	7,37 A a
Média	6,87	6,71	6,37

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula nas colunas, para cada meio de cultura, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

²Médias seguidas de pelo menos uma letra minúscula nas linhas, para cada isolado, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Coefficiente de variação - 8,79%

Em relação à procedência dos isolados (Tabela 1), nota-se que o IVCm foi também variável entre os isolados, mesmo naqueles provenientes de um mesmo Estado. Uma explicação provável para esses resultados pode estar no fato de que alguns isolados, embora oriundos de um mesmo Estado, foram obtidos a partir de frutos produzidos em localidades com características edafoclimáticas distintas nos Estados amostrados ou em lavouras com manejo diferentes. Assim, pode-se afirmar que o índice de velocidade de crescimento micelial não foi suficiente para estabelecer qualquer correlação entre essa variável e a origem geográfica dos isolados, inferindo-se que outros fatores podem estar relacionados com a variabilidade. Esses dados estão em

concordância com Valim-Labres *et al.* (1997), que sugerem que a diversidade de microrganismos não é ocasionada unicamente por pressões do ambiente decorrentes de diferenças geográficas, como temperatura, umidade relativa do ar e fotoperíodo. Neste trabalho, verificou-se que a variabilidade dos isolados pode ser influenciada por algum fator intrínseco ao patógeno, genótipo do hospedeiro, ou interação entre esses fatores, concordando com dados de Teixeira (2001), que não observou correlação entre grupos de similaridade genética e origem geográfica de isolados, sugerindo que dificilmente a expressão dos aspectos morfofisiológicos é condicionada por genes únicos.

5.2 Variabilidade morfocultural das colônias dos isolados associados à podridão peduncular do mamão

De acordo com os dados contidos nas Tabelas 6 e 7, observa-se a ocorrência de vários tipos de micélio em diferentes isolados de uma mesma espécie obtidos de frutos de mamoeiro. Observa-se também uma mudança na cor e tipo de micélio de acordo com o meio de cultura utilizado, o que evidencia uma grande variabilidade existente entre isolados quando cultivados dentro de um mesmo meio e entre os diferentes meios.

Os isolados de *F. solani*, em sua maioria, apresentaram micélio aéreo, quando crescidos em MDA e Czapek. Cinquenta por cento dos isolados de *C. gloeosporioides*, em meio BDA, tiveram a característica de micélio superficial, compacto e homogêneo e anelamento. Em meio MDA, houve uma distribuição equitativa entre os micélios aéreos e escassos para esses isolados de *C. gloeosporioides*.

Em meio Czapek, a maioria dos isolados de *P. caricae papayae* apresentou micélio superficial, compacto e homogêneo, ao passo que em meio BDA, esses isolados formaram micélio aéreo, denso, floculoso e abundante. Os isolados do norte de Minas (A-42, A-43 e A-45) mostraram padrão similar, com

micélio aéreo, denso, floculoso e abundante em meio BDA. O isolado A-44, também do norte de Minas Gerais, apresentou micélio mais ralo e superficial em MDA.

De maneira geral, foi possível verificar que poucos isolados comportaram-se igualmente, quando crescidos nos três meios de cultura. Esse fato pode indicar um comportamento diferente entre os isolados, de acordo com a fonte de nutriente à qual têm acesso. Meio de cultura artificial, como o Czapek, proporcionou o crescimento de isolados com características de crescimento superficial, frouxo e homogêneo, enquanto no MDA o micélio cresceu aéreo, ralo, floculoso e escasso. O meio BDA favoreceu o crescimento de isolados com características de micélio aéreo, denso, floculoso e abundante, principalmente para isolados de *F. solani*.

Em se tratando de colorações das colônias dos isolados, nos diferentes meios de cultura, o meio BDA favoreceu o crescimento de isolados com intensidade de coloração mais forte, ao passo que no MDA, os isolados apresentaram-se com os tons bastante claros. Os isolados de *F. solani* cultivados em meio BDA mostraram-se com tons, em sua maioria, laranja-pálido a róseos. Os isolados de *P. caricae papayae* tinham tons amarronzados e os isolados de *C. gloeosporioides* tons amarelados. No meio Czapek, os isolados cresceram em tonalidades que variaram de róseos muito claros a branco. Em relação ao meio MDA, não houve uma coloração que predominasse entre as espécies, e no MDA, a maioria dos isolados cultivados mostraram-se com colorações bastante pálidas.

Neste trabalho, não foi possível formar grupos muito distintos de isolados, apenas por meio de coloração e outras características miceliais. Entretanto, em alguns trabalhos, tem sido sugerido a análise de características para identificação de grupos associados à patogenicidade, como em estudos de Bernstein *et al.*, (1995) com *C. gloeosporioides* isolados de pêssago, maçã e

outros hospedeiros, em que conseguiram separar dois grupos morfológicamente distintos desse fungo. Entretanto, algumas características morfológicas são subjetivas, portanto, dependentes da interpretação de cada autor.

TABELA 6 Agrupamento dos isolados associados à podridão peduncular do mamão, em função de suas características miceliais (topografia, textura e anelamento) em diferentes meios de cultura. UFLA, Lavras, MG, 2002.

Características miceliais	MEIO DE CULTURA		
	BDA	MDA	CZAPEK
Aéreo, denso, floculoso e abundante	A-15, A-24, A-42, A-43, A-45, C-19, C-26, F-18, F-25, F-29, F-33, F-36, F-40	A-24, C-12	F-29, F-36, F-33
Aéreo, ralo, floculoso e escasso	F-01	C-26, C-27, C-32, F-08, F-25, F-29, F-33, F-36, F-40	A-44, F-01, F-08, F-25, F-40
Superficial, frouxo e homogêneo	C-10, C-17	A-44, A-15, C-10, C-17, C-19, F-01, F-18	A-20, A-24, A-42, A-45, C-10, C-17, C-12, C-19, C-26, C-27, C-34, F-18
Superficial, compacto e homogêneo	A-20, A-31, A-44, C-12, C-27, C-32, C-34, F-08	A-20, A-31, A-42, A-43, A-45, C-34	A-15, A-31, A-43, C-32
Anelamento (Anéis concêntricos)	A-20, A-43, C-12, C-19, C-32	A-20, C-19, C-32	A-43, C-19, C-27, C-32

TABELA 7 Agrupamento dos isolados associados à podridão peduncular do mamão, em função da coloração micelial da colônia nos diferentes meios de cultura. UFLA, Lavras, MG, 2002.

Coloração da colônia		MEIO DE CULTURA		
Munsell*	Descrição	BDA	MDA	CZAPEK
2,5Y	4/2	Marrom cinza-escuro	A-43, C-32	
	8/4	Amarelo-pálido	C-12, C-19, C-27, C-34,	
	8,5/2	Amarelo muito claro	A-24, C-10, C-17, C-26	
	9/2	Amarelo rosa-pálido		C-26, C-27 A-45, F-36, F-40
2,5Y R	9/2	Rosa-claro		C-12, F-08, F-18, F-29, F-33
5Y	6/4	Oliva		A-20, A-43
	7/4	Oliva-pálido	A-44	A-44
5YR	7/6	Laranja marrom-claro	A-20	
	8/2	Branco rosa-pálido		F-01
	8/4	Salmão-pálido		C-34 F-18
	8/6	Laranja-pálido	F-08, F-18, F-29, F-33	
	8/8	Laranja-marrom	F-36, F-40	
	9/1	Cinza-róseo		F-36, F-40 C-12
	9/2	Rosa muito claro		C-32, F-25 F-01, C-27, C-32,

...continua...

TABELA 7. Cont.

	9/4	Róseo	F-01, F-25		C-17, C-34, F-08, F-25, F-33
7,5Y	8/2	Branco rosa-pálido		A-45	
7,5Y R	8/2	Branco rosa-pálido		A-31	
	9/4	Amarelo laranja-claro			A-44, F-29
10YR	7/4	Marrom-pálido	A-45		
	8/4	Marrom muito pálido	A-15, A-31, A-42		
	9/1	Branco		A-15, A-24, A-42, C-10, C-17, C-19	A-24, C-10, C-19, C-26
	9/4	Amarelo-pardo muito claro			A-15, A-31, A-42, A-43

*Sistema Munsell de notação de cores (tonalidade e intensidade).

5.3 Variabilidade genética dos isolados associados à podridão peduncular do mamão

As análises de AFLP geraram um total de 339 bandas polimórficas para as diferentes combinações de *primers* testados. As diferentes bandas geradas apresentaram tamanhos que variaram de 30 a 330 pares de bases, as quais podem ser observadas ao longo do gel (Figura 1). Verifica-se que algumas marcas são exclusivas para os diferentes genótipos fúngicos. Essas bandas futuramente poderão ser envolvidas na construção de *primers* específicos, facilitando o processo de detecção e identificação de fitopatógenos, previamente à comercialização de frutos para o mercado importador.

Pode-se observar pelos coeficientes de similaridade genética e dendrogramas obtidos a partir dos dados de polimorfismo gerados que há uma variabilidade genética entre os isolados considerados (Figuras 2, 3 e 4).

Os isolados de *P. caricae-papayae* apresentaram similaridade média de 62% e formaram grupos bastante distintos, mesmo entre aqueles isolados de mesma procedência (Tabela 8), sendo os agrupamentos mais divergentes compostos pelos isolados A-31, A-24 e A-44, curiosamente de procedências diferentes, e com características miceliais (coloração, topografia, textura) distintas. A variabilidade observada para esses isolados pode ser devida a uma recombinação que pode ocorrer em regiões de cultivo, em função de as estruturas dos patógenos permanecerem no local de uma safra para outra. Huang *et al.* (1997) discutem que infecções múltiplas que ocorrem no campo têm um impacto importante na evolução dos patógenos, sendo um pré-requisito para a recombinação sexual ou parasexual. Jeffries *et al.* (1990) reforçam que a heterocariose e a parassexualidade são fatores cruciais na determinação da heterogeneidade fenotípica dentro de um grupo de isolados ou espécie.

P. caricae papayae

F. solani

C. gloeosporioides

15 20 24 31 42 44 45 01 08 18 25 29 33 36 40 12 17 19 26 27 32 34

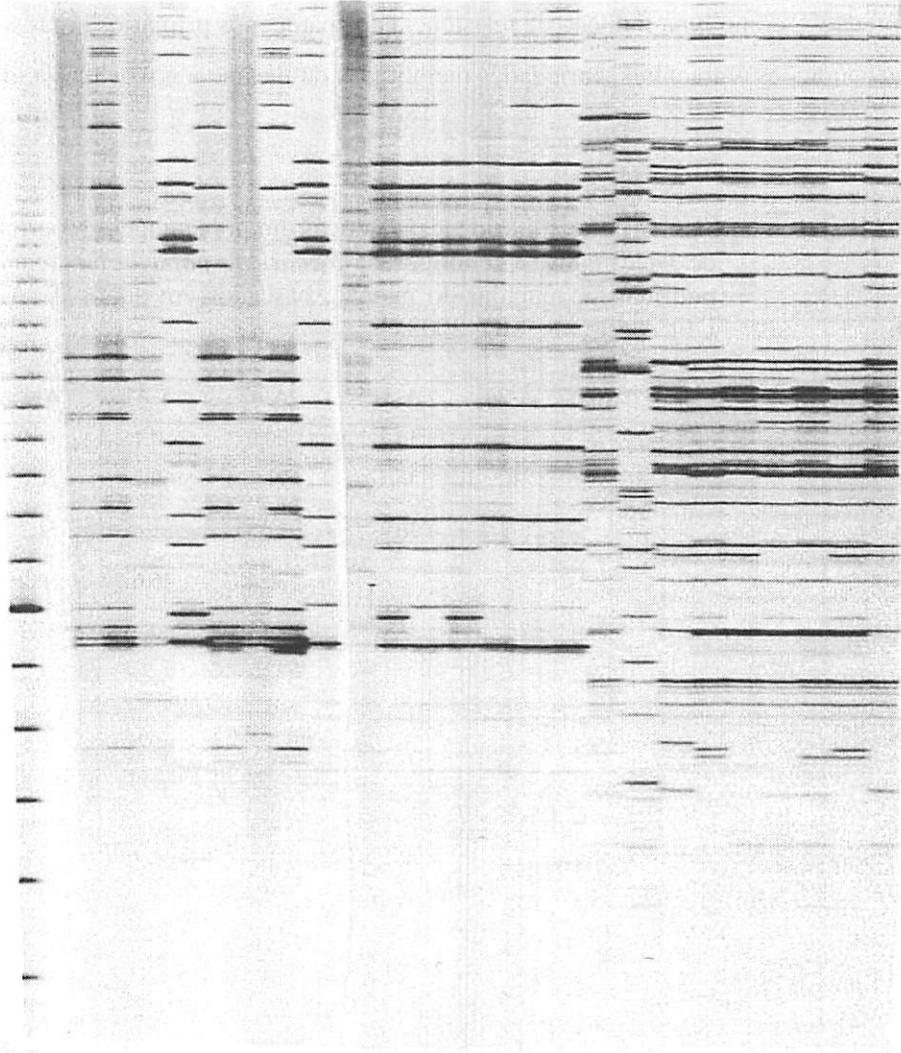


FIGURA 1 Fragmentos de AFLP, em gel de poliacrilamida, de isolados de *P. caricae papayae*, *F. solani* e *C. gloeosporioides*. UFLA, Lavras, MG, 2002.

Diante disso, sugere-se que recombinações genéticas entre os microrganismos podem ocorrer em regiões onde a produção de mamão é intensiva, como uma indução de resistência dos patógenos primários em resposta às condições ambientais, variedades melhoradas ou mesmo a novos fungicidas.

TABELA 8 Estimativas de similaridades genéticas em porcentagem (coeficiente de Dice) entre 7 genótipos de *P. caricae papayae* associados à podridão peduncular do mamão, baseados em dados de AFLP. UFLA, Lavras, MG, 2002.

Genótipo	A-15	A-20	A-24	A-31	A-42	A-44	A-45
A-15		71,1	51,5	36,2	80,9	60,1	71,0
A-20			51,2	36,5	71,7	60,7	78,6
A-24				36,4	51,3	51,4	51,7
A-31					36,4	36,6	36,2
A-42						60,9	71,2
A-44							60,5
A-45							

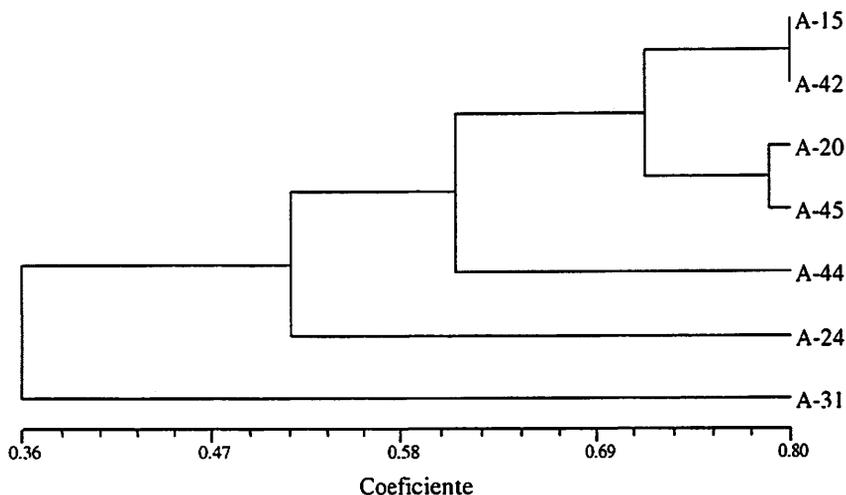


FIGURA 2 Dendrograma de similaridade genética entre isolados de *Phoma caricae-papayae* associados à podridão peduncular do mamão. UFLA, Lavras, MG, 2002.

Os isolados de *F. solani* formaram dois grupos bastante distintos, e o isolado F-01 apresentou uma similaridade média de 24% em relação aos demais, e o F-18, 30% (Tabela 9). É válido lembrar que esses dois isolados, apesar de pouco similares entre si, com 24% de similaridade, têm a mesma procedência, o que sugere a existência de variabilidade genética numa mesma região, diante da suposição de que mecanismos de recombinação genética podem ocorrer no campo. Nota-se que, quando cultivados em meio BDA, MDA e Czapek, esses isolados comportaram-se também diferentemente quanto ao índice de velocidade de crescimento micelial e colorações de colônias. Uma explicação provável para a variabilidade em fitopatógenos é levantada por Kaufmann & Weidmann (1996) sobre a ocorrência de reprodução sexuada ou mesmo outros mecanismos de recombinação genética.

TABELA 9 Estimativas de similaridades genéticas em porcentagem (coeficiente de Dice) entre 8 genótipos de *F. solani* associados à podridão peduncular do mamão, baseados em dados de AFLP. UFLA, Lavras, MG, 2002.

Genótipo	F-01	F-08	F-18	F-25	F-29	F-33	F-36	F-40
F-01		24,1	24,2	24,0	24,2	24,2	24,2	24,2
F-08			78,3	82,3	78,4	78,3	78,3	78,7
F-18				30,1	30,2	30,6	30,0	30,8
F-25					78,0	78,5	78,1	78,0
F-29						86,1	86,2	90,3
F-33							86,0	86,5
F-36								88,0
F-40								

Vários estudos sobre a variabilidade de *Fusarium* têm sido conduzidos. Kerényi *et al.*, (1997) fizeram uma correlação parcial entre compatibilidade micelial, resultados de RAPD e as regiões geográficas, indicando um moderado nível de variabilidade genética entre as regiões geográficas (média de 80% de similaridade). Os autores concluem que a combinação de métodos moleculares e tradicionais permite relacionar com segurança subdivisões intraespecíficas de fungos no estágio assexuado, como *Fusarium*, que é um invasor secundário de uma grande quantidade de plantas, e nunca será alvo de uma pressão de seleção num mesmo hospedeiro. No presente trabalho, isolados de *F. solani*, como o F-25, F-29 e F-33, procedentes do mesmo Estado (Bahia), apresentaram alta similaridade (média de 80%), concordando com Kéreny *et al.* (1997).

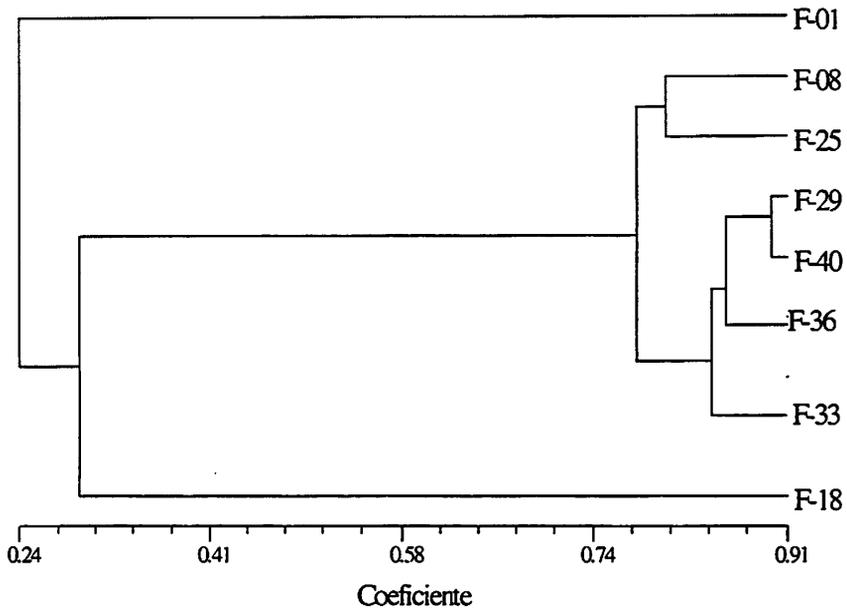


FIGURA 3 Dendrograma de similaridade genética entre isolados de *Fusarium solani* associados à podridão peduncular do mamão. UFLA, Lavras, MG, 2002

Quanto aos isolados de *C. gloeosporioides*, verificou-se a formação de um grupo distinto pelo isolado C-17 que, pelos coeficientes de similaridade, mostrou-se bem mais dissimilar aos demais isolados de *C. gloeosporioides*, com 34% de similaridade, enquanto o restante dos isolados apresentou média de 84% de similaridade (Tabela 10). Infere-se, com isso, que o isolado C-17 possui no seu genoma seqüências bastante divergentes daquelas dos outros isolados dessa espécie. Além desse grupo, verifica-se a formação de outro grupo pelo isolado C-12, em relação aos demais isolados, com 80% de similaridade. É interessante lembrar que esses dois isolados têm a mesma origem geográfica, indicando,

conforme já comentado, que outros fatores inerentes ao microrganismo ou hospedeiros do mesmo podem exercer influência sobre o genótipo dos isolados.

TABELA 10 Estimativas de similaridades genéticas em porcentagem (coeficiente de Dice) entre 7 genótipos de *C. gloeosporioides* associados à podridão peduncular do mamão, baseados em dados de AFLP. UFLA, Lavras, MG, 2002.

Genótipo	C-12	C-17	C-19	C-26	C-27	C-32	C-34
C-12		34.0	80.3	80.1	80.3	80.1	80.2
C-17			34.2	34.0	34.2	34.5	34.3
C-19				90.2	90.3	84.3	88.2
C-26					93.6	84.2	88.0
C-27						84.3	88.6
C-32							84.4
C-34							

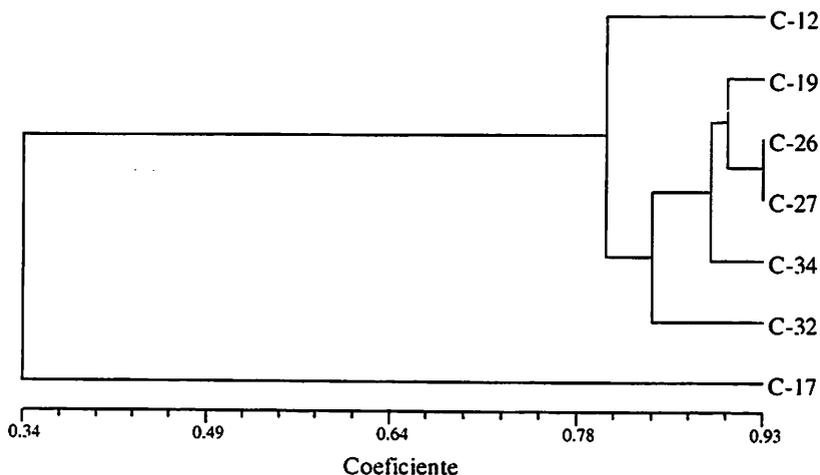


FIGURA 4 Dendrograma de similaridade genética entre isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* associados à podridão peduncular do mamão. UFLA, Lavras, MG, 2002.

Por este estudo, verificou-se que a análise molecular foi, de certa forma, distinta da caracterização morfocultural, concordando com trabalhos de Freeman *et al.* (2000), que caracterizaram vários isolados de *Colletotrichum* spp. a partir de espécies de frutos diferentes, por meio de métodos moleculares, e compararam com a identificação morfológica. Os autores concluíram que o agrupamento filogenético baseado na sequência de dados não apresentou relação com a morfologia dos conídios. Dessa forma, embora a morfologia dos conídios seja um dos critérios mais importantes para a delimitação das espécies, a classificação baseada nesse critério é questionável, tendo em vista a possibilidade de formas e tamanhos diferentes de conídios estarem presentes numa mesma população.

Diante disso, estudos envolvendo técnicas moleculares podem ser também complementares às técnicas tradicionalmente empregadas em

taxonomia. A delimitação de espécies de *Colletotrichum*, segundo Sutton (1980), é baseada em métodos tradicionais, como tamanho e forma de conídios, características das colônias, presença de escleródios, morfologia do apressório e especificidade do hospedeiro. Esse autor, em trabalhos posteriores (Sutton, 1992), ressalta que nenhum progresso nas relações genéticas, para a identificação de fungos fitopatogênicos, tem sido alcançado, baseando-se somente em caracteres morfológicos. Dessa forma, a análise molecular do genoma desses microrganismos é pertinente, uma vez que algumas características podem ser dependentes de fatores como meio de cultura, conforme sugerido por TeBeest *et al.* (1989).

Pelos resultados deste trabalho, reforça-se a idéia de que o uso de métodos moleculares aliados aos parâmetros tradicionais são fundamentais na identificação eficiente de espécies fúngicas e variabilidade entre as mesmas, sugerindo uma revisão nas características que tradicionalmente classificam esse gênero. Em concordância com este trabalho, O'Neill *et al.* (1996) afirmam que a classificação das relações genéticas entre as várias espécies que compõem o gênero *Colletotrichum*, usando características morfológicas, é difícil, por causa das alterações que podem ocorrer nas características dos isolados sob várias condições, afetando, por exemplo, a pigmentação, tamanho e estrutura do acérvulo e septos nas setas, bem como sua região de ocorrência. Assim, a combinação dos métodos moleculares e morfológicos na identificação de patógenos ou variabilidade entre os mesmos torna-se uma realidade, uma vez que somente com a utilização adequada desses métodos pode-se chegar a resultados confiáveis.

Nesse sentido, estudos têm sido incrementados ao longo dos últimos anos e, como exemplo, pode-se citar trabalhos de Alzate-Marin *et al.* (1997) e O'Neill *et al.* (1997) com *C. lindemuthianum*; de Silva-Mann *et al.* (2002) com

C. gossypii e *C.gossypii* var. *cephalosporioides* e Teixeira (2001), com *Acremonium strictum*.

A técnica AFLP, empregada neste trabalho, vem sendo utilizada com sucesso para analisar o genoma de várias espécies de fungos. É uma técnica por meio da qual se avalia a expressão gênica dominante (Ferreira & Grattapaglia, 1995) e fornece resultados de variabilidade em germoplasma e distância genética entre espécies. Pelas variáveis estudadas nesta pesquisa, constata-se que uma série de eventos podem estar envolvidos na expressão de caracteres morfoculturais, bem como de virulência, o que nem sempre pode ser amostrado pela análise genômica de seqüências amplificadas por técnicas, como os marcadores moleculares de AFLP, uma vez que as inúmeras características dos microrganismos podem ser controladas por vários genes.

6 CONCLUSÕES

Entre as espécies fúngicas do complexo da podridão peduncular do mamão, verificou-se uma ampla variabilidade entre isolados, determinada por características morfológicas, não havendo, porém, uma correlação entre essas características e análises de AFLP.

Os isolados de *C. gloeosporioides*, *F. solani* e *P. caricae papayae* mostraram comportamento variável em diferentes meios de cultura, tornando difícil a correlação entre similaridade fenotípica, genotípica e origem dos isolados.

Foi demonstrada uma alta variabilidade genética entre isolados de *P. caricae papayae* e *C. gloeosporioides*, com variabilidade média de 62% e 70%, respectivamente, e moderada variabilidade para isolados de *F. solani*, com variabilidade média de 58%.

O par de isolados mais divergente de *C. gloeosporioides*, em relação aos demais isolados dessa espécie, apresentou similaridade de 34%, sendo procedentes de uma mesma região, enquanto o par de isolados de *F. solani* mais divergente apresentou similaridade de 24%, sendo também de mesma procedência. O isolado mais divergente de *P. caricae papayae* apresentou 36% de similaridade com os demais isolados.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKAMINE, E. K.; ARISUMI, T. Control of postharvest storage decay of fruits of papaya (*Carica papaya* L.) with special reference to the effect of hot water. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, New York, v. 61, p. 270-274, June 1953.

ALZARE-MARIN, A. L.; BAÍA, G. S.; FALEIRO, F. G.; CARVALHO, G. A.; PAULA JÚNIOR, T. J. de; MOREIRA, M. A. BARROS, E. G. de. Análise da diversidade genética de raças de *Colletotrichum lindemuthianum* que ocorrem em algumas regiões no Brasil por marcadores RAPD. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 85-88, mar. 1997.

BERNSTEIN, B.; ZEHR, E. I.; DEAN, R. A. Characteristics of *Colletotrichum* from peach, apple, pecan, and other hosts. **Plant Disease**, St. Paul, v. 79, n. 5, p. 478-483, May 1995.

BURGESS, T.; MALAJCZUK, N.; DELL, B. Variation in *Pisolithus* and basidiospore morphology, culture characteristics and analysis of polypeptides using 1D SDS-PAGE. **Mycological Research**, Edinburg, v. 99, n. 1, p. 1-13, Jan. 1995.

CHAU, K. F.; ALVAREZ, A. M. A hystological study of anthracnose on *Carica papaya*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 73, n. 8, p. 1113-1116, Aug. 1983.

CHEUNG, W. D. AFLP DNA fingerprinting of *Colletotrichum* spp. Disponível em: <<http://wpi.edu/wcheung/rppaper>> Acesso em 2000.

DICE, L. R. Measures of the amount of ecologic association between species. **Ecology**, Washington, v. 26, n. 3, p. 297-302, 1945.

ECKERT, J. W. Control of postharvest diseases. In: SIEGEL, M. R.; SISLER, H. D. (Ed.). **Antifungal compounds**. New York: Marcel Dekker, 1977. p.269-352.

ECKERT, J. W. Postharvest Pathology. In: PANTASTICO, ER. E. (Ed.). **Postharvest physiology, handling and utilization of tropical and subtropical fruits and vegetables**. Westport, Connecticut: The Avi Publishing Company, 1975. p. 393-414.

ENGLISH, P. D.; ALBERSHEIM, P. Host-pathogen interactions in postharvest diseases. In: LIEBERMAN, M. (Ed.). **Post-harvest physiology and crop preservation**. Plenum, 1993.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2. ed. Brasília: EMBRAPA/CENARGEM, 1995. 220p.

FREEMAN, S.; MINZ, D.; JURKEVITCH, E.; MAYMON, M.; SHABI, E. Molecular analyses of *Colletotrichum* species from almond and other fruits. **Phytopathology**, St. Paul, v. 90, n. 6, p. 608-614, June 2000.

FUNGARO, M. H. P. PCR na micologia. **Biotecnologia: ciência & desenvolvimento**, Uberlândia, v. 3, n. 14, p. 12-16, maio/jun. 2000.

HUANG, R.; GALPERIN, M.; LEVY, Y.; PERL-TREVES, R. Genetic diversity of *Fusarium moniliforme* detected by vegetative compatibility groups and random amplified polymorphic DNA markers. **Plant Pathology**, Edinburg, v. 46, n. 6, p. 871-881, Dec. 1997.

JEFFRIES, P.; DODD, J. C.; JEGER, M. J.; PLUMBLEY, R. A. The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruit crops. **Plant Pathology**, Edinburg, v. 39, n. 3, p. 343-366, Sept. 1990.

KAUFMANN, P. J. ; WEIDEMANN, G. J. Isozyme analysis of *Colletotrichum gloeosporioides* from five host genera. **Plant Disease**, St. Paul, v. 80, n. 11, p. 1289-1293, Nov. 1996.

KERÉNYI, Z.; TÁBORHEGYI, É.; A. POMÁZI, HORNOK, L. Variability amongst strains of *Fusarium poae* assessed by vegetative compatibility and RAPD polymorphism. **Plant Pathology**, Edinburg, v. 46, n. 6, p. 882-889, Dec. 1997.

LIFE TECHNOLOGIES AFLP Analysis System I and AFLP Started Primer Kit. GIBCO BR L. USA, 1999. 19p.

MILLS, P. R.; SREENIVASAPRASAD, S.; BROWN, A. E. Detection of the antracnose pathogen *Colletotrichum*. In: SCHOTS, A.; DEWEY, F. M. OLIVER, R. **Modern assays for plant pathogenic fungi: identification, detection and quantification**. Wallingford: Redwood Press, 1994. p.183-189.

MUNSELL COLOR COMPANY. **Munsell soil color charts**. Baltimore, 1975.

O'NEILL, N. R. Pathogenic variability and host resistance in the *Colletotrichum trifolii*/Medicago pathosystem. **Plant Disease**, St. Paul, v. 80, n. 4, p. 450-457, Apr. 1996.

O'NEILL, N. R.; VAN-BERKUM, P.; LIN, J. J.; KUO, J.; UDE, G. N.; KENWORTHY, W.; SAUNDERS, J. A. Application of amplified restriction fragment length polymorphism for genetic characterization of *Colletotrichum* pathogens of alfafa. **Phytopatology**, St. Paul, v. 87, n. 7, p. 745-750, July 1997.

QIAGEN. **Dneasy plant mini handbook** - for isolation from plant tissue. New York, 1999. 16p.

QUIMIO, T. H. Pathogenicity and cultural characteristics of *Fusarium solani* from papaya. **Kalikasan**, Laguna, v. 5, p. 241-250, 1976.

REESE, E. T.; MAGUIRE, A. H.; PARRISH, F. W. Glicosidases and exo-glucanases. **Canadian Journal of Biochemistry**, Ottawa, v. 46, n. 1, p. 25-36, Jan. 1968.

RHOLF, F. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system: version 2. 10**. New York, 2000.

SILVA, F. A. N. **Aspectos patogênicos e controle químico da podridão peduncular de mamão (*Carica papaya* L.)**. 1999. 62p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVA-MANN, R.; MACHADO, J da C.; CARVALHO, K. C. S.; VIEIRA, M. G. C. Estudo da variabilidade genética de isolados do complexo *Colletotrichum* associados a sementes de algodão por meio de técnicas moleculares e inoculação em plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 27-32, jan./fev. 2002.

SUTTON, B. C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. ***Colletotrichum*: biology, pathology and control**. Wallingford: Redwood Press, 1992. 388p.

SUTTON, B. C. **The Coelomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1980.

TeBEEST, D. O.; SHILLING, C. W.; HOPKINS, R. L.; WEIDEMANN, G. J. The number of nuclei in spores of three species of *Colletotrichum*. **Mycologia**, Bronx, v. 81, n. 1, p. 147-149, Jan./Feb. 1989.

TEIXEIRA, H. **Variabilidade de *Acremonium strictum* e sua transmissibilidade e efeitos em sementes de milho (*Zea mays* L.)** 2001. 127p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA- UFV. **Sistema para análises estatísticas e genéticas – SAEG: versão7. 0.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Manual do usuário, 1997. 150p.

VALIM-LAMBRES, M. E.; PRESTES, A. M.; SAND, S. van der; MATSUMURA, A. T. S. Variação no aspecto cultural, morfologia e virulência em isolados de *Bipolaris sorokiniana* de trigo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 4, p. 483-487, dez. 1997.

CAPÍTULO 3

ASPECTOS DE PARASITISMO DA PODRIDÃO PEDUNCULAR DO MAMÃO NA PÓS-COLHEITA

1 RESUMO

PERES, Ângela Pimenta. Aspectos de parasitismo da podridão peduncular do mamão na pós-colheita. 2002. 141p. Tese - (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹

Objetivou-se com este trabalho estudar alguns aspectos de parasitismo que envolvem a podridão peduncular do mamão, causada pelo complexo *C. gloeosporioides*, *F. solani* e *P. caricae papayae*. Em um primeiro ensaio experimental, testou-se a virulência dos isolados estudados. Os frutos foram inoculados com quatro isolados de cada espécie fúngica e, após um período de 7 dias, partes ao redor do pedúnculo na região não necrosada foram retiradas para avaliações de pectina total e solúvel, atividade de pectinametilsterase, poligalacturonase, açúcares totais, vitamina C, sólidos solúveis totais, acidez total titulável, relação SST/ATT e pH. Os frutos foram também avaliados quanto à perda de massa, coloração e sintomas de infecção para avaliação da virulência dos isolados inoculados. No segundo ensaio, foram medidos a produção de gás carbônico e etileno, além de outras alterações dos frutos inoculados. Após os procedimentos de inoculação, os frutos foram colocados em cubas de vidro e, durante 5 dias foram medidas as concentrações dos gases por cromatografia gasosa. Após esse período, os frutos foram submetidos às análises de virulência e outras análises químicas. Em um terceiro ensaio, avaliou-se a ação do 1-metilciclopropeno (1-MCP) sobre algumas alterações nos frutos inoculados com *C. gloeosporioides*. Após o tratamento com 1-MCP e inoculação, os frutos foram avaliados a cada três dias quanto a alterações físicas, químicas e virulência do patógeno. Verificou-se que, de maneira geral, os frutos inoculados com os fungos apresentaram alta atividade de pectinametilsterase e baixa atividade de poligalacturonase. Não houve diferenças significativas entre os teores de pectina dos frutos inoculados e testemunha. Com algumas exceções, os frutos inoculados com os isolados mostraram-se com baixos teores de açúcares e vitamina C e alto pH e baixa acidez. Nas análises de CO₂ e etileno, ficou evidenciado um possível consumo de açúcares e ácidos orgânicos pelo patógeno no processo de colonização, o que foi constatado pelo aumento na taxa respiratória dos frutos e aumento do etileno. Foi observado que o 1-MCP proporcionou alterações nos frutos em alguns atributos de qualidade importantes, como elevada acidez, sólidos solúveis e firmeza; entretanto, não foi

¹ Comitê Orientador: José da Cruz Machado-UFLA (Orientador), Admilson Bosco Chitarra-UFLA, Luiz Carlos de Oliveira Lima-UFLA e Maria das Graças G. C. Vieira-UFLA.

verificada uma redução do desenvolvimento de *C. gloeosporioides* no pedúnculo dos frutos.

2 ABSTRACT

PERES, Ângela Pimenta. Aspects of parasitism of the stem-end rot in postharvest fruit of papaya. 2002. 141p. Thesis- (Doctorate in Food Science) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹

This work had the objective to follow the infection process involved in the disease stem-end rot of papaya caused by *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium solani* and *Phoma caricae papayae*, in separate. Infection of fruits was provoked by artificial inoculation and effects checked, in three experiments, through of different parameters. The virulence of the fungi was evaluated in the first part of this study using 4 isolates of each species. In this experiment, activity of galacturonase (PG), pectinametilsterase (PME), production of soluble solutes, total sugars, vitamin C, acidity etc were measured. A large variation in virulence was observed among fungal species and among isolates of each fungus. Infection was higher when fruits were inoculated with *C. gloeosporioides* followed by *P. caricae papayae* and *F. solani* wich was less aggressive in this study. One isolate of the species of *C. gloeosporioides* and *P. caricae papayae* caused higher infection than the other isolates. Activity of PG was higher in infected fruits and lower in relation to PME. Infected fruits showed lower levels of soluble sugars, vitamin C, and acidity. In the second experiment levels of CO₂ and ethylene were used further other quality parameters to verify the development of stem-end rot in fruits. Although infection levels were similar in all treatments, ethylene production was higher in infected fruits. In the third experiment effects of 1-MCP in the development of infection caused by *C. gloeosporioides* in papaya fruits were evaluated under closed system. During the evaluation period no direct effect of 1-MCP on the evolution of stem-end rot was registered, but treated fruits presented better market quality.

¹ Guidance Commite: José da Cruz Machado-UFLA (Adviser), Admilson Bosco Chitarra-UFLA, Luiz Carlos de Oliveira Lima-UFLA and Maria das Graças G. C. Vieira-UFLA.

3 INTRODUÇÃO

A podridão peduncular do mamão manifesta-se após a colheita, quando os fungos se desenvolvem no local do corte do pedúnculo, ou nas rachaduras, ou mesmo nos ferimentos que ocorrem durante a colheita (Bleinroth, 1995). Essa infecção pode comprometer alguns atributos de qualidade, como aparência, textura e sabor, além de estar envolvida com a queda no valor nutricional dos frutos, principalmente de vitamina C, conforme verificado em mamões por Chalfoun & Lima (1986).

Dennis (1983) afirma que um aumento no teor de açúcares solúveis no processo de amadurecimento dos frutos contribui para uma maior sobrevivência e crescimento de fungos fitopatogênicos. Esses microrganismos possuem a capacidade de secretar enzimas quebrando polímeros em monômeros para a sua nutrição e sobrevivência.

O ataque por fitopatógenos pode influenciar na respiração dos frutos, sendo a mesma aumentada porque os tecidos doentes passam a utilizar suas reservas de carboidratos mais rapidamente, aumentando sua atividade metabólica. Assim, muita energia faz-se necessária por parte do fruto para suprir a demanda. Em geral, o aumento do nível de respiração se dá logo após o início da infecção e permanece elevado até a fase de multiplicação do patógeno, chegando a níveis normais, ou mesmo inferiores aos observados em tecido sadio, assim que estágios avançados de evolução da doença sejam atingidos (Leite & Pascholati, 1995).

Os mamões podem ser classificados como climatéricos, quanto ao padrão respiratório (Kader, 1992). Frutos com esse padrão possuem durante uma fase do desenvolvimento um aumento pronunciado da evolução de CO₂, que aumenta de duas a três vezes (ascensão climatérica) até um valor máximo (pico

climatérico) e volta a diminuir (Moretti *et al.*, 2000). Em mamões, o índice respiratório é influenciado por alguns fatores, tais como, temperatura, composição atmosférica e estresse causado por agentes físicos, químicos ou biológicos.

A respiração elevada causa um rápido consumo das reservas dos tecidos e pode causar desnutrição e senescência, perda do valor nutritivo (energia e vitaminas), perda do aroma, perda de massa e perda de sabor (especialmente a doçura) (Kader, 1992). A aceleração dos processos respiratórios pode estar associada com a produção de compostos, como o etileno, que estimulam o amadurecimento.

O etileno é um composto orgânico produzido por todos os tecidos de plantas superiores e por alguns microrganismos. No entanto, a via metabólica desse composto nos microrganismos parece ser distinta das plantas superiores (Mattoo & Suttle, 1991). Em plantas, geralmente a produção do etileno aumenta com a maturidade na colheita, injúrias mecânicas, ocorrência de doenças, elevação de temperatura acima de 30 °C e quando os tecidos sofrem alguma forma de estresse (Mattoo & Suttle, 1991; Abeles *et al.*, 1992). O aumento da produção de etileno nestas condições parece estar ligado à ativação de mecanismos de resistência (Leite & Pascholati, 1995). Entretanto, por meio de estudos, tem sido demonstrado que, para *Colletotrichum gloeosporioides*, o etileno estimula a formação da hifa de infecção, por exercer um efeito direto no apressório, embora ainda não tenha sido determinada a maneira como o etileno participa desse processo (Brown, 1975).

Atualmente muitos produtos têm sido testados no sentido de se tentar reduzir o efeito do etileno nos frutos e hortaliças, visando a um efeito direto no retardamento dos processos de amadurecimento, influenciando a redução das perdas pelo ataque de patógenos. Entre esses produtos, o 1-Metilciclopropeno (1-MCP) tem sido motivo de intensas investigações, a partir da metade dos anos

90. Esse produto age pela fixação preferencial ao receptor de etileno, bloqueando, desse modo, os efeitos do etileno procedente de fontes internas e externas. Como a aderência do 1-MCP ao local receptor do etileno é substancialmente mais eficiente do que a do próprio etileno, o 1-MCP é eficaz mesmo em concentrações extremamente baixas, na faixa de ppb (partes por bilhão) (Staby, 1997). A maioria das respostas do 1-MCP pode ser revertida pelo etileno, após decorrência de um determinado período de tempo, pela geração de novos receptores de etileno. Apesar de o 1-MCP ser um gás, é formulado na forma de pó, que libera o gás que se ligará aos sítios de acoplamento do etileno quando misturado com água ou solução tampão a temperatura entre 40 e 60 °C (Serek *et al.*, 1995).

Com este trabalho, objetivou-se estudar alguns aspectos relacionados à podridão peduncular do mamão por meio da virulência dos agentes etiológicos, produção de CO₂ e etileno em sistema fechado e influência do 1-Metilciclopropeno (1-MCP) no desenvolvimento de *C. gloeosporioides*, além de algumas modificações enzimáticas, físicas e físico-químicas nos tecidos dos frutos inoculados.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Pós-colheita de Produtos Vegetais da EMBRAPA Hortaliças, em Brasília-DF, sendo as análises químicas realizadas no Laboratório de Produtos Vegetais do Departamento de Ciência de Alimentos da UFLA, nos meses de outubro de 2001 a janeiro de 2002.

4.1 ENSAIO 1: Virulência de isolados fúngicos associados à podridão peduncular do mamão e algumas alterações enzimáticas, físicas e físico-químicas dos tecidos infectados

4.1.1 Frutos utilizados

Foram utilizados frutos da cultivar Golden, procedentes da região oeste da Bahia, que foram enviados, via terrestre, para Brasília-DF, embalados em caixas de papelão. Os frutos foram submetidos a uma pré-seleção visual, escolhendo-se aqueles sem injúrias mecânicas e sem sintomas de infecção aparente.

Além da ausência de injúrias visuais, os frutos foram selecionados quanto ao tamanho (cerca de 20 cm de comprimento), cor e grau de maturação (estádio de maturação 1 – até 15% da superfície amarela).

4.1.2 Inoculações

As inoculações foram baseadas em metodologia desenvolvida por Silva (1999). Os isolados, oriundos do pedúnculo de frutos de mamoeiro, foram selecionados, tomando-se como base os resultados dos dendogramas obtidos nas análises de AFLP (Capítulo 2). Foram selecionados quatro isolados de cada espécie fúngica, que se apresentavam mais dissimilares entre si.

A inoculação foi feita por meio de disco de micélio fúngico no pedúnculo do fruto. Todos os isolados foram repicados para placas de Petri com 9 cm de diâmetro contendo meio BDA e, posteriormente, incubados a 20 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas luz/12 h escuro. Após um período de 10 dias, com auxílio de um furador de rolha, foram retirados discos de BDA contendo micélio dos isolados a serem testados. Previamente às inoculações, os frutos foram lavados em água corrente, desinfestados com hipoclorito de sódio a 0,5 % por 2 minutos, e submetidos ao tratamento hidrotérmico: água a 48 °C por 20 minutos; em seguida, em água a 20 °C por 15 minutos e, posteriormente, secos ao ar.

Após o tratamento, os frutos foram acondicionados em copos plásticos, com a região do pedúnculo voltada para cima. O pedúnculo foi cortado com auxílio de um estilete previamente flambado e no local foi depositado um disco de BDA contendo micélio; posteriormente, foram feitas perfurações no local com auxílio de uma agulha hipodérmica.

Posteriormente às inoculações, a região do pedúnculo foi submetida à câmara úmida por um período de 48 horas. Essa câmara foi composta por copos descartáveis, perfurados no fundo, no qual foi colocado um pedaço de gaze umedecida em água destilada. O copo descartável foi então ajustado, em posição invertida, sobre a região do pedúnculo, e fixado com fita adesiva na superfície do fruto. Os frutos inoculados foram mantidos em câmara incubadora sob temperatura de 25 ± 2 °C e umidade relativa de 85% por 7 dias. A testemunha constou de frutos inoculados com disco de BDA sem micélio.

4.1.3 Preparo das amostras de frutos inoculados

Após o período de incubação, foram feitas as avaliações dos sintomas (notas) e feitas as tomadas de coloração final e perda de massa, e coletadas as amostras de partes do fruto próximas ao pedúnculo para análises químicas e bioquímicas. As amostras foram retiradas dos tecidos do fruto que estavam em

fase de desorganização. Dessa forma, foram descartadas as partes próximas ao pedúnculo que se encontravam intensamente escurecidas e/ou desorganizadas. As amostras foram submetidas ao congelamento rápido em nitrogênio líquido, acondicionadas em sacos de polietileno e, com o auxílio de uma bomba de vácuo, foi retirado todo o ar contido dentro da embalagem, sendo as amostras congeladas e encaminhadas para o laboratório para a realização das análises.

4.1.4 Sintomas de infecção

As avaliações foram feitas após 7 dias de inoculação, tendo-se como base uma escala de notas de sintomas nos frutos, segundo Silva (1999):

- 1- ausência de sintomas visíveis da podridão peduncular
- 2- presença de pequenas pontuações aquosas superficiais na região do pedúnculo
- 3- presença de lesões aquosas ou mumificadas, não-coalescentes, acentuadas, abrangendo maior área em torno do pedúnculo
- 4- presença de lesões coalescentes, com aspecto translúcido ou mumificado, limitando-se à região do pedúnculo
- 5- lesões semelhantes às descritas no item anterior, abrangendo maior área, descendo na polpa do fruto, podendo chegar até a cavidade das sementes e favorecer excessivo amaciamento dessa região.

4.1.5 Análises enzimáticas, físicas e físico-químicas dos tecidos infectados

4.1.5.1 Substâncias pécticas

A amostra foi desintegrada em homogeneizador de tecidos. As frações de pectina total e solúvel foram extraídas pelo método de McCready & McComb (1952) utilizando-se 2 gramas de amostra homogeneizada e triturada em álcool etílico 95%.

Para a hidrólise enzimática da pectina total, utilizou-se pectinase de origem fúngica – *Aspergillus niger*, 1,0 U/mg (SIGMA). A análise foi feita por colorimetria, pela reação com carbazol, que tem como fundamento a formação de produto de condensação, colorido, por reação de pectina hidrolizada (ácido galacturônico) com o carbazol. A solubilização da pectina foi calculada segundo a fórmula:

$$\text{Solubilização} = \frac{\text{Pectina solúvel} \times 100}{\text{Pectina total}}$$

4.1.5.2 Extração e atividade de pectinametilsterase

Foi determinada segundo técnica descrita por Jen & Robinson (1984). A amostra foi desintegrada em homogeneizador de tecidos por 1 minuto, adicionada de NaCl 0,2 N. O substrato usado foi a pectina cítrica 1% em NaCl 0,01 N, mantendo o pH 7,0 por 10 minutos. Uma unidade de atividade da pectinametilsterase foi considerada como sendo a quantidade de enzima capaz de catalisar a reação correspondente a um micromol de NaOH por minuto nas condições do ensaio. Os resultados foram expressos por miligrama de peso fresco.

4.1.5.3 Extração e atividade de poligalacturonase

Determinada segundo Pressey & Avants (1973). A amostra foi desintegrada em homogeneizador de tecidos com água destilada a 4 °C. O homogenato foi filtrado em papel de filtro. O resíduo obtido foi suspenso em NaCl 1 M (4 °C) e o pH ajustado para 6,0 com NaOH 1 N, em banho de gelo. Esse homogenato foi incubado a 4 °C por uma hora e novamente filtrado para obtenção do extrato enzimático. O extrato foi incubado em solução de 0,25% de pectina cítrica em água destilada por 3 horas a 30 °C. A reação foi interrompida

em banho-maria fervente. Os grupos redutores liberados foram determinados segundo a técnica de Somogy, modificada por Nelson (1944).

Foi considerada uma unidade de atividade de poligalacturonase aquela capaz de catalisar a formação de um nanomol de grupos redutores por minuto. Os resultados foram expressos em unidade por grama por minuto.

4.1.5.4 Açúcares solúveis totais

Os açúcares foram extraídos com álcool etílico 80% e determinados pelo método de Antrona (Dische, 1962). A amostra foi filtrada e lavada por duas vezes com álcool etílico 95%. O sobrenadante foi evaporado até 5 mL e o volume completado para 50 mL com água destilada. Os resultados foram expressos em porcentagem de glicose na amostra.

4.1.5.5 Vitamina C total

O conteúdo de ácido ascórbico (após oxidação a ácido dehidroascórbico) foi determinado pelo método colorimétrico com 2,4 dinitrofenilhidrazina, segundo Strohecker & Henning (1967). Usou-se para doseamento 1,0 mL do filtrado obtido anteriormente e adicionaram-se 3 mL de ácido oxálico 0,5 %. Os resultados foram expressos em mg/100 g de peso fresco.

4.1.5.6 Sólidos solúveis totais (SST), acidez total titulável (ATT), pH e relação sólidos solúveis totais :acidez total titulável (SST/ATT)

Utilizando-se o extrato líquido obtido por homogeneização da polpa (diluição 1:5), determinou-se o pH em potenciômetro de membrana de vidro, segundo a AOAC (1992).

O conteúdo de sólidos solúveis totais foi medido em refratômetro digital, modelo Atago PR-100, com compensação de temperatura automática a 25 °C e expressos em porcentagem, segundo a AOAC (1992).

A acidez total titulável foi determinada por titulação (diluição 1:5) com NaOH 0,1 N, de acordo com a técnica preconizada pela AOAC (1992) e expressa em miliequivalente de ácido cítrico/kg de tecido fresco. A relação SST:ATT foi obtida pelo quociente entre SST e ATT e expressa em porcentagem.

4.1.5.7 Perda de massa (PM)

A perda de massa foi determinada em porcentagem, considerando a diferença entre o peso inicial do fruto obtido em balança semi-analítica e aquele obtido após 7 dias de inoculação, pela fórmula:

$$PM = \frac{\text{massa inicial} - \text{massa final}}{\text{massa inicial}} \times 100.$$

4.1.5.8 Coloração

A coloração da casca foi medida usando um Colorímetro Minolta CR-10, que é baseada na reflectância de luz. Esse sistema triaxial de cores, denominado *tristimulus*, fornece três coordenadas L*a*b, que permitem ao observador determinar com exatidão a coloração do objeto em estudo. No sistema, o eixo x corresponde às cores que variam do verde (-a) ao vermelho (+a); o eixo y corresponde às cores que variam do azul (-b) ao amarelo (+b) e o eixo z corresponde às cores que vão do preto (-L) ao branco (+L). Foram tomados dois pontos equidistantes na região do pedúnculo do fruto inoculado. Foram feitas tomadas de coloração inicial e final após 7 dias de inoculação e utilizada a relação a*/b* para avaliação da coloração.

4.1.6 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), constando de 4 repetições por isolado, sendo cada parcela constituída por 3 frutos.

Nas análises de coloração inicial (relação a/b inicial), os dados foram submetidos à transformação de log (x+10), após constatar a não-homogeneidade de variância pelo teste de Cochran e Bartlett (UFV, 1997).

Todas essas análises foram realizadas utilizando o sistema SAEG - Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (UFV, 1997).

4.2 ENSAIO 2: Produção de gás carbônico e etileno e outras alterações em mamões inoculados com agentes associados à podridão peduncular

4.2.1 Frutos utilizados

Foram utilizados mamões na maturação fisiológica e comercial (verde maturo), da cultivar Golden, procedentes do oeste do Estado da Bahia, adquiridos junto a produtores da região. Os frutos foram selecionados visualmente quanto à presença de danos mecânicos e infecções aparentes.

Os frutos foram embalados em caixas de papelão e enviados via terrestre ao Laboratório de Pós-colheita da EMBRAPA Hortaliças, em Brasília-DF, para a realização dos ensaios.

Além da ausência de injúrias visuais, os frutos foram selecionados quanto ao tamanho, cerca de 15 cm de comprimento, cor e grau de maturação (estádio de maturação 1 – até 15% da superfície amarela).

4.2.2 Inoculação dos frutos

As inoculações foram baseadas em metodologia desenvolvida por Silva (1999), conforme descrita anteriormente no item 4.1.2. Foram escolhidos, aleatoriamente, um isolado de *Colletotrichum gloeosporioides*, um isolado de *Phoma caricae-papayae* e um isolado de *Fusarium solani*, oriundos do pedúnculo de frutos de mamoeiro.

Previamente às inoculações, os frutos foram lavados em água corrente, desinfestados com hipoclorito de sódio a 0,5 % por 2 minutos e submetidos ao tratamento hidrotérmico: imersão em água a 48 °C por 20 minutos e depois em água a 20 °C por 15 minutos, com posterior seca ao ar.

4.2.3 Avaliação da evolução do gás carbônico e etileno em mamões inoculados com isolados associados à podridão peduncular

Após a câmara úmida, os frutos inoculados foram colocados em cubas de vidro de 5 L de capacidade previamente desinfestadas, e mantidos em câmara de 25±2 °C e umidade relativa de 85 % (Figura 5). As cubas foram fechadas durante uma hora para a retirada das amostras de gás para análise de CO₂ e etileno. A atmosfera interna das cubas foi amostrada em dois períodos do dia (manhã e tarde), a cada 24 horas, durante 5 dias. A amostragem foi feita com auxílio de uma seringa hipodérmica, sendo a atmosfera retirada através de um septo de borracha colocado na tampa de cada cuba.

A evolução de CO₂ e etileno foi acompanhada por meio de injeção de amostras da atmosfera interna de cada cuba em cromatógrafo gasoso (modelo CG 3537 D). Utilizou-se o detector de ionização de chama para determinar o etileno e de condutividade térmica, para CO₂. O tempo zero foi considerado após dois dias de inoculação, ou seja, após a retirada da câmara úmida e a colocação dos frutos inoculados nas cubas. Foram utilizados 4 frutos por cuba.



FIGURA 5 Mamões inoculados com *F. solani* (direita) e testemunha (esquerda) em cubas para avaliação da atividade respiratória e produção de etileno. Lavras, UFLA, 2002.

4.2.4 Avaliações físicas e físico-químicas

4.2.4.1 Firmeza

A firmeza da polpa foi medida como resistência à pressão utilizando aplanador horizontal (Calbo & Nery, 1995), por meio das fórmulas:

$$\text{Firmeza} = \frac{P}{A},$$

em que:

P = peso do aplanador (974,25 g) x 9,8 m/s²

$A = \frac{\pi \times D \times d}{4}$, onde:

A = área

$\pi = 3,14$

D = diâmetro maior

d = diâmetro menor

Para as medições com o aplanador horizontal, levantou-se o peso de prova, deixando-o repousar sobre a região equatorial do fruto. Esperou-se 1 minuto e mediram-se com um paquímetro os diâmetros maior e menor da placa elipsoidal formada entre o fruto e a placa de vidro. A aplicação de uma pequena gota de óleo mineral sob a placa de vidro foi feita para evidenciar as bordas da área de aplanação.

Foram medidas as firmezas inicial e final, após 7 dias de inoculação.

4.2.4.2 Perda de massa, pH, Acidez total titulável (ATT), Sólidos solúveis totais (SST), Coloração, Virulência

Essas análises foram feitas segundo procedimentos descritos anteriormente.

4.2.5 Delineamento experimental e análise estatística

Para as análises de produção de etileno e CO₂, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) num esquema de parcela subdividida, em que os fungos constituíram as parcelas e os dias de coleta formaram a subparcela. Foram utilizadas 4 repetições, sendo cada parcela constituída por 4 frutos. Os valores de etileno foram transformados utilizando a equação $\log(x+1)$, após constatar a não-homogeneidade de variância pelo teste de Cochran e Bartlett (UFV, 1997).

Para as análises de perda de massa, firmeza, pH, acidez titulável, sólidos solúveis totais, coloração e virulência, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), constando de 4 repetições, sendo cada parcela constituída por 4 frutos. Os valores de coloração foram transformados utilizando $\log(x+10)$.

Todas as análises foram realizadas utilizando o sistema SAEG (UFV, 1997).

4.3 Ensaio 3: Desenvolvimento da podridão peduncular do mamão e atributos de qualidade do fruto tratado com 1-Metilciclopropeno

Foram utilizados mamões na maturação fisiológica e comercial (verde maturo), da cultivar Golden, procedentes do oeste do Estado da Bahia, adquiridos junto a produtores da região. Os procedimentos de transporte, seleção e tratamento dos frutos foram feitos conforme descritos nos itens 4.1.1. e 4.1.2.

4.3.1 Tratamento dos frutos com 1-MCP

Após os procedimentos de seleção e tratamento hidrotérmico, os frutos foram pesados. O tratamento hidrotérmico consistiu na imersão dos frutos em água a 48 ± 2 °C por 20 minutos. Os cálculos do volume dos frutos foram feitos mantendo-se 2 frutos no fundo de um becker contendo 3000 mL de água e

tomando-se o volume deslocado. Calculou-se o volume final da caixa de isopor onde os frutos foram colocados, diminuindo-se o volume vazio da mesma (mL) pelo volume (L) dos frutos a serem tratados. Com base nesses valores, calculou-se a quantidade (g) de produto (1-MCP) a ser utilizado. O preparo da solução de 1-MCP foi feito em um frasco hermeticamente fechado, onde foram adicionados o 1-MCP (EthylBloc® a 0,14% de ingrediente ativo, na formulação pó) e água a 40-60 °C.

Os frutos foram colocados nas caixas de isopor impermeabilizadas com silicone e tratados por 12 horas com 1-MCP numa concentração de 500 ppb. As caixas foram vedadas na tampa com fita adesiva. Nesse sistema havia ventiladores acoplados às caixas, que auxiliavam na circulação do gás.

4.3.2 Inoculação dos frutos

Posteriormente ao tratamento com 1-MCP, os frutos foram submetidos à inoculação com um isolado de *C. gloeosporioides* (C-26). A inoculação foi baseada em metodologia desenvolvida por Silva (1999), por meio de disco de micélio fúngico no pedúnculo do fruto, conforme descrito no item 4.1.2.

Após os procedimentos de tratamento com 1-MCP, inoculação e incubação em câmara úmida, os frutos inoculados foram deixados em bandejas de isopor, em câmara com temperatura de 25 ± 2 °C e umidade relativa de 85 %. A testemunha constou de frutos não submetidos ao tratamento com 1-MCP e inoculados.

4.3.3 Avaliações físicas e físico-químicas

Após cada 3 dias de armazenamento, durante 6 dias, os frutos foram submetidos às análises de pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, firmeza, coloração e virulência. Todos esses procedimentos foram efetuados conforme descritos anteriormente.

4.4 Delineamento experimental e análise estatística

Para as análises de pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, firmeza, coloração e virulência nos frutos tratados com 1-MCP, o delineamento experimental foi em DIC, num esquema fatorial 2 x 3 (frutos tratados e não tratados com 1-MCP x tempos de armazenamento), constando de 4 repetições, sendo cada parcela constituída por 3 frutos. Os valores de coloração foram transformados utilizando $\log(x+10)$, após constatar a não-homogeneidade de variância pelo teste de Cochran e Bartlett (UFV, 1997).

Todas as análises foram realizadas utilizando o sistema SAEG (UFV, 1997).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ENSAIO 1: Virulência dos isolados fúngicos associados à podridão peduncular do mamão e algumas alterações enzimáticas, físicas e físico-químicas dos tecidos infectados

5.1.1 Virulência dos isolados

Em relação à virulência, observou-se pelos resultados que existem diferenças significativas entre isolados de todas as espécies estudadas e a testemunha. De modo geral, para *C. gloeosporioides*, com exceção do isolado C-17, todos foram capazes de causar altos níveis de infecção nos frutos inoculados; para *F. solani* e *P. caricae papayae*, apenas dois isolados de cada uma dessas espécies causaram infecção diferenciada da testemunha (F-18, F-40 e A-15 e A-24, respectivamente). Os índices mais elevados de infecção foram para *C. gloeosporioides*, inferindo-se que esse patógeno é o principal agente etiológico do complexo da podridão peduncular do mamão (Tabela 11).

Alguns autores postulam que após o início da infecção por patógenos primários, como o *C. gloeosporioides* no pedúnculo do mamão, os invasores secundários podem se tornar agressivos e desempenhar papel importante, pois contribuem para o aumento dos danos iniciados pelos patógenos primários (Booth & Burden, 1983).

A variabilidade de comportamento dos isolados, em relação aos sintomas de infecção constatadas neste trabalho, pode ser resultante de inúmeros fatores, como características genéticas de cada espécie, do isolado, entre outros. Segundo Jeffries *et al.* (1990) diferenças entre isolados de *Colletotrichum* são evidentes quanto à sua patogenicidade ou virulência. Quimio & Quimio (1975) encontraram diferenças na virulência de 11 isolados de *C. gloeosporioides* em frutos de mangueira. Em estudos com inoculações cruzadas, foi observado que

C. gloeosporioides isolados de manga, citros ou mamão foram capazes de causar infecções em todos os casos, mas houve uma maior variabilidade na virulência.

Em termos de sintomatologia, nota-se também uma evidente distinção entre os três fungos estudados (Figuras 6, 7, 8 e 9). Os sintomas dos frutos inoculados com *C. gloeosporioides* eram lesões mais escurecidas e compactas, e com *P. caricae papayae*, os frutos apresentavam lesões escurecidas, porém mais aquosas. Já nos frutos inoculados com *F. solani*, as lesões eram mais translúcidas e claras.

TABELA 11 Médias das notas de sintomas (1 a 5) atribuídas a mamões "Golden" inoculados com os diferentes isolados de *F. solani*, *C. gloeosporioides* e *P. caricae papayae*. UFLA, Lavras, MG, 2002.

<i>F. solani</i>		<i>C. gloeosporioides</i>		<i>P. caricae-papayae</i>	
Isolado	Nota	Isolado	Nota	Isolado	Nota
F-18	3,58 a ¹	C-12	4,75 a ¹	A-24	3,75 a ¹
F-40	3,25 a	C-26	4,16 ab	A-15	3,50 a
F-25	1,83 b	C-32	3,08 b	A-44	2,25 ab
F-01	1,50 b	C-17	1,33 c	A-20	1,08 b
Teste	1,25 b	Teste	1,25 c	Teste	1,25 b
CV ²	25,63	CV ²	18,95	CV ²	32,11

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, para cada espécie fúngica, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

²Coefficiente de variação

Neste trabalho, é interessante notar que os isolados de *C. gloeosporioides*, que apresentaram maior grau de dissimilaridade pela análise de AFLP e utilizados para esse estudo (C-12 e C-17), mostraram-se bastante divergentes também quanto às médias das notas dos sintomas. Esses resultados

confirmam, portanto, outros estudos, ou seja, a virulência é um caráter genético inerente a cada isolado fúngico, e que pode estar associado a outros fatores, como ambiente, métodos culturais e variedade resistente.

Estudos visando a determinar fatores importantes para a virulência e o controle de algumas doenças por meio do uso de mutantes ou isolados avirulentos ou fracamente virulentos têm sido conduzidos com sucesso (Dickman & Patil, 1986). No presente caso, os isolados F-01 e F-25 de *F. solani* e C-17 e C-32, de *C. gloeosporioides* e A-20 e A-44 de *P. caricae papayae* poderiam ser investigados para esse tipo de controle. Exemplo desse tipo de investigação é conhecido no caso do uso de mutantes não-patogênicos de *C. gloeosporioides* em mamão, em relação ao comportamento de *F. solani* e *Mycosphaerella* sp. (Dickman *et al.*, 1982). Nesses estudos, a aplicação de anticorpos contra cutinase de *F. solani*, que é patogênico ao mamão, determinou o bloqueio desse patógeno, evitando a sua ação infecciosa. Por outro lado, com a aplicação da cutinase aos mamões, com posterior aplicação de uma suspensão de esporos de *Mycosphaerella* sp., que não é capaz de penetrar em tecidos intactos, foi verificada a infecção com formação de lesão na ausência de ferimento.

Diante do exposto, pode-se afirmar que a variabilidade entre isolados pode ser em função de vários fatores que condicionam uma maior ou menor virulência; assim, tornam-se relevantes maiores estudos envolvendo as características patogênicas e morfoculturais, os quais poderiam fornecer esclarecimentos sobre a variabilidade de isolados associados à podridão peduncular do mamão, agregando-se essas características aos fatores desejáveis dos frutos.

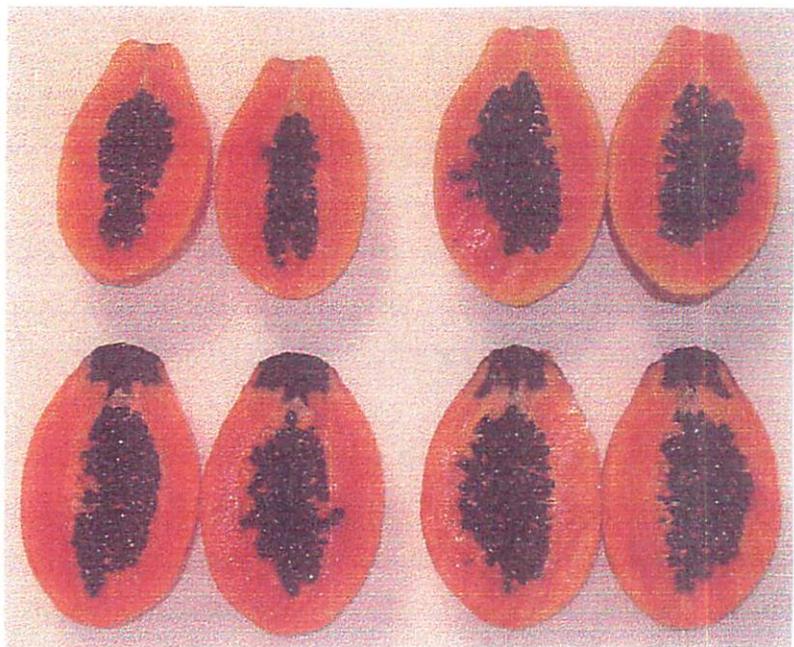


FIGURA 6 Mamões inoculados com *C. gloeosporioides* mostrando sintomas de infecção (inferior) e testemunha (superior). UFLA, Lavras, MG, 2002.

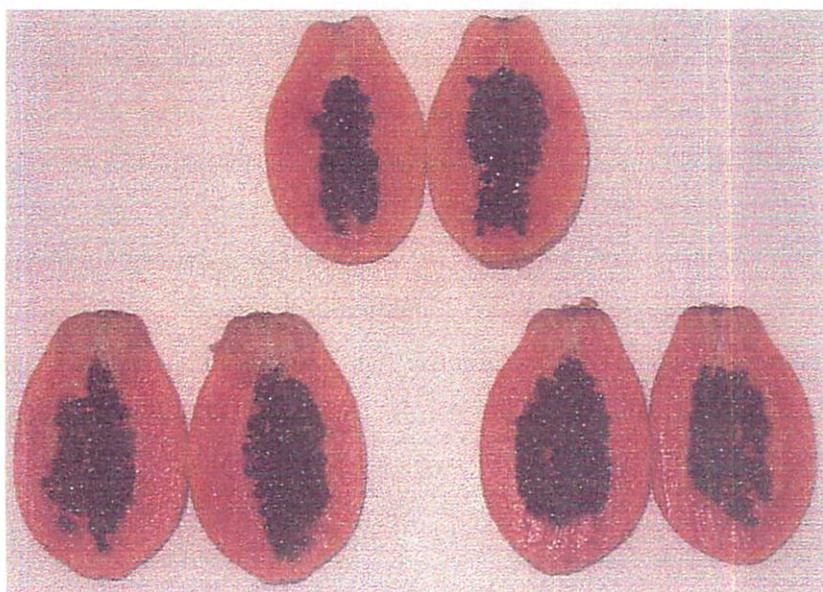


FIGURA 7 Mamões inoculados com *F. solani* mostrando sintomas de infecção (inferior) e testemunha (superior). UFLA, Lavras, MG, 2002.

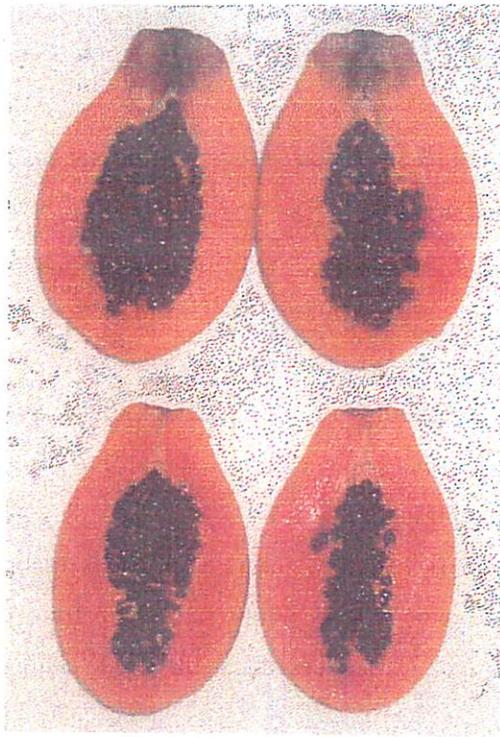


FIGURA 8 Mamões inoculados com *P. caricae papayae*, mostrando sintomas de infecção (superior) e testemunha (inferior). UFLA, Lavras, MG, 2002.

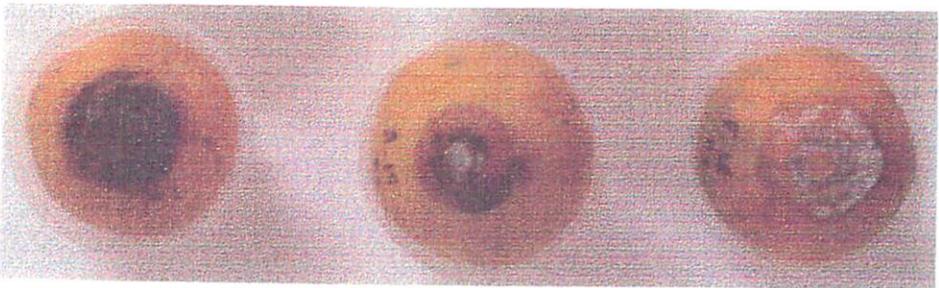


FIGURA 9 Pedúnculo de mamões inoculados com *C. gloeosporioides*, *P. caricae papayae* e *F. solani*, respectivamente. UFLA, Lavras, MG, 2002.

5.1.2 Análises enzimáticas, físicas e físico-químicas dos tecidos infectados

5.1.2.1 Substâncias pécnicas

Em relação à pectina solúvel, pelos resultados apresentados nas Tabelas 12, 13 e 14, pode-se verificar que para os frutos inoculados com a maioria dos isolados de *P. caricae papayae* e *F. solani*, não houve diferenças significativas entre esses e a testemunha. Provavelmente, para a testemunha, houve uma solubilização da pectina pelas enzimas do próprio fruto associadas com o processo de amadurecimento.

Para *C. gloeosporioides*, foram verificadas reduções significativas de pectina solúvel. Presume-se que alguns fatores do fruto podem inibir enzimas secretadas pelos fungos para a degradação da parede celular.

TABELA 12 Valores de pectina total (PT), pectina solúvel (PS), solubilização da pectina (S), atividade da pectinametilesterase (PME) e atividade da poligalacturonase (PG) dos tecidos da região do pedúnculo de mamões "Golden", inoculados com isolados de *P. caricae papayae*. UFLA, Lavras, MG, 2002.

Isolado	Análises bioquímicas				
	PT (mg/100g)	PS (mg/100g)	S (%)	PG (U/min/g de tecido)	PME (U/min/g de tecido)
A-15	957,73 a b ¹	571,81 a ¹	60,16 a ¹	11,41 c ¹	12,075 a ¹
A-20	1000,40 ab	558,71 a	55,82 a	11,46 c	7,400 cd
A-24	890,53 b	428,02 a	48,08 a	8,92 c	9,150 bc
A-44	994,68 ab	520,69 a	52,41 a	20,91 b	11,033 ab
Testemunha	1158,15 a	467,34 a	41,03 a	31,13 a	5,600 d
CV ²	9,35	19,62	21,87	18,78	10,34

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

²Coefficiente de variação.

TABELA 13 Valores de pectina total (PT), pectina solúvel (PS), solubilização da pectina (S), atividade da pectinametilesterase (PME) e atividade da poligalacturonase (PG) dos tecidos da região do pedúnculo de mamões "Golden" inoculados com isolados de *C. gloeosporioides*. UFLA, Lavras, MG, 2002.

Isolado	Análises bioquímicas				
	PT (mg/100g)	PS (mg/100g)	S (%)	PG (U/min/g de tecido)	PME (U/min/g de tecido)
C-12	926,86 ab ¹	309,21 c ¹	33,46 bc ¹	14,10 bc ¹	10,400 a ¹
C-17	867,84 b	666,60 a	78,11 a	27,03 a	6,300 b
C-26	1080,75 ab	581,47 ab	54,91 ab	22,80 ab	10,625 a
C-32	1200,38 a	345,86 c	29,18 c	12,72 c	10,750 a
Teste	1158,15 a	467,34 bc	41,03 bc	31,13 a	5,600 c
CV ²	12,64	16,99	23,18	20,00	3,18

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

²Coefficiente de variação.

É interessante notar que a taxa de solubilização da pectina foi variável entre os isolados de *C. gloeosporioides*, evidenciando mais uma vez a variabilidade desse fitopatôgeno quando associado ao seu hospedeiro. Vale ressaltar que o isolado C-17, que se mostrou bastante divergente nas análises por AFLP (Capítulo 2) e nas notas de sintomas de infecção (Tabela 11), apresentando notas inferiores do que os demais isolados, está associado aos frutos com as maiores taxas de solubilização. Diante desse fato, pode-se afirmar que a infecção de frutos com isolados fracamente agressivos pode também acelerar os processos de degradação da pectina, refletindo em altas taxas de solubilização, provavelmente pelo fato de não haver prontamente uma resposta pelo fruto quanto à defesa ao patôgeno.

Considerando que as substâncias pécicas são os principais componentes químicos dos tecidos, sendo responsáveis pelas mudanças de textura dos frutos e hortaliças (Chitarra & Chitarra, 1990), a taxa de solubilização desses compostos pode afetar a qualidade do produto. Esse fato reflete a importância de estudos envolvendo a participação de patógenos nessas alterações, associados a práticas agrícolas e armazenamento desses produtos em pós-colheita, uma vez que a concentração de pectina nas frutas e hortaliças varia também com o tipo e a variedade de cada espécie e com o grau de maturação.

TABELA 14 Valores de pectina total (PT), pectina solúvel (PS), solubilização da pectina (S), atividade da pectinametilesterase (PME) e atividade da poligalacturonase (PG) dos tecidos da região do pedúnculo de mamões "Golden" inoculados com isolados de *F. solani*. UFLA, Lavras, MG, 2002.

Isolado	Análises bioquímicas				
	PT (mg/100g)	PS (mg/100g)	S (%)	PG (U/min/g de tecido)	PME (U/min/g de tecido)
F-01	1450,16 a ¹	566,76 a ¹	39,24 a ¹	33,83 a ¹	6,900 c ¹
F-18	1158,27 b	629,64 a	54,37 a	12,88 b	7,525 b
F-25	1358,13 ab	620,45 a	46,03 a	30,95 a	7,000 bc
F-40	1096,92 b	594,70 a	54,80 a	18,00 b	12,100 a
Teste	1158,15 b	467,34 a	41,03 a	31,13 a	5,600 d
CV ²	10,05	22,46	24,15	14,15	3,34

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

²Coefficiente de variação.

5.1.2.2 Pectinametilsterase

Os frutos inoculados apresentaram uma elevada atividade dessa enzima quando comparados à testemunha (Tabelas 12, 13 e 14). Dessa forma, pode-se inferir que mesmo o fruto estando maduro, estágio em que foram realizadas as análises, a atividade de PME continuou sendo estimulada provavelmente pela presença do patógeno nos tecidos. É interessante ressaltar que os isolados que obtiveram notas de sintomas elevadas, como os isolados C-12 e C-26 de *C. gloeosporioides*, A-15 e A-44, isolados de *P. caricae papayae* e F-40 e F-18 de *F. solani*, estão relacionados com elevada atividade de PME nos tecidos dos frutos inoculados. Diante disso, observa-se que existe uma relação entre a agressividade dos isolados, verificada pelas notas de sintomas de infecção e a produção de enzimas que contribuem para a posterior degradação da parede celular, como a pectinametilsterase. Essa enzima atua sobre os substratos pectínicos, ou seja, sobre os polímeros metilados do ácido galacturônico, demetilando a pectina.

Em suporte a essa postulação, Dianese (1990) relata que, embora as pectinametilsterases não sejam responsáveis pela quebra das cadeias poligalacturônicas, elas modificam as propriedades do material pectico, alterando o seu nível de metilação. Segundo Dennis (1983), apesar de as hidrolases ou liases serem as enzimas mais envolvidas com a maceração e morte celular pelo ataque fúngico, pectinesterases (enzimas de demetilação) tornam as pectinas mais suscetíveis ao ataque. Pascholati (1995) sugere que as metilsterases alteram algumas propriedades da pectina, como, por exemplo, a solubilidade. Esse fato pode ser verificado neste estudo pela taxa de solubilização da pectina (%S) dos frutos inoculados com isolados de *C. gloeosporioides*, quando comparados com a testemunha (Tabela 13). Alguns isolados dessa espécie fúngica, que alcançaram altas notas no teste de

sintomatologia, como os isolados C-12 e C-26, estão associados a frutos que apresentaram altas taxas de solubilidade; o contrário ocorreu para o isolado C-17, que apresentou baixas notas de sintomas. Baseado nesses resultados, pode-se fazer uma associação entre a solubilidade da parede celular e a produção de enzimas, como a PME, que alteram o grau de metilação, contribuindo para a degradação final da parede celular e conseqüente solubilização.

Alguns estudos têm sido conduzidos envolvendo a produção de enzimas de degradação de parede celular *in vivo* em hortaliças infectadas com patógenos importantes na pós-colheita. Le Cam *et al.* (1997) verificaram a produção de enzimas degradadoras de polissacarídeos de parede celular em tecidos de cenoura infectados com *Mycocentrospora acerina*, um patógeno associado a podridões. Os autores detectaram por meio de eletroforese a produção de três isoformas de PME, também encontradas em meio de cultura com esse patógeno. No trabalho, os autores encontraram poucos níveis de PG quando comparados à PME e discutiram sobre a formação de barreiras estruturais que podem restringir a difusão das enzimas degradadoras de parede celular secretadas pelos patógenos e sobre a produção de fitoalexinas, sugerindo que alguns oligouronídeos resultantes da degradação da parede podem ser capazes de elicitar a síntese *de novo* de fitoalexinas em cenouras.

Em mamões sadios, a atividade de pectinametilesterase do próprio fruto eleva-se com o amadurecimento (Lourenço & Catutani, 1984) e é acompanhada por um aumento na atividade da poligalacturonase e redução da firmeza da polpa (Lazan *et al.*, 1995). A pectinametilesterase aumenta a atividade com o amadurecimento do fruto, apenas diminuindo quando o fruto torna-se excessivamente maduro e começa a desintegrar-se. Essa enzima tem um pH ótimo entre 7,5 e 8,0, sendo estável no calor, retendo cerca de 80% da sua atividade original após 60 minutos a 50 °C (Paull, 1993).

Paull e Chen (1983) observaram que a PME chega a sua atividade máxima em mamões entre o 7º e o 9º dia após a colheita. No presente estudo, os frutos estavam no 9º dia após a colheita, o que justifica a relativa atividade dessa enzima em todos os tratamentos, inclusive para a testemunha. Bicalho (1998) obteve valores de atividade de PME de 9,31 U/min/g de tecido para mamões sadios, após 35 dias de armazenamento.

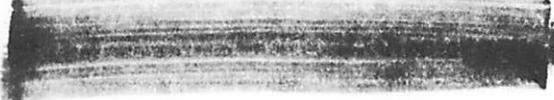
5.1.2.3 Poligalacturonase

Foram observadas diferenças significativas entre a testemunha e os frutos inoculados quanto à atividade da poligalacturonase, o que ocorreu para os frutos inoculados com a maioria dos isolados pertencentes às três espécies fúngicas (Tabelas 12, 13 e 14). Esses resultados foram exceção para alguns isolados de *F. solani* (F-01 e F-25) e *C. gloeosporioides* (C-17 e C-26), que coincidentemente apresentaram notas baixas de sintomas de infecção.

Pascholati (1995) afirma que as endopoligalacturonases e endopectatolases produzidas por patógenos causam o enfraquecimento da parede celular primária, em virtude do rompimento das ligações α -1,4 entre os resíduos de ácido galacturônico, o que ocasiona a alteração da permeabilidade seletiva da membrana plasmática sob condições de estresse osmótico.

Por outro lado, Brett & Waldron (1990) afirmam que um grande número de plantas superiores tem mostrado possuir resistência às enzimas pécticas secretadas por microrganismos. Em alguns casos, isso pode ser devido à presença de proteínas, provavelmente glicoproteínas, inibidoras de poligalacturonase.

Albersheim & Anderson-Prouty (1975) levantaram a hipótese de uma possível presença de proteínas em dicotiledôneas capazes de inibir a ação das poligalacturonases secretadas pelos agentes patogênicos. Essas proteases inibidoras de enzimas degradadoras de parede celular já foram isoladas a partir



de tecidos e células de parede de numerosas espécies (Collmer & Keen, 1986). Elas foram identificadas como glicoproteínas e são efetivas contra endopoligalacturonases e outras enzimas degradadoras de parede celular (Jeffries *et al.*, 1990). Trabalhos com glicoproteínas inibindo a produção de endopoligalacturonases produzidas por *C. lindemuthianum* foram conduzidos e revelaram linhagens resistentes de *Phaseolus vulgaris* (Lafitte *et al.*, 1984). Os autores sugerem que os inibidores podem contribuir para a redução da atividade do patógeno *in vivo*.

Neste estudo, a produção de substâncias inibidoras, como as proteínas de parede celular, pode ter influenciado na diminuição na atividade de poligalacturonase em alguns frutos inoculados, como uma forma de resistência dos frutos ao ataque de fungos associados ao pedúnculo.

Conforme já ressaltado, frutos inoculados com alguns isolados de *C. gloeosporioides* (C-17 e C-26) e *F. solani* (F-01 e F-25) não diferiram da testemunha quanto à atividade de PG, o que pode estar relacionado com a baixa agressividade desses isolados, o que não estimulou os tecidos do fruto a produzirem substâncias inibidoras da enzima. Isso pôde ser claramente observado pelos resultados da atividade enzimática dos frutos inoculados com o isolado C-17, que apresentou alta atividade de PG e não diferiu da testemunha. Além disso, frutos com esse isolado apresentaram altas taxas de solubilização, possivelmente por causa da ausência de substâncias inibidoras de PG. Pela análise molecular (Capítulo 2) esse isolado de *C. gloeosporioides* apresentou-se bastante divergente dos demais, concordando com Kaufmann & Weidemann (1996), que discutem a alta variabilidade desse fungo entre hospedeiros (Digby & Weidemann, 1991).

Pela análise dos dados deste trabalho, pode-se afirmar que maiores estudos são necessários para a confirmação da provável produção de proteases inibidoras de enzimas por fungos do complexo da podridão peduncular do

mamão. Essas substâncias inibitórias constitutivas, semiconstitutivas ou induzidas podem ser encontradas em quase todas as plantas. Em mamão, inúmeras dessas substâncias têm sido pesquisadas, com funções de defesa. Nessas pesquisas, estão envolvidos o látex produzido pelos frutos, que tem mostrado alto potencial em inibir esporos fúngicos (Saxena & Saksena, 1981), o sequenciamento de genes que codificam aminoácidos envolvidos com a produção de glucosinolatos (Bak et al., 1998), além da produção de fitoalexinas, como a *danielone-1*, isolada por Echeverri *et al.* (1997).

Esses estudos sobre os mecanismos de resistência conduzidos nos últimos anos visam, por excelência, a esclarecer, em nível celular e molecular, por quais meios ou mecanismos a planta reconhece seus patógenos ou não-patógenos, e a eles reage, ativando ou não seus mecanismos de defesa. Com o advento da biologia molecular e das técnicas mais sofisticadas e mais acuradas, um grande impulso tem sido dado ao estudo dos mecanismos de interação, reconhecimento e defesa das plantas (Moraes, 1991). Apesar de nem todas as interações entre patógeno-hospedeiro no processo de patogênese terem sido ainda esclarecidas, o envolvimento dessas enzimas pectinolíticas produzidas ou estimuladas pelos patógenos nesse processo parece estar relacionado com profundas alterações no metabolismo dos frutos em pós-colheita.

5.1.3 Vitamina C

Em relação à *F. solani*, percebe-se que houve uma acentuada variação nos teores de vitamina C nos frutos, em função dos diferentes isolados. Esses níveis foram mais altos nos tratamentos envolvendo os isolados F-01 e F-40. Para os isolados F-18 e F-25, os níveis de vitamina C foram em torno de 50% menores do que a testemunha. Por sua vez, em todos os tratamentos envolvendo *C. gloeosporioides*, os níveis de vitamina C foram menores do que a testemunha. Para um isolado dessa espécie, C-12, esse nível foi 10 vezes menor do que na

testemunha. Para frutos inoculados com *P. caricae papayae*, apenas em um tratamento envolvendo um isolado (A-20), o nível de vitamina C foi igual ao da testemunha, e os demais tratamentos apresentaram-se significativamente inferiores em vitamina C (Tabela 15).

Provavelmente a redução nos teores de vitamina C nos frutos inoculados com os três fungos está no fato de que essa redução pode ser decorrente da utilização de açúcares pelos patógenos durante o processo de patogênese, uma vez que a glicose é precursora da vitamina C nos frutos. Outra hipótese plausível, nesse caso, diz respeito aos processos de oxidações que podem ocorrer, como resposta ao ataque patogênico, que podem estar associadas à defesa dos frutos aos patógenos. Como já se conhece, compostos como a glicose, precursores da vitamina C, podem ser desviados de sua rota normal em decorrência de participação em outros processos de defesa ao ataque.

Dados deste trabalho estão em concordância com Durigan (1999), que afirma que as perdas pós-colheita de produtos hortícolas decorrentes das podridões causadas por microrganismos causam prejuízos nutricionais, pois reduzem a quantidade de nutrientes disponíveis. Chama atenção o fato de que os isolados de *C. gloeosporioides*, C-12 e de *P. caricae papayae* (A-15), que foram os que estiveram associados aos menores valores de vitamina C no presente estudo, são os mais patogênicos, conforme verificado anteriormente, o que comprova que esses organismos interferem na qualidade nutricional dos mamões. É oportuno salientar que o teor de ácido L-ascórbico do fruto depende de muitos fatores, incluindo cultivar, estágio de maturação, meio de crescimento, estação e a acidez do fruto (Roig *et al.*, 1993).

A título de referência, vale lembrar que os valores de vitamina C observados na testemunha do presente estudo estão na faixa de composição já conhecida para frutos de mamoeiro, que variam cerca de 42 mg/100 g para frutos imaturos, ao passo que frutos maduros têm cerca de 55 mg/100 g (Arriola

et al., 1976). Wills *et al.* (1998) citam a quantidade de vitamina C em mamões como sendo cerca de 80 mg/100 g. Nessa espécie, verifica-se um aumento gradual dessa vitamina com a maturação, o que é uma exceção, quando comparado com a maioria dos outros frutos tropicais (Arriola *et al.*, 1980).

5.1.4 Açúcares totais

Pelos resultados deste trabalho, fica evidenciada uma clara diminuição nos teores de açúcares dos frutos inoculados com todos os isolados testados, indicando uma possível utilização desses açúcares para o metabolismo dos fungos associados à podridão peduncular do mamão, e outros mecanismos, conforme referenciado para a vitamina C. Em relação ao percentual de redução de açúcares totais, nota-se, a exemplo do que ocorreu com a vitamina C, que os índices foram em torno de 6 a 8 vezes menores para os frutos inoculados (Tabela 15). Associando os conteúdos de açúcares com os teores de vitamina C, que foram inferiores para a maioria dos frutos inoculados, verifica-se que pode haver uma relação entre os mesmos. Vale reafirmar que nos frutos inoculados pode ter havido uma utilização dos açúcares pelos patógenos no processo de patogênese, o que diminuiu os teores de vitamina C nesses frutos, uma vez que a glicose é o precursor da vitamina C no metabolismo celular.

Do ponto de vista de qualidade para o consumidor, verifica-se que o teor de açúcares presentes nos frutos é um atributo importante, pois está relacionado com a doçura e sabor, através do balanço com os ácidos, e com a textura, além da combinação com os polissacarídeos estruturais, como as pectinas. Com o amadurecimento dos frutos, há um aumento no teor de açúcares por meio dos processos de biossíntese ou degradação de polissacarídeos. Segundo Chan Jr. *et al.* (1979), o aumento no conteúdo de açúcares em mamão é uma das mais importantes transformações bioquímicas que ocorrem nesse fruto durante a fase de maturação.

TABELA 15 Valores de açúcares totais (AT) e vitamina C (Vit. C) dos tecidos da região do pedúnculo de mamões "Golden", inoculados com isolados de *F. solani*, *C. gloeosporioides* e *P. caricae papayae*. UFLA, Lavras, MG, 2002.

<i>F. solani</i>			<i>C. gloeosporioides</i>			<i>P. caricae papayae</i>		
Isolado	AT	Vit. C	Isolado	AT	Vit. C	Isolado	AT	Vit. C
	(g/100g)	(mg/100g)		(g/100g)	(mg/100g)		(g/100g)	(mg/100g)
F-01	1.56 b ¹	108.73 a ¹	C-12	0.52 c ¹	8.79 d ¹	A-15	0.87 b ¹	9.82 c ¹
F-18	0.84 c	37.54 d	C-17	0.77 bc	68.64 b	A-20	0.63 b	89.47 a
F-25	1.42 b	27.73 e	C-26	0.57 bc	17.66 d	A-24	0.80 b	13.39 c
F-40	1.00 c	103.54 b	C-32	0.83 b	46.93 c	A-44	0.68 b	59.74 b
Teste	3.79 a	86.79 c	Teste	3.79 a	86.79 a	Teste	3.79 a	86.79 a
CV ²	7.98	15.31	CV ²	9.56	10.98	CV ²	9.83	6.89

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

²Coefficiente de variação.

Durante a fase de penetração fúngica, os microrganismos produzem uma variedade de enzimas, normalmente extracelulares, que atuam na degradação dos componentes da parede celular do hospedeiro. Depois da penetração, os patógenos podem se espalhar a partir do sítio de infecção e colonizar o tecido do hospedeiro. Segundo Pascholati (1995), esse processo, normalmente, caracteriza-se pela desagregação celular e utilização de nutrientes, o que resulta em alterações na morfologia e no metabolismo, levando ao aparecimento dos sintomas. Dessa forma, ao degradar a parede celular e colonizar os tecidos, os fungos são capazes de retirar parte dos açúcares que se encontram nas células do hospedeiro, para a sua nutrição e desenvolvimento. Esse processo é amplamente relatado na literatura para inúmeras outras interações patógeno-hospedeiro (Agrios, 1988).

Um aspecto importante verificado neste estudo foi a formação de áreas infectadas pelos fungos com colorações distintas entre as três espécies da podridão peduncular do mamão. Esse padrão de coloração distinta é uma evidente indicação de formas diferenciáveis de resposta de tecidos de frutos ao ataque de diferentes patógenos. A partir de carboidratos, os frutos podem sintetizar compostos fenólicos mediante diferentes rotas metabólicas, em resposta a esse ataque. Após a biossíntese, esses compostos são oxidados por enzimas, como a polifenoloxidase, para formarem quinonas, as quais reagem com compostos nitrogenados, como aminoácidos, peptídeos e proteínas, resultando na produção de compostos de cor escurecida (Moretti, 1998). No caso de *C. gloeosporioides* e *P. caricae papayae*, as lesões foram tipicamente escuras, sendo para *C. gloeosporioides* mais intensas. Por outro lado, os isolados de *F. solani* promoveram uma descoloração e formação de lesão aquosa e translúcida nesse local (Figuras 6, 7 e 8). Formação de tecidos escurecidos em frutos inoculados com *C. gloeosporioides* e *P. caricae papayae* pode estar relacionada ao fato de certos patógenos estimularem uma maior biossíntese de fenólicos para a defesa no processo patogênico. Esse padrão de coloração, no presente estudo, pode ser aplicado para *C. gloeosporioides* e *P. caricae papayae*. Para *F. solani*, outro mecanismo provavelmente explique esse tipo de parasitismo.

5.1.5 Sólidos solúveis totais (SST), acidez total titulável (ATT), pH e relação sólidos solúveis totais: acidez total titulável (SST:ATT)

Verificou-se que houve uma redução no conteúdo de sólidos solúveis totais, para os frutos inoculados com a maioria dos isolados testados de todas as três espécies fúngicas (Tabelas 16, 17 e 18). Um dos isolados de *F. solani* (F-01) e um isolado de *C. gloeosporioides* (C-17) não diferiram da testemunha, apresentando alto conteúdo de sólidos solúveis totais. É válido lembrar que esses

isolados obtiveram notas baixas de sintomas de infecção e formaram grupos distintos pelos resultados de AFLP. Para os isolados considerados mais virulentos (C-12 e C-26) de *C. gloeosporioides* e A-15 e A-24 de *P. caricae papayae*, houve uma maior redução nos teores de sólidos solúveis totais dos frutos.

TABELA 16 Valores de sólidos solúveis totais (SST), acidez total titulável (ATT), pH e SST/ATT dos tecidos da região do pedúnculo de mamões "Golden", inoculados com isolados de *F. solani*. UFLA, Lavras, MG, 2002.

Isolado	Análises químicas			
	SST (%)	ATT (meq áci. cítrico/kg tecido fresco)	pH	SST/ATT (%)
F-01	8,72 ab ¹	2,40 a ¹	4,39 b ¹	36,32 a ¹
F-18	5,60 c	1,44 b	6,20 a	39,34 a
F-25	7,25 bc	2,02 ab	4,38 b	37,66 a
F-40	5,55 c	1,49 b	7,94 a	37,24 a
Testemunha	9,37 a	2,24 a	4,40 b	42,44 a
CV ²	12,47	16,60	14,84	17,39

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0.05).

²Coefficiente de variação.

Segundo Honório & Rocha (1988) frutos maduros de mamão Sunrise Solo apresentam 11-14 °Brix. Dados desse trabalho, mais uma vez, levam a inferir que houve uma utilização de sólidos solúveis totais pelos fungos ou pelo próprio fruto para reposição energética, uma vez que os frutos inoculados com os isolados apresentaram teores de sólidos solúveis totais inferiores à testemunha (9,37 °Brix). Esse fato pode comprometer a relação SST/ATT, afetando a qualidade dos frutos com relação ao sabor.

Trabalhos conduzidos por Wills & Widjanardko (1995) indicam que mamões maduros mantidos a uma temperatura de 25 °C apresentaram 1,16 meq ácido cítrico/kg de tecido fresco. Esses dados estão de certa forma em concordância com os deste trabalho, em que a testemunha apresentou teores de acidez de 2,24 meq ácido cítrico/kg de tecido fresco.

TABELA 17 Valores de sólidos solúveis totais (SST), acidez total titulável (ATT), pH e SST/ATT dos tecidos da região do pedúnculo de mamões "Golden", inoculados com isolados de *C. gloeosporioides*. UFLA, Lavras, MG, 2002.

Isolado	Análises químicas			
	SST (%)	ATT(meq áci. cítrico/kg tecido fresco)	pH	SST/ATT(%)
C-12	4,45 b ¹	1,06 b ¹	8,55 a ¹	41,71 a ¹
C-17	8,10 a	1,70 a	4,41 b	47,79 a
C-26	4,87 b	1,06 b	7,93 a	46,62 a
C-32	5,92 b	1,81 a	4,62 b	34,25 a
Testemunha	9,37 a	2,24 a	4,40 b	42,44 a
CV ²	12,25	17,09	4,71	17,04

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0.05).

²Coefficiente de variação.

Foi verificada uma tendência de elevação do pH nos frutos inoculados com a maioria dos isolados (Tabelas 16, 17 e 18). Com base em resultados anteriores, vê-se que esses frutos apresentaram baixas atividades de poligalacturonase, açúcares totais e teores de vitamina C, como os frutos inoculados com os isolados A-15, A-24; C-12, C-26; F-18 e F-40. Esses fungos causaram os maiores índices de infecção nos frutos, e alguns deles apresentaram alto índice de velocidade de crescimento micelial em meio BDA (Capítulo 2). O aumento nos valores de pH em frutos inoculados com esses isolados

possivelmente pode ser devido ao consumo dos ácidos orgânicos pelos fungos ou pelos frutos, que estariam utilizando esses ácidos como substratos respiratórios para a reposição energética.

TABELA 18 Valores de sólidos solúveis totais (SST), acidez total titulável (ATT), pH e SST/ATT dos tecidos da região do pedúnculo de mamões "Golden", inoculados com isolados de *P. caricae papayae*. UFLA, Lavras, MG, 2002.

Isolado	Análises químicas			
	SST (%)	ATT(meq áci. cítrico/kg tecido fresco)	pH	SST/ATT(%)
A-15	5,35 b ¹	0,90 d ¹	7,52 a ¹	59,76 a ¹
A-20	5,55 b	1,81 b	4,59 c	30,63 b
A-24	5,12 b	1,22 c	5,98 b	41,91 ab
A-44	5,93 b	1,28 c	5,21 bc	46,35 ab
Testemunha	9,37 a	2,24 a	4,40 c	42,44 ab
CV ²	12,47	9,37	7,13	17,64

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0.05).

²Coefficiente de variação.

A interação patógeno-hospedeiro exerce influência no aumento da respiração do fruto, o que faz desencadear uma série de reações metabólicas. Segundo Wills et al. (1998), a respiração é um processo oxidativo de quebra dos materiais mais complexos presentes nas células, tais como amido, açúcares e ácidos orgânicos, em moléculas simples, tais como dióxido de carbono e água, com a conseqüente produção de energia e outras moléculas que podem ser utilizadas em outras reações de síntese. Durigan (1999) sugere que as injúrias estimulam o processo respiratório e a produção de etileno pelos tecidos vegetais

e, portanto, tornam-no mais suscetível ao crescimento dos microrganismos presentes.

Arriola *et al.* (1980) reportam um discreto aumento da acidez titulável em frutos de mamão durante o amadurecimento. Tal fenômeno pode estar associado com os ácidos galacturônicos liberados, que aumentam com o amadurecimento, pela ação das enzimas pectinametilesterase e poligalacturonase do próprio fruto. Dessa forma, também uma possível inibição da atividade de PG verificada nesta pesquisa, para frutos inoculados com alguns isolados, pode ter influenciado os menores teores de acidez quantificados nesses frutos. Além disso, frutos inoculados com isolados mais agressivos são mais rapidamente colonizados, e esses patógenos consomem maiores quantidades de açúcares, determinando menores teores de vitamina C.

5.1.6 Perda de massa

Neste trabalho, de uma maneira geral, não houve diferença significativa para perda de massa para os frutos inoculados com a maioria dos isolados dos três gêneros testados (Tabela 19). Apesar de um possível aumento na atividade respiratória, a indução de perda de água foi em quantidades insignificantes em relação à massa total, o que foi revelado pelos resultados. Frutos inoculados com um isolado de *C. gloeosporioides* (C-17) apresentaram perda de massa superiores à testemunha. É válido lembrar que esses frutos comportaram-se diferentemente em todas as demais variáveis.

Segundo Pantastico (1975), a desidratação dos frutos é indesejável, pois, mesmo que relativamente baixa, pode exercer sérios efeitos sobre as propriedades físicas, fisiológicas, patológicas, nutricionais, econômicas e estéticas do produto. Os frutos de mamão são cobertos por uma camada cerosa (cutícula), o que limita a perda de água. No entanto, quadros sintomatológicos que levam a uma ruptura da superfície cutinizada dos vegetais causam aumento

na taxa de transpiração (Pascholati, 1995), o que pode ser medido pela perda de massa.

TABELA 19 Valores de perda de massa de mamões "Golden" inoculados no pedúnculo com isolados de *F. solani*, *C. gloeosporioides* e *P. caricae papayae*. UFLA, Lavras, MG, 2002.

<i>F. solani</i>		<i>C. gloeosporioides</i>		<i>P. caricae papayae</i>	
Isolado	Perda massa (%)	Isolado	Perda massa (%)	Isolado	Perda massa (%)
F-01	2,75 a ¹	C-12	3,93 a ¹	A-15	3,63 ab ¹
F-18	3,60 a	C-17	2,51 c	A-20	3,45 b
F-25	2,90 a	C-26	3,47 abc	A-24	4,42 a
F-40	4,01 a	C-32	2,72 bc	A-44	3,39 b
Testemunha	3,64 a	Teste	3,64 ab	Teste	3,64 ab
CV ²	25,37	CV ²	15,16	CV ²	11,06

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0.05).

²Coefficiente de variação.

De acordo com Resende & Machado (2000), a taxa de perda de água que é perdida das partes do vegetal depende de diferenças entre a pressão de vapor de água no interior dos tecidos e a pressão de vapor do ar. Para manter a taxa de perda de água em níveis os mais baixos possíveis, é necessário que o produto vegetal seja armazenado em atmosfera relativamente úmida, condição essa que, por outro lado, pode contribuir para a proliferação de patógenos que causam podridões. Esses experimentos foram conduzidos em câmara com umidade relativa de 85%, o que também pode ter sido significativo para uma diminuição na perda de água dos frutos.

Assim, é de se inferir que, como resultado da colonização dos fungos associados à podridão peduncular do mamão, a queda na qualidade dos frutos em termos de sabor, textura e valor nutricional é mais importante para o mercado consumidor. Entretanto, além desses aspectos, o processo de infecção pode resultar na abertura de porta de entrada para a colonização por patógenos, que poderiam influenciar também na qualidade final do fruto como um todo.

5.1.7 Coloração

Para os mamões inoculados com os diferentes isolados fúngicos, a maioria não apresentou diferenças significativas na mudança de coloração (Tabela 20).

Pela metodologia utilizada para avaliar a coloração dos frutos, os valores negativos indicam a coloração mais verde e os valores positivos a coloração amarelo-alaranjada. Observou-se uma mudança de coloração dos frutos inoculados com a maioria dos isolados testados e também pela testemunha, de verde (coloração inicial) para alaranjado ou avermelhado (coloração final, após 7 dias de inoculação). É interessante chamar a atenção mais uma vez para os frutos inoculados com o isolado C-17, que apresentaram menor relação a^*/b^* em comparação com a testemunha.

A mudança de coloração é a alteração mais óbvia que acontece em muitos frutos no processo de amadurecimento e tem sido seguida como um critério para os consumidores (Wills *et al.*, 1998). Com algumas exceções, os frutos climatéricos perdem rapidamente a coloração verde durante o amadurecimento. A coloração verde deve-se à presença de clorofila, que é degradada em função de mudanças de pH, sistemas oxidativos e clorofilases. Essas mudanças podem ser observadas ao se comparar os resultados de coloração inicial (valores negativos) com a coloração final (valores positivos).

Uma diminuição da síntese e um aumento da degradação de pigmentos em frutos podem ser resultado do processo normal de amadurecimento, injúrias ou processo patogênico. Esses fatores podem promover uma ruptura das células e extravasamento dos conteúdos celulares, causando a exposição dos pigmentos a condições que propiciem a ocorrência de degradação oxidativa ou enzimática pela ação de substâncias (Gross, 1991) que podem estar relacionadas à defesa.

TABELA 20 Valores de coloração inicial (Cor I) e final (Cor F) de mamões "Golden", inoculados no pedúnculo com isolados de *C. gloeosporioides*, *F. solani* e *P. caricae papayae*. UFLA, Lavras, MG, 2002.

<i>F. solani</i>			<i>C. gloeosporioides</i>			<i>P. caricae papayae</i>		
Isolado	Cor I	Cor F	Isolado	Cor I	Cor F	Isolado	Cor I	Cor F
F-01	-0,2537a ¹	0,2579 a ¹	C-12	-0,2506a ¹	0,3380 a ¹	A-15	-0,2597a ¹	0,2081 a ¹
F-18	-0,2483 a	0,3221 a	C-17	-0,2794 a	0,0665 b	A-20	-0,2457 a	0,1151 a
F-25	-0,2547 a	0,2215 a	C-26	-0,3083 a	0,2604 ab	A-24	-0,2581 a	0,3117 a
F-40	-0,2606 a	0,3034 a	C-32	-0,2438 a	0,2644 ab	A-44	-0,2281 a	0,2277 a
Testem.	-0,2153 a	0,3167 a	Testem	-0,2153 a	0,3167 a	Testem	-0,2153 a	0,3167 a
CV ²	0,186	24,61	CV ²	0,191	36,424	CV ²	0,217	39,62

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

²Coefficiente de variação.

Alguns pigmentos presentes nos frutos são precursores de compostos fenólicos; portanto, a degradação desses pigmentos no processo patogênico pode afetar diretamente teores finais de compostos voláteis, o que pode refletir na relação SST/ATT, variável indicativo de sabor. Alterações na síntese e degradação de clorofila, carotenóides e compostos voláteis e modificações na atividade de enzimas são eventos que apresentam dependência de etileno

(Baldwin *et al.*, 1991). Para a variável coloração, não foram observadas diferenças significativas para a maioria dos isolados testados. No entanto, ao analisar visualmente os frutos íntegros e partidos (Figuras 6, 7, 8 e 9), quando da indicação das notas de sintomas de infecção, o escurecimento da região afetada foi levado em consideração, o que visualmente indicava uma forte mudança de coloração. Dessa forma, sugere-se em futuros estudos, para esses casos, a inclusão da análise do brilho (L) para obtenção de resultados satisfatórios.

5.2 ENSAIO 2: Produção de gás carbônico e etileno e outras alterações em mamões inoculados com agentes associados à podridão peduncular

5.2.1 Evolução do etileno e gás carbônico em mamões inoculados com isolados associados à podridão peduncular

Em relação a etileno, observou-se que não houve interação significativa entre os tratamentos envolvendo os frutos inoculados com as três espécies fúngicas e diferentes dias de avaliação (Tabela 21). Diferenças significativas foram encontradas entre os três fungos e a testemunha (frutos não inoculados). Observa-se que frutos não inoculados e frutos inoculados com *F. solani* apresentaram concentrações de etileno inferiores àqueles inoculados com *C. gloeosporioides* e *P. caricae papayae*.

Nota-se que, no tempo 3 de avaliação, a produção de etileno dos frutos inoculados com *C. gloeosporioides* e *P. caricae papayae* foi cerca de duas vezes maior que a produção de etileno dos frutos inoculados com *F. solani* e cinco vezes maior que a testemunha. Dessa forma, o aumento nas concentrações de etileno pode ser resultante de um estímulo desencadeado por patógenos, inferindo-se que patógenos agressivos como *C. gloeosporioides* e *P. caricae papayae* estimulam a produção de etileno nos frutos, favorecendo a penetração e o desenvolvimento desse patógeno.

TABELA 21 Produção de etileno ($\mu\text{L}/\text{Kg}/\text{h}$) a partir de mamões "Golden" inoculados com *C. gloeosporioides*, *P. caricae papayae* e *F. solani*. Lavras, UFLA, 2002.

Fungo	Tempo (dias)					Média
	0	1	2	3	4	
<i>C. gloeosporioides</i>	5,10	6,88	6,73	10,96	8,50	7,63ab ¹
<i>P. caricae papayae</i>	8,97	9,04	8,59	10,84	8,67	9,22a
<i>F. solani</i>	5,49	5,49	4,29	4,68	3,82	4,75b c
Testemunha	2,98	3,33	3,35	2,96	3,22	3,18c
Média	5,63	6,18	5,74	7,36	6,05	6,19

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Coefficiente de variação A: 33,99 %

Coefficiente de variação B: 13,89 %

A hipótese de que o etileno pode estimular diversos fungos a iniciarem os processos de degradação de compostos presentes nos frutos, necessários para a sua colonização e estabelecimento, tem sido amplamente documentada. No caso de *C. gloeosporioides*, alguns pesquisadores têm relacionado a formação e quiescência do apressório formado no processo patogênico, com fatores constitutivos dos frutos ou exógenos (Prusky, 1996). Entre esses fatores, o etileno produzido pelo hospedeiro tem sido sugerido por Flaishman & Kollatukudy (1994) como potencial indutor da formação do apressório. Esses autores afirmam que concentrações menores que $1 \mu\text{L}/\text{L}$, quantidades inferiores às produzidas pelos frutos durante o amadurecimento, induziram ambas à germinação e formação do apressório de *C. gloeosporioides*.

Mediante estudos recentemente conduzidos por Latunde-Dada (2001) com frutos de abacate sadios, verificou-se que o etileno é produzido em níveis baixos, cerca de $0,2 \mu\text{L}/\text{L}$, durante o desenvolvimento do fruto; e quando o fruto torna-se maduro, essa concentração aumenta subitamente para cerca de 500

$\mu\text{L/L}$. Os autores concluíram que em níveis de $1 \mu\text{L/L}$ de etileno exógeno, houve um estímulo na germinação conidial, alongamento do tubo germinativo e formação de apressório em *C. gloeosporioides*.

Brown & Burns (1995) relatam que o etileno exógeno é significativo na ativação de micélio quiescente de *Diplodia natalensis*, um fungo causador de podridão peduncular em laranjas. Nesse caso, o etileno usado no desverdecimento dos frutos, processo usado em escala comercial, estimula o aumento da atividade de duas enzimas envolvidas na abiscisão do pedúnculo do fruto, exopoligalacturonase e celulase, capacitando o fungo a penetrar e desenvolver nos frutos o sintoma da podridão peduncular.

Lam (1990) verificou uma produção de etileno por frutos de mamão de menos de $0,1 \mu\text{L/Kg/h}$ a 5°C , e as concentrações aumentaram com o aumento da temperatura de armazenamento. No presente trabalho, as concentrações médias de etileno variaram de $2,91 \mu\text{L/Kg/h}$ para a testemunha a $8,97 \mu\text{L/Kg/h}$ para frutos inoculados com *P. caricae papayae*. Essas concentrações relativamente elevadas, quando comparadas às encontradas por Lam (1990), provavelmente são devidas às condições às quais os frutos foram submetidos, tais como elevada temperatura e infecção fúngica.

Neste trabalho não foi verificado um pico característico do etileno durante os dias de avaliação. Provavelmente as concentrações de etileno produzidas ou estimuladas pelos patógenos inoculados foram inferiores às aquelas eventualmente produzidas pelo fruto durante o período climatérico, possivelmente iniciado anteriormente ao período de inoculação. Em concordância com este trabalho, Jobin-Decor & O'Hare (1996), avaliando a produção de etileno e características respiratórias do mamão, armazenaram frutos colhidos verdes ou em início de amarelecimento e observaram que em temperaturas de $15\text{-}25^\circ\text{C}$, faixa em que foram conduzidos este trabalho, o pico do etileno também precedeu o pico respiratório. Além disso, a produção do

etileno e aumento da respiração foram proporcionais ao aumento da temperatura, numa média de 0,7 $\mu\text{L C}_2\text{H}_4/\text{Kg}$ e 12 mg CO_2/Kg a uma temperatura de 20 °C.

Quanto às concentrações de CO_2 , dados desta pesquisa mostram que, assim como o etileno, essas concentrações também foram elevadas tanto para a testemunha quanto para frutos inoculados. A testemunha apresentou média de 35,29 mL/Kg/h de CO_2 , e os frutos inoculados com *P. caricae papayae*, média de 45,98 mL/Kg/h de CO_2 (Tabela 22). Essas concentrações foram mais elevadas que as encontradas por Lam (1990), que verificou que os frutos apresentaram uma taxa respiratória de 4 ml de $\text{CO}_2/\text{Kg/h}$, quando foram mantidos a 5 °C, e de 10 ml de $\text{CO}_2/\text{Kg/h}$, quando armazenados a 10 e 15 °C. Além de estarem infectados artificialmente, os frutos utilizados neste ensaio foram mantidos em câmara com temperatura média de 25 °C, fatos que podem justificar as elevadas concentrações de etileno resultantes desta pesquisa.

Conforme revelado anteriormente, foi observado um pico de CO_2 para os frutos inoculados com *C. gloeosporioides* no terceiro dia de observação. Para frutos inoculados com *P. caricae papayae*, houve um aumento crescente da produção de CO_2 ; porém, não foi observado pico nos dias de coleta das amostras da atmosfera das cubas (Figura 10). Para os frutos inoculados com *F. solani* e a testemunha, não foi observado um aumento significativo da produção de CO_2 nas condições deste trabalho.

Diante desses resultados, pode-se sugerir que os frutos de mamão respondem rapidamente ao ataque de *C. gloeosporioides*, o que pode estimular o desencadeamento de uma série de processos metabólicos associados à produção e consumo de CO_2 , além de mecanismos de defesa.

O aumento da respiração, conforme relatado por Pascholati (1995), está ligado ao metabolismo geral da célula, especialmente ao metabolismo de carboidratos para a produção de energia. Em plantas doentes, a via glicolítica principal é desviada para a via das pentose-fosfato, havendo uma queda na

produção de energia. No entanto, essa via está associada à produção de compostos fenólicos, que têm participação ativa nos mecanismos de defesa. De acordo com Agrios (1988), plantas resistentes alteram rapidamente a respiração porque necessitam de energia para ativar os mecanismos de defesa.

TABELA 22- Evolução do CO₂ (mL/Kg/h) em mamões "Golden" inoculados com *C. gloeosporioides*, *P. caricae papayae* e *F. solani*. Lavras, UFLA, 2002.

Fungo	Tempo (dias)					Média
	0	1	2	3	4	
<i>C. gloeosporioides</i>	25.85 ¹ a	41.47 a	45.32 a	59.35 a	45.39 a	43,47
<i>P. caricae papayae</i>	38.41 ² a	41.05 a	45.94 a	52,25 a b	52,27 a	45,98
<i>F. solani</i>	37.09 a	44.68 a	36.76 a	43,19 a b	35.88 a	39,52
Testemunha	37,67 a	34,53 a	36,30 a	30,54 b	37,41 a	35,29
Médias	34,76	40,43	41,08	46,33	42,74	41,07

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0.05).

¹Efeito quadrático (P<0.05)

²Efeito linear (P<0.05)

Coefficiente de variação A: 56,29 %.

Coefficiente de variação B: 18,23 %

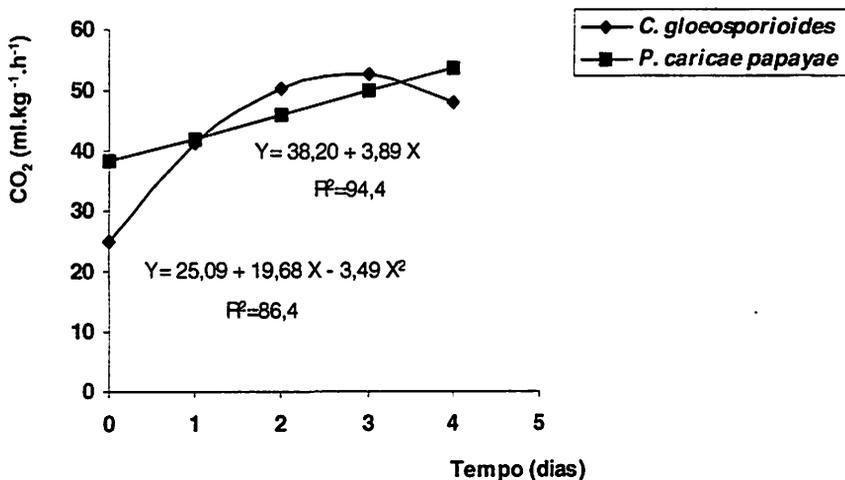


FIGURA 10 Produção de CO₂ em mamões "Golden" inoculados com *C. gloeosporioides* e *P. caricae papayae*. Lavras, UFLA, 2002.

5.2.2 Análises físicas e físico-químicas de frutos inoculados e armazenados

5.2.2.1 Perda de massa, firmeza e coloração

Para essas características, não foram registradas diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 23). Conforme já sugerido, a perda de massa pode ter sido insignificante em relação à massa total do fruto. Não foi detectada nenhuma diferença em relação às variáveis firmeza e coloração, possivelmente por causa das alterações decorrentes do processo de amadurecimento do próprio fruto.

5.2.2.2 Acidez total titulável (ATT) e pH

Foram observadas diferenças significativas entre os frutos inoculados com *C. gloeosporioides* e *P. caricae papayae* e a testemunha, e os frutos inoculados apresentaram valores mais baixos de acidez total titulável. Já o pH foi mais elevado para os frutos inoculados com esses patógenos (Tabela 23).

Conforme já referenciado no capítulo anterior, essa diminuição na acidez pode ser em função da utilização de ácidos orgânicos pelos patógenos no processo respiratório. Além disso, o aumento nas concentrações de etileno e CO₂, estimulados pelas inoculações, além das condições proporcionadas pelo sistema fechado, sugerem o desencadeamento de outros processos metabólicos no fruto, que também estaria utilizando esses compostos para reposição energética, o que contribuiu para a diminuição da acidez total titulável. Quanto ao pH, os frutos inoculados mostraram resultados semelhantes à acidez, confirmando a diminuição do teor de ácidos quando os patógenos encontravam-se presentes nos frutos.

Pelos resultados de acidez e pH, observa-se, de forma análoga ao que ocorreu com frutos inoculados no Ensaio 1, item 5.1.5, que o ácido cítrico pode exercer diferentes funções no metabolismo do fruto inoculado. Ressalta-se que esse composto pode ser consumido também pelos patógenos presentes no fruto, o que pode comprometer os mecanismos dos tecidos parasitados.

TABELA 23 Valores de perda de massa (Massa), acidez total titulável (ATT), sólidos solúveis totais (SST), relação SST/ATT, pH, firmeza inicial (FI) e final (FF), coloração inicial (Cor I), coloração final (Cor F) e virulência (nota) de mamões "Golden", inoculados com isolados de *C. gloeosporioides* (C), *P. caricae papayae* (P) e *F. solani* (F) e avaliados quanto à evolução de etileno e CO₂. Lavras, UFLA, 2002.

Fungo	Análises físico-químicas									
	Massa (%)	ATT (meq ác.cítr./Kg tecido fresco)	SST (%)	SST/ATT (%)	pH	FI (Kgfl/cm ²)	FF (Kgfl/cm ²)	Cor I	Cor F	Nota
C	1,76 a ¹	0,44 bc ¹	8,07 b ¹	187,45a ¹	7,07a ¹	1,00a ¹	0,47a ¹	0,62a ¹	1,04a ¹	4,56a ¹
P	1,65 a	0,32 c	7,95 b	263,76 a	7,26 a	1,28 a	0,54 a	0,44 a	1,04 a	4,50 a
F	1,59 a	1,51 ab	7,27 b	59,75 b	5,92 ab	0,89 a	0,64 a	0,84 a	1,04 a	3,37 b
Teste	1,27 a	1,85 a	10,80 a	63,85 b	4,93 b	1,22 a	0,61 a	0,48 a	1,04 a	1,27 c
CV ²	15,45	52,47	12,84	35,65	10,43	21,43	22,62	52,71	9,64	12,27

¹Médias seguidas de pelo menos de uma mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

² Coeficiente de variação.

5.2.2.3 Sólidos solúveis totais (SST) e relação SST:ATT

Os frutos inoculados com as três espécies fúngicas apresentaram valores inferiores e diferentes estatisticamente da testemunha para sólidos solúveis totais. Esses valores variaram de 7,27 a 8,07% para frutos inoculados e 10,80% para a testemunha. Para a relação SST:ATT, os frutos inoculados com *C. gloeosporioides* e *P. caricae papayae* foram diferentes da testemunha e com valores bem mais elevados, chegando a cerca de 264% (Tabela 23). Esses valores elevados são resultantes de valores muito baixos de acidez total titulável e de sólidos solúveis totais, o que pode ser um indicativo de senescência, pois os substratos podem ter sido quase totalmente consumidos pelos patógenos ou pelo próprio fruto no processo de patogênese. Diante disso, pode-se levantar a hipótese de que frutos atacados por patógenos agressivos podem apresentar uma relação muito elevada de SST/ATT, levando a alterações em atributos desejáveis relacionados à qualidade comestível. Além disso, como os frutos encontravam-se dentro de cubas, numa atmosfera mais restrita, pode ter havido um aumento na produção de compostos voláteis que interferiram nessa relação.

5.2.2.4 Virulência

Os maiores valores de notas de sintomas de infecção foram para frutos inoculados com *C. gloeosporioides* e *P. caricae papayae*, seguido de frutos inoculados com *F. solani*, que apresentaram notas significativamente inferiores à testemunha (Tabela 23). As maiores notas foram verificadas para *C. gloeosporioides*, que alcançou nota média de 4,56. As altas notas de lesão verificadas neste ensaio, comparadas às de um mesmo isolado no ensaio anterior, têm como causa as condições diferentes neste experimento, que foram provavelmente mais favoráveis ao desenvolvimento dos patógenos.

Com base nesses resultados e nas análises das avaliações químicas, como acidez total titulável e porcentagem de sólidos solúveis totais, nas

condições de sistema fechado, pode-se inferir que os isolados de *C. gloeosporioides* e *P. caricae papayae* são capazes de promover alterações nos componentes físico-químicos dos frutos, levando a uma redução na qualidade final do produto.

5.3 Ensaio 3: Desenvolvimento da podridão peduncular do mamão e atributos de qualidade do fruto tratado com 1-Metilciclopropeno

5.3.1 Sólidos solúveis totais (SST)

Para essa variável, foi observado que os frutos tratados com 1-MCP, assim como a testemunha, apresentaram uma redução nos valores de sólidos solúveis totais nos frutos inversamente proporcional ao tempo de armazenamento, e os frutos tratados com 1-MCP apresentaram-se estatisticamente diferentes da testemunha (Tabela 24 e Figura 11).

Ao final do período de armazenamento (tempo 6), foi observado que os mamões correspondentes à testemunha e aqueles tratados com 1-MCP apresentaram redução no teor de sólidos solúveis totais em níveis semelhantes. Tal redução está provavelmente relacionada com o consumo de açúcares solúveis no processo respiratório do fruto e/ou ao desenvolvimento de *C. gloeosporioides*, indicando uma provável exaustão das fontes de carboidratos dos frutos. No entanto, é interessante notar que os frutos correspondentes à testemunha apresentaram uma queda brusca nos teores de sólidos solúveis totais entre os tempos 3 e 6 de armazenamento, indicando um provável aumento na degradação de carboidratos pela possível aceleração do amadurecimento.

Os maiores valores de sólidos solúveis totais para os frutos da testemunha, em comparação com os frutos tratados com 1-MCP, podem estar relacionados com a degradação de amido, um polímero do monossacarídeo glicose, influenciando no aumento de açúcares desses frutos. O contrário,

observado para os frutos tratados com 1-MCP, pode ter sido em função do atraso no amadurecimento causado pela aplicação do produto.

TABELA 24 Valores de sólidos solúveis totais (%) dos tecidos do pedúnculo de mamões "Golden" tratados com 1-MCP e inoculados com *C. gloeosporioides*. Lavras, UFLA, 2002.

Tratamento	Tempo			Médias
	0	3	6	
Testemunha	9,50	7,77	3,77	7,01 a ¹
1- MCP	7,60	5,75	3,82	5,72 b
Média	8,55 ²	6,76	3,80	6,36

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste F (P>0,05).

²Efeito linear (P<0,05)

Coefficiente de variação: 19,90%

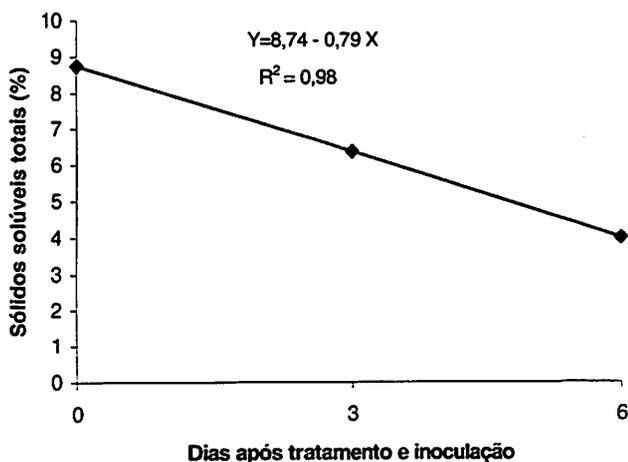


FIGURA 11 Porcentagem de sólidos solúveis totais dos tecidos do pedúnculo de mamões "Golden" correspondentes aos frutos tratados e não tratados com 1-MCP e inoculados com *C. gloeosporioides*. Lavras, UFLA, 2002.

5.3.2 Virulência

Foi observado um aumento diretamente proporcional para essa variável, com as notas de sintomas aumentando com o tempo de armazenamento (Figura 12). Os frutos avaliados no tempo 0 apresentaram valores médios de notas de 1,75, ao passo que no tempo 6, esses valores foram de 3,46. No entanto, não foram verificadas diferenças significativas entre essa variável para frutos tratados com 1-MCP e testemunha, no período avaliado (Tabela 25).

É válido lembrar que uma possível resistência dos frutos tratados com 1-MCP aos patógenos pode estar relacionada com o efeito direto do produto no retardamento dos processos de maturação, o que pode exercer um efeito indireto no desenvolvimento dos patógenos.

O desenvolvimento de *C. gloeosporioides* pode não ter sido restrito em função dos níveis do etileno, uma vez que o 1-MCP não inibe a síntese desse composto que, por sua vez, é estimulante para o desenvolvimento do referido patógeno. Esse fato tem sido demonstrado por Prusky (1996), Flaishman & Kollatukudy (1994).

TABELA 25 Valores de notas de sintomas de infecção de mamões "Golden" tratados com 1-MCP e inoculados com *C. gloeosporioides*. Lavras, UFLA, 2002.

Tratamento	Tempo			
	0	3	6	Médias
Testemunha	1.80	3.40	3.47	2.90 a ¹
1- MCP	1.70	3.35	3.45	2.83 a
Média	1.75 ²	3.38	3.46	2.86

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste F (P>0.05).

²Efeito linear (P<0.05)

Coefficiente de variação: 16,31%

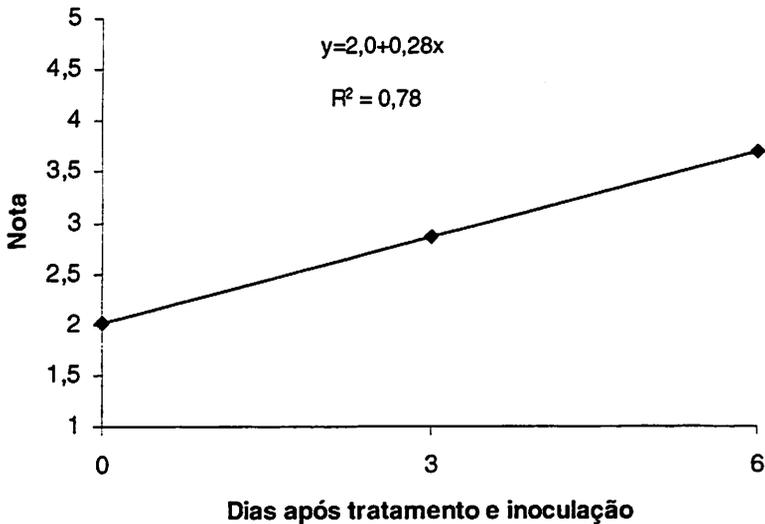


FIGURA 12 Valores de notas de sintomas de infecção de mamões "Golden" correspondentes aos frutos tratados e não tratados com 1-MCP e inoculados com *C. gloeosporioides*. Lavras, UFLA, 2002.

5.3.3 pH

Foi observado também um aumento diretamente proporcional do pH em função do tempo de armazenamento (Figura 13). No entanto, não foram verificadas diferenças significativas entre o pH dos frutos tratados com 1-MCP e a testemunha (sem tratamento) (Tabela 26). Nas condições deste ensaio e com base nos ensaios desenvolvidos anteriormente, admite-se que a presença do fungo pode ter exercido influência negativa na qualidade do fruto com relação à acidez. O aumento no pH pode estar associado com a degradação de compostos presentes no fruto durante os processos de maturação.

TABELA 26 Valores de pH dos tecidos do pedúnculo de mamões "Golden" tratados com 1-MCP e inoculados com *C. gloeosporioides*. Lavras, UFLA, 2002.

Tratamento	Tempo			Médias
	0	3	6	
Testemunha	5.31	7.16	8.16	6.89 a ¹
1- MCP	5.63	7.49	8.04	7.06 a
Média	5.47 ²	7.33	8.13	6.97

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste F (P>0.05).

²Efeito linear (P<0.05)

Coefficiente de variação: 4,58%

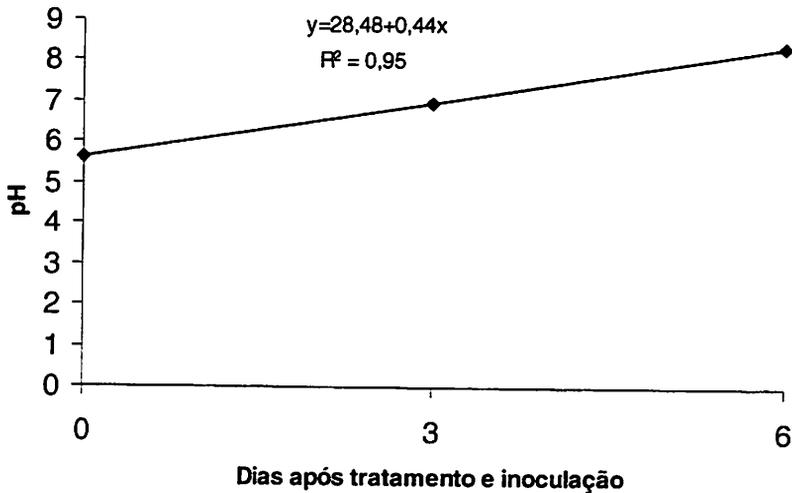


FIGURA 13 Valores de pH dos tecidos do pedúnculo de mamões "Golden" correspondentes aos frutos tratados e não tratados com 1-MCP e inoculados com *C. gloeosporioides*. Lavras, UFLA, 2002.

5.3.4 Coloração

Foi observado um aumento na coloração diretamente proporcional ao tempo de armazenamento, tanto para os frutos tratados com 1-MCP quanto para a testemunha (Figura 14). No entanto, os frutos tratados com 1-MCP apresentaram-se com menores valores de relação a^*/b^* que frutos não tratados (Tabela 27).

Essas diferenças na coloração dos frutos podem ser possivelmente em função do atraso no amadurecimento pelo tratamento com o 1-MCP. O desenvolvimento da coloração dos frutos ocorre pela degradação de pigmentos clorofílicos e concomitante síntese/revelação, principalmente de β -caroteno, em mamões. Durante o amadurecimento dos frutos e também pelo processo patogênico, a biossíntese e ação do etileno aceleram vários processos metabólicos, fazendo com que o fruto revele a sua coloração final alaranjada. Provavelmente, o 1-MCP, ao bloquear a ação do etileno nos frutos tratados, tenha retardado a degradação e/ou síntese de pigmentos nos frutos, mostrado pelos menores valores da relação a^*/b^* . É interessante notar que aos 3 dias de armazenamento, os frutos tratados com 1-MCP apresentaram uma tendência de redução nos valores da relação a^*/b^* em relação aos frutos correspondentes à testemunha, e aos 6 dias de armazenamento, esses valores já foram bem mais próximos. Possivelmente, nesse último tempo de armazenamento a ação do produto tenha chegado ao seu final, deixando os sítios de ligação do etileno livres para que o mesmo pudesse acelerar os processos de amadurecimento.

A relação matemática entre os valores a^* e b^* é comumente empregada em estudos fisiológicos e fitotécnicos para indicar o estágio de amadurecimento. Relações matemáticas maiores que zero indicam que o produto está com predominância de coloração de fruto amadurecido, e menores que zero indicam que o produto está com predominância de coloração imatura (Moretti, 2002). Mediante dados desta pesquisa, verifica-se que os frutos tratados e os frutos da

testemunha apresentaram valores maiores que zero no tempo 3 de armazenamento, inferindo-se que após 5 dias de tratamento e/ou inoculação, os frutos já se encontravam em estágio maturo. Relacionando esses dados com as notas de sintomas de infecção, nota-se que justamente neste estágio houve um aumento nas notas, evidenciando a preferência do patógeno por frutos mais amadurecidos.

TABELA 27 Valores de coloração (relação a*/b*) do pedúnculo de mamões "Golden" tratados com 1-MCP e inoculados com *C. gloeosporioides*. Lavras, UFLA, 2002.

Tratamento	Tempo			Médias
	0	3	6	
Testemunha	-0.05	0.26	0.35	2,32 a ¹
1- MCP	-0.13	0.09	0.34	2,31 b
Média	-0.09 ²	0.18	0.34	2,31

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste F (P>0,05).

²Efeito linear (P<0,05)

Coefficiente de variação: 0.32%

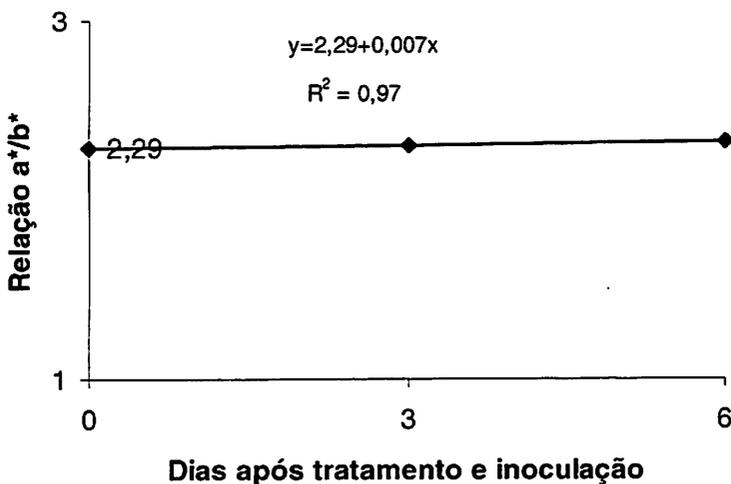


FIGURA 14 Coloração (relação a*/b*) do pedúnculo de mamões "Golden" correspondentes aos frutos tratados e não tratados com 1-MCP e inoculados com *C. gloeosporioides*. Lavras, UFLA, 2002.

5.3.5 Firmeza

Foi observado que os frutos tratados com 1-MCP apresentaram valores mais elevados em relação à firmeza. No início do experimento, após dois dias de tratamento e inoculação (tempo 0), os frutos tratados com 1-MCP apresentaram, em média, firmeza 40% superior à dos frutos da testemunha (Tabela 28). Provavelmente, ao competir com o etileno pelos sítios de ligação na célula, o 1-MCP atrasou o amadurecimento dos frutos, retardando o processo de amolecimento dos mamões tratados, resultando em frutos mais firmes.

Após 6 dias de armazenamento, houve uma redução de firmeza mais evidente para os frutos tratados com 1-MCP, o que pode estar relacionado a uma possível redução da ação do produto e aumento dos sítios de ligação do etileno.

TABELA 28 Valores de firmeza (Kgf/cm²) de mamões "Golden" tratados com 1-MCP e inoculados com *C. gloeosporioides*. Lavras, UFLA, 2002.

Tratamento	Tempo			
	0	3	6	Médias
Testemunha	0.57	0.57	0.55	0.57 b ¹
1- MCP	1.02	1.07	0.77	0.95 a
Média	0.81 ns	0.80 ns	0.67 ns	0.76

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste F (P>0.05).

Coefficiente de variação - 35.52%

Esses resultados estão em concordância com trabalhos de Ergun & Huber (2001), que utilizaram mamões na fase pré-climatérica e maduros da cultivar 'Sunrise Solo' tratados com 1-MCP e armazenados por 12 dias a 20 °C, e mostraram uma retenção na firmeza dos frutos tratados superior ao controle, e os frutos na fase pré-climatérica responderam melhor que os frutos maduros. Baseados em dados de firmeza, coloração e aspecto geral do fruto, esses autores concluem que o tratamento com 1-MCP aumentou a vida útil dos frutos de mamão por 2-3 dias a 20 °C.

5.3.6 Acidez total titulável (ATT)

Os frutos correspondentes à testemunha apresentaram valores mais elevados de acidez total titulável, em relação aos frutos tratados com 1-MCP e inoculados com *C. gloeosporioides*, diferenciando-se estatisticamente dos mesmos (Tabela 29). No tempo 0 houve interação significativa entre os frutos tratados com 1-MCP e a testemunha, e esta última foi estatisticamente superior aos frutos tratados com 1-MCP (Figura 15). Ao final do experimento (tempo 6), ou seja, após oito dias de tratamento com o produto, não foram observadas diferenças significativas na acidez total titulável.

A acidez total titulável é uma das variáveis de qualidade diretamente relacionadas com o sabor e aroma dos frutos. Em mamões, o ácido orgânico predominante é o cítrico, seguido do málico. O aumento da acidez nos frutos da testemunha, no tempo 0, pode estar relacionado à reposição energética, por causa do aumento na taxa de respiração desses frutos nesse estágio, que foi contrário nos frutos tratados com 1-MCP, em virtude de uma redução no amadurecimento.

TABELA 29 Valores de acidez total titulável (meq ácido cítrico/Kg de tecido fresco) dos tecidos do pedúnculo de mamões "Golden" tratados com 1-MCP e inoculados com *C. gloeosporioides*. Lavras, UFLA, 2002.

Tratamento	Tempo			Médias
	0	3	6	
Testemunha	3.03 a ^{1,2}	0.42 a ^{1,2}	0.34 a ^{1,2}	1.26 a
1- MCP	1.31 b	0.38 a	0.26 a	0.65 b
Média	2.17	0.40	0.30	0.95

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste F (P>0.05).

²Efeito linear (P<0,05)

Coefficiente de variação - 30.84%

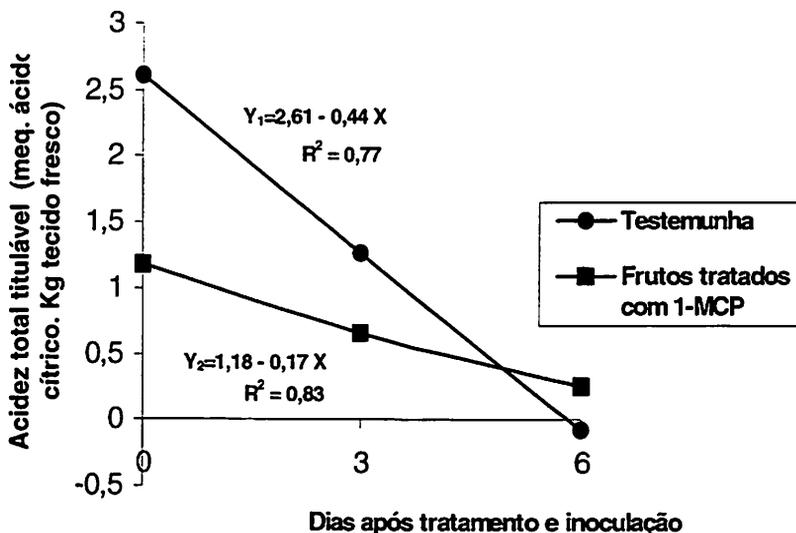


FIGURA 15 Acidez total titulável de tecidos do pedúnculo de mamões "Golden" tratados e não tratados com 1-MCP e inoculados com *C. gloeosporioides*. Lavras, UFLA, 2002.

5.3.7 Relação sólidos solúveis totais:acidez total titulável (SST/ATT)

Não foram verificadas diferenças significativas para a relação SST/ATT durante o armazenamento (Tabela 30). No entanto, houve interação significativa entre tempo e tratamento (Figura 16), com um acréscimo na relação no tempo 3 de armazenamento. A relação SST/ATT ligeiramente mais elevada para os frutos tratados com 1-MCP no tempo 3 de armazenamento pode ser decorrente do menor consumo de açúcares solúveis nos processos de amadurecimento, uma vez que o produto retardou o amadurecimento desses frutos.

TABELA 30 Valores da relação sólidos solúveis totais/acidez total titulável (SST/ATT) dos tecidos do pedúnculo de mamões "Golden" tratados com 1-MCP e inoculados com *C. gloeosporioides*. Lavras, UFLA, 2002.

Tratamento	Tempo			
	0	3	6	Médias
1- MCP	33.09	194.51	115.71	114,43 a ¹
Testemunha	57.72	153.78	145.58	119.03 a
Média	45,40 ²	174.15	130.65	116,73

¹Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste F (P>0.05).

²Efeito quadrático (P<0.05)

Coefficiente de variação - 25.96%

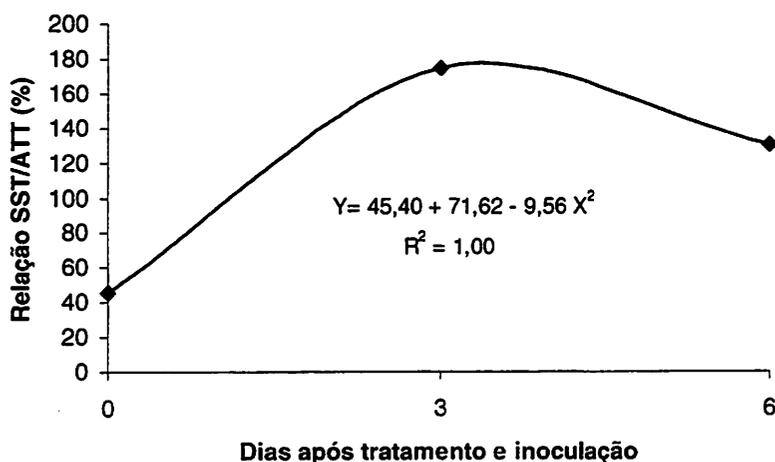


FIGURA 16 Relação sólidos solúveis totais/acidez total titulável de tecidos do pedúnculo de mamões "Golden" correspondentes aos frutos tratados e não tratados com 1-MCP e inoculados com *C. gloeosporioides*. Lavras, UFLA, 2002.

6 CONCLUSÕES

Foram observadas diferenças quanto à virulência entre as espécies e isolados da podridão peduncular do mamão.

Valores de atributos de qualidade e compostos indicadores de alterações no metabolismo dos frutos, como enzimas associadas à degradação de parede celular (PG e PME), açúcares, vitaminas C, entre outros, foram variáveis, não somente entre as espécies fúngicas causadoras da podridão peduncular, como entre isolados desses fungos.

Colletotrichum gloeosporioides, seguido de *Phoma caricae papayae*, foram os organismos que mais afetaram o metabolismo dos frutos em termos de parasitismo.

Em relação à produção de etileno e CO₂ em frutos inoculados, houve uma grande variação entre as espécies fúngicas estudadas.

O tratamento dos mamões com 1-Metilciclopropeno, em níveis de até 500 ppm avaliado no período de 8 dias, não foi capaz de reduzir o desenvolvimento da podridão peduncular causada por *Colletotrichum gloeosporioides*; porém, assegurou uma melhor qualidade dos frutos em relação a alguns atributos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A podridão peduncular do mamão está associada a diversos patógenos que atuam em conjunto, afetando diretamente o metabolismo dos frutos na pós-colheita e, assim, comprometendo negativamente o valor comercial dos produtos. Estudos envolvendo os agentes causais da podridão peduncular do mamão voltados para as suas formas de parasitismo, as alterações e a resistência dos tecidos do fruto decorrentes da atuação desses microrganismos, entre outras informações, são aspectos fundamentais para o melhor entendimento dessa complexa doença.

Nesta pesquisa ficou evidenciado que *C. gloeosporioides* é o agente mais danoso nas condições estudadas, sendo, portanto, o mais comum no Brasil. Dessa forma, investigações envolvendo a diagnose desses agentes são essenciais, levando em consideração, principalmente, a variabilidade da espécie. Com base neste estudo, foi observado que, pelas variações das características morfoculturais, como coloração e aspecto de colônia, diversidade genética e aspectos fisiológicos, fica comprovado a alta variabilidade de *C. gloeosporioides* e dos demais fungos causadores da podridão peduncular do mamão, questionando a tradicional identificação apenas por meio da forma e tamanho de estruturas fúngicas.

Futuros trabalhos envolvendo a análise de compostos específicos constituintes da parede celular, além de estudos histoquímicos, são interessantes, pois os resultados podem refletir melhor a diversidade dos fungos e a sua verdadeira atuação na degradação da parede celular.

Pesquisas envolvendo a caracterização de compostos inibidores de poligalacturonase e a produção de glicoproteínas ricas em hidroxiprolinas são

relevantes, uma vez que esses compostos estão possivelmente associados à defesa das plantas no processo patogênico.

O desenvolvimento de um programa efetivo de controle dessa doença, visando à diminuição das perdas, melhoria da qualidade, queda nos custos de produção e conseqüente aumento da disponibilidade de frutos comercializáveis, torna-se fundamental, uma vez que frutos com sintomas da podridão peduncular em níveis avançados, como acontece muitas vezes no mercado, apresentam qualidade nutricional inferior aos frutos sadios, comprometendo as quantidades vitamínicas desejadas pelo consumidor final.

Para efeito de exportação e comércio internacional, o desenvolvimento de técnicas moleculares com precisão, para a diagnose e identificação de possíveis patógenos associados aos frutos previamente à exportação, torna-se imprescindível quando se visa à conquista e ampliação de mercados pelos produtores brasileiros.

Do ponto de vista do controle da doença, que vai além do manejo fitossanitário, das técnicas adequadas de produção e da diagnose preventiva, a possibilidade do uso de 1-MCP torna-se uma realidade, uma vez que esse composto é promissor, pois transparece potencial de controle indireto de patógenos, através do retardamento do amadurecimento dos frutos; além de apresentar a grande vantagem de ser atóxico à saúde humana.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELES, F. B.; MORGAN, P. W.; SALTVEIT Jr., M. E. **Ethylene in Plant Biology**. San Diego: Academic Press, 1992. 414p.

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. New York: Academic Press, 1988. 803p.

ALBERSHEIM, P.; ANDERSON-PROUTY, A. Carbohydrates, proteins, cell surfaces, and the biochemistry of pathogenesis. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 26, p. 31-52, 1975.

ARRIOLA, M. C. de; CALZADA, J. F. de; MENCHU, J. F.; ROLZ, C.; GARCIA, R.; CABRERA, S. de. Papaya. In: NAGY, S. **Tropical and subtropical fruits**. Westport: AVI, 1980. p.316-340.

ARRIOLA, M. C. de; MENCHÚ, J. F.; ROLZ, C. **Caracterizacion, manejo y almaciamiento de papaya**. Guatemala: ICAITI - Divisio de Invetigacion Aplicada, 1976. 41p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of Association of Official Analitical Chemistry**. 12. ed. Washington, 1992. 2v.

BAK, S.; NIELSEN, H. L.; HALKIER, B. A. The presence of CYP79 homologues in glucosinolate-producing plants shows evolutionary conservation of the enzymes in the conversion of amino acid to aldoxime in the biosynthesis of cyanogenic glucosides and glucosinolates. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 38, n. 5, p. 725-734, Nov. 1998.

BALDWIN, E. A.; NISPIEROS-CARRIEDO, M. O.; SCOTT, J. W. Levels of flavor volatiles in a normal cultivar, ripening inhibitor and their hybrid. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Miami, v. 104, p. 86-89, 1991.

BICALHO, U. de O. **Vida útil pós-colheita de mamão submetido a tratamento com cálcio e filme de PVC**. 1998. 145p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

- BLEINROTH, E. W. In: **Mamão para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita** (GAYET, J. P.; BLEINROTH, E. W.; MATALLO, M.; GARCIA, E. E. C.; GARCIA, A. E.; ARDITO, E. F. G. e BORDIN, M. R.) Brasília: EMBRAPA - FRUPEX, 1995. 38p.
- BOOTH, R. H.; BURDEN, O. J. Post-harvest losses. In: Johnston, A.; Booth, C. (Ed). **Planet Pathologist's Packetbook**. CMI, 1983. p.144-160.
- BRETT, C.; WALDRON, K. **Physiology and biochemistry of plant cell wall**. London: Unwin Hyman, 1990. 194p.
- BROWN, G. E. Factors affecting post-harvest development of *Colletotrichum gloeosporioides* in citrus fruits. **Phytopathology**, St. Paul, v. 65, n. 3, p. 404-409, Mar. 1975.
- BROWN, G. E.; BURNS, J. K. Factors affecting susceptibility of ethylene-degreened oranges to Diplodia stem-end rot. **Phytopathology**, St. Paul, v. 85, n. 10, p. 1123, 1995. Abstracts.
- CALBO, A. G.; NERY, A. A. Medida de firmeza em hortaliças pela técnica de aplanção. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 1, p. 14-18, maio 1995.
- CHALFOUN, S. M.; LIMA, R. D. de. Doenças causadas por fungos e nematóides em mamoeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 12, n. 134, p. 40-44, fev. 1986.
- CHAN Jr. , H. T.; HIBBARD, K. L.; GOO, T.; AKAMINE, E. K. Sugar composition of papayas during fruit development. **HortScience**, Alexandria, v. 14, n. 2, p. 140-141, Apr. 1979.
- CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: FAEPE/ESAL, 1990. 320p.
- COLLMER, A.; KEEN, N. T. The role of pectic enzymes in plant pathogenesis. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 24, p. 383-409, 1986.
- DENNIS, C. Salad crops. In: DENNIS, C. **Postharvest pathology of fruits and vegetables**. New York: Academic Press, 1983. p.157-176.
- DIANESE, J. C. **Patologia vegetal: agressão e defesa em sistemas planta-patógeno**. Brasília: Universidade de Brasília, 1990. 139p.

DICKMAN, M. B.; PATIL, S. S. Cutinase deficient mutants of *Colletotrichum gloeosporioides* are nonpathogenic to papaya fruit. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 28, n. 2 p. 235-242, Mar. 1986.

DICKMAN, M. B.; PATIL, S. S.; KOLATTUKUDY, P. E. Purification, characterization and role in infection of an extracellular cutinolytic enzyme from *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. on *Carica papaya* L. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 20, n. 3, p. 333-347, 1982.

DIGBY, S.; WEIDEMANN, G. J. SDS PAGE as a means of identifying diversity in *Colletotrichum gloeosporioides*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 81, p. 1191, 1991. Abstracts.

DISCHE, E. Color reactions of carbohydrates. In: WHISTLER, R. L.; WOLFRAM, M. L. (Ed.). **Methods in carbohydrates chemistry**. New York: Academic Press, 1962. v. 1, p.477-512.

DURIGAN, J. F. Uso da modificação da atmosfera no controle de doenças. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 25, n. 1, p. 82-83, jan./mar. 1999.

ECHEVERRI, F.; TORRES, F.; QUINONES, W.; CARDONA, G.; ARCHBOLD, R.; ROLDAN, J; BRITO, I.; LUIS, J. G.; LAHLOU, EL-HASSANE. Danielone, a phytoalexin from papaya fruit. **Phytochemistry**, Oxford, v. 44, n. 2, p. 255-256, Jan. 1997.

GROSS, J. Carotenoids. In: GROSS, J. (Ed.). **Pigments in vegetables: Chlorophylls and Carotenoids**. New York: AVI Publishing, 1991. p.75-128.

HONÓRIO, S. L.; ROCHA, J. L. V. Armazenagem e conservação de mamão (*Carica papaya* L.) cv. Solo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MAMOEIRO, 1988, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FCAV/UNESP, 1988. p.293-310.

JEN, J. J.; ROBINSON, M. L. P. Pectinolytic enzymes in sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). **Journal of Food Science**, Chicago, v. 49, n. 2, p. 1085-1087, Mar/Apr. 1984.

JEFFRIES, P.; DODD, J. C.; JEGER, M. J.; PLUMBLEY, R. A. The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruit crops. **Plant Pathology**, Edinburg, v. 39, n. 3, p. 343-366, Sept. 1990.

JOBIN-DECOR, M. P.; O' HARE, T. J. Ethylene production and respiratory characteristics of pawpaw. In: AUSTRALASIAN POSTHARVEST HORTICULTURE CONFERENCE 'SCIENCE AND TECHNOLOGY FOR THE FRESH FOOD REVOLUTION', 1996, Melbourne, Australia. **Proceedings...** Melbourne, Austrália, 1996. p.63-66.

KADER, A. A. Postharvest Biology and Technology: An Overview. In: KADER, A. A. (Ed.). **Postharvest technology of horticultural crops**. Oakland, California: University of California, 1992. 296p.

KAUFMANN, P. J. ; WEIDEMANN, G. J. Isozyme analysis of *Colletotrichum gloeosporioides* from five host genera. **Plant Disease**, St. Paul, v. 80, n. 11, p. 1289-1293, Nov.1996.

LAFITTE, C.; BARTHE, J. P.; MONTILLET, J. L.; TOUZE. A. Glycoprotein inhibitors of *Colletotrichum lindemuthianum* endopolygalacturonase in near isogenic lines of Phaseolus vulgaris resistant and susceptible to anthracnose. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 25, n. 1, p. 39-53, 1984.

LAM, P. F. Respiration rate, ethylene production and skin colour change of papaya at different temperatures. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, n. 269, p. 257-266, 1990.

LATUNDE-DADA, A. O. *Colletotrichum*: tales of forcible entry, stealth, transient confinement and breakout. **Molecular Plant-Pathology**, Oxford, v. 2, n. 4, p. 187-198, July 2001.

LAZAN, H.; SELAMAT, M. S.; ALI, Z. M. β -Galactosidase, polygalacturonase and pectinametilsterase in differential softening and cell wall modification during papaya fruit ripening. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 95, n. 1, p. 106-112, Sept. 1995.

LE CAM, B.; LEBRETON, L.; MASSIOT, P.; ROUXEL, F. Production of cell-wall polysaccharide degrading enzymes in carrot root tissues infected by *Mycocentrospora acerina*. **Plant Pathology**, Edinburg, v. 46, n. 2, p. 276-281, Apr. 1997.

LEITE, B.; PASCHOLATI, S. F. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p.393-414.

LOURENÇO, E. J.; CATUANI, A. T. Purification and properties of pectinesterase from papaya. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 35, n.10, p. 1120-1127, Oct. 1984.

MATTOO, A. K.; SUTTLE, J. C. **The Plant Hormone Ethylene**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1991. 337p.

McCREADY, R. M.; McCOMB, E. A. Extraction and determination of total pectic materials in fruits. **Analytical Chemistry**, New York, v. 24, n. 12, p. 1986-1988, 1952.

MORAES, W. B. C. Indução de resistência em plantas contra fitopatógenos. In: BETTIOL, W. (Ed.). **Controle biológico de doenças de plantas**. EMBRAPA/CNPDA, 1991. p.157-180.

MORETTI, C. L. **Avaliação da utilização de 1-metilciclopropeno (1-MCP) no controle do amadurecimento de tomates**. Brasília: EMBRAPA-HORTALIÇAS, 2002.

MORETTI, C. L. **Injúria interna de impacto em frutos de tomate: fisiologia e conservação pós-colheita**. 1998. 102p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

MORETTI, C. L.; CALBO, A. G.; HENZ, G. P. Metabolismo respiratório na pós-colheita de frutas e hortaliças. **Universa**, Brasília, v. 8, n. 1, p. 259-274, mar. 2000.

NELSON, N. A photometric adaptation of Somogy method for determination of glicose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 135, n. 1, p. 136-175, Jan. 1944.

PRESSEY, R.; AVANTS, J. K. Separation and characterization of endopolygalacturonase e exopolygalacturonase from peaches. **Plant Physiology**, Washington, v. 52,n. 3, p. 252-256, Sept. 1973.

PRUSKY, D. Pathogen quiescence in postharvest diseases. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 34, p. 413-434, 1996.

QUIMIO, T. H.; QUIMIO, A. J. Notes of Philippine grape and guava anthracnose. **Plant Disease Reporter**, St.Paul, v. 59, n. 3, p. 221-224, Mar. 1975.

RESENDE, M. L. V. de; MACHADO, J. da C. **Manejo de doenças em pós-colheita de produtos vegetais**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 180p. Curso de Pós-Graduação "Lato Sensu" Especialização a Distância.

ROIG, M. G.; RIVERA, Z. S.; KENNEDY, J. F. L-ascorbic acid: na overview. **International Journal of Food Science and Nutrition**, Hants, v. 44, n. 1, p. 59-72, May 1993.

SAXENA, A. K.; SAKSENA, S. B. Effect of papaya latex on the germination of certain fungi. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v. 34, n. 4, p. 505-506, Dec. 1981.

SEREK, M.; SISLER, E. C.; REID, M. S. Effects of 1-MCP on the vase life and ethylene response on cut flowers. **Plant Growth Regulator**, Dordrecht, v. 16, n. 1, p. 93-97, Jan. 1995.

STABY, G. **A new tool in the battle against ethylene**. New York: Link Magazine, 1997. p.50-52.

SILVA, F. A. N. **Aspectos patogênicos e controle químico da podridão peduncular de mamão (*Carica papaya* L.)**. 1999. 62p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

STROHECKER, R. L.; HENNING, H. M. **Analisis de vitaminas: metodos comprobados**. Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428p.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA- UFV. **Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas- SAEG: versão7. 0. - manual do usuário**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, , 1997. 150p.

WILLS, R. B. H.; WIDJANARKO, S. B. Changes in physiology, composition and sensory characteristic of australian papaya during ripening. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v. 35, n. 5, p. 1173-1176, 1995.

WILLS, R.; McGLASSON, B.; GRAHAM, D.; JOYCE, D. **Postharvest - An introduction to the physiology & handling of fruit, vegetables & ornamentals**. 4. ed. Adelaide, South Australia: Hyde Park Press, 1998. 262p.

