



BRUNO FERREIRA DE OLIVEIRA

**PELÍCULA DE AMIDO DE MANDIOCA,
ASSOCIADA OU NÃO, A ÓLEOS ESSENCIAIS
NO CONTROLE PÓS-COLHEITA DA
ANTRACNOSE EM MAMÃO**

LAVRAS – MG

2013

BRUNO FERREIRA DE OLIVEIRA

**PELÍCULA DE AMIDO DE MANDIOCA, ASSOCIADA OU NÃO, A
ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE PÓS-COLHEITA DA
ANTRACNOSE EM MAMÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título Mestre.

Orientador
Dr. Eduardo Alves

LAVRAS – MG

2013

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Oliveira, Bruno Ferreira de.

Película de amido de mandioca, associada ou não, a óleos essenciais no controle pós-colheita da antracnose em mamão / Bruno Ferreira de Oliveira. – Lavras : UFLA, 2013.

92 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

Orientador: Eduardo Alves.

Bibliografia.

1. *Colletotrichum gloeosporioides*. 2. Patologia pós-colheita. 3. *Carica papaya*. 4. Fruto tropical. 5. Biopolímero. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 632.44

BRUNO FERREIRA DE OLIVEIRA

**PELÍCULA DE AMIDO DE MANDIOCA, ASSOCIADA OU NÃO, A
ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE PÓS-COLHEITA DA
ANTRACNOSE EM MAMÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título Mestre.

APROVADA em 28 de fevereiro de 2013.

Dr. Mário Sobral de Abreu UFLA

Dra. Joelma Pereira UFLA

Dr. Eduardo Alves
Orientador

LAVRAS – MG

2013

Aos meus pais, Sinaldo Bento de Oliveira e Eronilde dos Santos Ferreira de Oliveira, pelo carinho, incentivo e esforços para que eu chegasse até essa etapa da minha vida;

Às minhas irmãs, Bruna e Brunela, que estão presentes em todas as etapas da minha vida ajudando direta e indiretamente nas minhas decisões

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade concedida para realização do mestrado;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo;

À FAPEMIG, pelo apoio financeiro (projeto CAG - PPM-00308-11);

Ao professor Eduardo Alves, pela orientação e apoio;

À Dra. Stela Dalva Vieira Midlej Silva, pelo apoio e incentivo constantes;

Aos professores do Departamento de Fitopatologia UFLA, pelos ensinamentos transmitidos e harmoniosa convivência;

A todos os amigos da Pós-Graduação e Graduação dos Departamentos de Fitopatologia, Fitotecnia, Microbiologia, Ciência do Solo e Química pelos serviços prestados e incentivos.

RESUMO GERAL

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de aprimorar metodologia eficiente de inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides* e avaliar o potencial uso da película de amido de mandioca, associada ou não a fungicida ou óleos essenciais, no controle da maturação e da antracnose em mamão pós-colheita. Na busca de um método eficiente de inoculação do fungo, o estágio de maturação mais avançado (3), facilita, em utilizando o método 1 (ferimento com cinco furos com uma agulha de metal de 1mm de diâmetro), a reprodução mais rápida e uniforme dos sintomas de antracnose. Na avaliação das concentrações de amido de mandioca a 1%, 2%, 3% e 4% para formação de película no mamão, todas as películas nessas concentrações de amido de mandioca controlaram a maturação e a incidência de antracnose, sendo de 100% o controle para as concentrações acima de 2%. Para a avaliação da película de amido de mandioca, associada a fungicida e óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Cymbopogon citratus* (capim limão), *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia), *Cymbopogon martinii* (palmarosa) e *Thymus vulgaris* (tomilho), foi utilizado o fungicida thiabendazol em mamões inoculados com *C. gloeosporioides* como controle positivo e frutos apenas inoculados com *C. gloeosporioides* como controle negativo. Nesse experimento ficou comprovada a eficiência da película de amido de mandioca a 3%, sendo que, por si só controlou a maturação e a incidência de antracnose. A película de amido de mandioca a 3% associada aos óleos essenciais ou fungicida potencializa ainda mais sua eficiência no controle da antracnose.

Palavras-chave: *Colletotrichum gloeosporioides*. Patologia pós-colheita. *Carica papaya*.

GENERAL ABSTRACT

The present study was conducted in order to improve a method of inoculation of *Colletotrichum gloeosporioides* and evaluate the use potential of cassava starch film, with or without fungicide or essential oils in the control of maturation and anthracnose in post harvesting of papaya fruits. In the search for an efficient method of inoculation of the fungus, the most advanced stage of maturation (3), it was the best, when using the method 1 (wound with five holes with a metal needle of 1mm diameter), playing faster and uniform symptoms of anthracnose. In assessing concentrations of cassava starch at 1%, 2%, 3% and 4% for film formation in papaya fruits, all these films concentrations of cassava starch controlled ripening and incidence of anthracnose, however, the control it was of 100% to concentration of 2% or higher. For the evaluation of cassava starch film, associated with fungicide and essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (cinnamon), *Cymbopogon citratus* (lemon grass), *Syzygium aromaticum* (clove), *Cymbopogon martinii* (palmarosa) or *Thymus vulgaris* (thyme), was used the fungicide thiabendazole it was as positive control and only fruit inoculated with *C. gloeosporioides* as a negative control. In this experiment it was proved the efficiency of cassava starch film at 3%, whereas, by itself controlled ripening and incidence of anthracnose. The cassava starch film at 3% associated with essential oils or fungicide further enhances its efficiency in controlling anthracnose.

Keywords: *Colletotrichum gloeosporioides*. Postharvest healthy. *Carica papaya*.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

- Figura 1 Fotografia de mamão ‘Sunrise Solo’ em estágio 3 de maturação: a) inoculado com *Colletotrichum gloeosporioides* por 3 métodos (i) e água estéril (controle – c); b) detalhes dos ferimentos para inoculação; c) métodos de inoculação testados 40
- Figura 2 Fotografia de mamões inoculados com *Colletotrichum gloeosporioides* após sete dias de inoculação em diferentes estádios de maturação: a) estágio 1; b) estágio 2; c) estágio 3 e mostrando os sintomas da antracnose em b e c 43

CAPÍTULO 3

- Figura 1 Fotografia de uma lesão de antracnose em mamão controle aos quatro dias de inoculado 60
- Figura 2 Fotografia de frutos de mamoeiro inoculados e revestidos com película à base de amido de mandioca nas concentrações 1%, 2%, 3% e 4% mais o controle aos 14 dias de experimento 64
- Figura 3 Fotoesteriomicrografias mostrando detalhes da textura do epicarpo de mamões revestidos com película à base de amido de mandioca nas concentrações 1%, 2%, 3% e 4% 64
- Figura 4 Fotografias de corte longitudinal dos frutos de mamoeiro após 12 dias de revestimento: a) fruto controle (apenas inoculado com *Colletotrichum gloeosporioides*) e b) fruto revestido com película à base de amido de mandioca a 3% 65
- Figura 5 Fotografia de frutos de mamoeiro banhados com iodo 2% para avaliação da uniformidade da distribuição da película de amido de mandioca sobre o fruto 67

CAPÍTULO 4

Figura 1	Fotografias de lesões de antracnose em mamão aos quatro dias de inoculado com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> : a) detalhe da doença e b) visão geral do fruto	83
----------	--	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1	Incidência de antracnose em relação aos métodos de inoculação em três estádios de maturação do mamão	45
----------	--	----

CAPÍTULO 3

Tabela 1	Porcentagem de material (amido de mandioca) existente em cada faixa de granulometria.....	59
Tabela 2	Incidência de antracnose em mamões apenas inoculados com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (controle) e revestidos com película à base de amido de mandioca a 1%, 2%, 3% e 4% durante avaliações realizadas em onze dias.....	61

CAPÍTULO 4

Tabela 1	Óleos essenciais (OE) selecionados mediante potencial de inibição ao <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ‘in vitro’	76
Tabela 2	Incidência de antracnose em mamões: apenas inoculado com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> – controle (+), tratado com fungicida thiabendazol – controle (f), apenas revestido com película a base de amido – controle (a) e revestidos com película à base de amido de mandioca associados a fungicida thiabendazol e óleos essenciais de canela, capim limão, cravo-da-índia, palmarosa e tomilho	84

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 Introdução Geral.....	14
1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1 Origem e classificação botânica do mamoeiro (<i>Caricapapaya</i> L.).....	17
2.2 Cultura e principais cultivares de mamoeiro	18
2.3 Importância econômica do mamão.....	19
2.4 A antracnose	20
2.5 Etiologia do <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	21
2.6 Sintomatologia causada por <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> em mamão	22
2.7 Métodos de controle para antracnose em mamão.....	23
REFERÊNCIAS	28
CAPÍTULO 2 Aprimoramento de metodologia de inoculação de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> em mamão com diferentes estádios de maturação	32
1 INTRODUÇÃO.....	34
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
2.1 Local de condução do experimento	36
2.2 Isolamento de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	36
2.3 Verificação da patogenicidade do isolado <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	37
2.4 Cultura monospórica e incorporação de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> à Coleção Micológica de Lavras, DFP-UFLA	38
2.5 Obtenção e preparo dos frutos de mamoeiro (<i>Caricapapaya</i> L.) para inoculação	38
2.6 Preparo do inóculo	39
2.7 Inoculação	40
2.8 Delineamento experimental.....	41
2.9 Avaliação.....	42
2.10 Análise estatística	42
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4 CONCLUSÕES	47
REFERÊNCIAS	48

	CAPÍTULO 3 Amido de mandioca, em diferentes concentrações, no controle pós-colheita da antracnose em mamão.....	50
1	INTRODUÇÃO.....	52
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	54
2.1	Local de condução dos trabalhos.....	54
2.2	Obtenção, homogeneização e teste de granulometria dos lotes do amido de mandioca.....	54
2.3	Obtenção e preparo dos frutos de mamoeiro (<i>Carica papaya</i> L.) para revestimento de película.....	55
2.4	Preparo do inóculo.....	56
2.5	Inoculação dos mamões.....	56
2.6	Preparo de diferentes concentrações de gel à base de amido de mandioca para revestimento dos mamões.....	57
2.7	Revestimento dos mamões.....	57
2.8	Delineamento Experimental.....	58
2.9	Avaliação.....	58
2.10	Análise estatística.....	58
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
3.1	Granulometria das amostras de amido de mandioca.....	59
3.2	Porcentagem de incidência.....	60
3.3	Controle da maturação.....	62
3.4	Teste do iodo 2%.....	65
4	CONCLUSÃO.....	68
	REFERÊNCIAS.....	69
	CAPÍTULO 4 Potencial uso de película à base de amido de mandioca, associada ou não a fungicida e óleos essenciais, no controle pós-colheita da antracnose em mamão.....	71
1	INTRODUÇÃO.....	73
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	76
2.1	Local de condução dos trabalhos.....	76
2.2	Seleção e obtenção dos óleos essenciais (OE).....	76
2.3	Obtenção do fungicida.....	77
2.4	Obtenção e preparo dos frutos de mamoeiro (<i>Caricapapaya</i> L.) para revestimento de película.....	77
2.5	Preparo do inóculo.....	77
2.6	Inoculação nos mamões.....	78

2.7	Preparo do gel à base de amido de mandioca a 3% para revestimento dos mamões	78
2.8	Incorporação dos óleos essenciais e fungicida ao gel para revestimento dos mamões	79
2.9	Revestimento dos mamões	79
2.10	Delineamento Experimental	80
2.11	Avaliação	80
2.12	Análise estatística	81
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	82
4	CONCLUSÕES	87
	REFERÊNCIAS	88
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	91

CAPÍTULO 1 Introdução Geral

1 INTRODUÇÃO

As frutas sempre fizeram parte da dieta humana, servindo como complemento alimentar de fundamental importância, pois o seu consumo adequado ajuda a regular o organismo e protegê-lo de várias infecções. O consumo diário de fruta é essencial para se ter uma vida ativa e saudável. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) o consumo recomendado é de 400 g/dia no mínimo.

Os aspectos funcionais e/ou nutracêuticos são fatores que contribuem para a elevação do consumo e, conseqüentemente, para o aumento das áreas plantadas de diversas frutas, inclusive frutas nativas das mais diferentes regiões do Brasil.

Uma das frutas nativas da Amazônia que se destaca pelo seu alto consumo é o mamão (*Carica papaya* L.), e isso se deve as suas características sensoriais, nutricionais (fonte dietética de sais minerais, vitaminas e fibras) e propriedades funcionais (digestiva e laxativa).

No Brasil, a cultura do mamão apresenta crescimento significativo e o grande desafio é produzir com qualidade, sem infringir os planos de políticas públicas que garantam a segurança de alimentos. E para atender a essas exigências, o Brasil precisa combater, de forma sustentável, as doenças em mamão causadas, principalmente, por fungos que são responsáveis por consideráveis perdas na pós-colheita. O mamão, por possuir padrão respiratório climatérico, caracteriza-se por ser altamente perecível em temperatura ambiente, sendo que, em qualquer grau de maturação requer cuidados especiais por ser suscetível a danos mecânicos, além das injúrias poder servir como porta de entrada para diversos patógenos.

Das várias doenças fúngicas que atacam o mamão, a antracnose, causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, é a principal responsável por essas perdas. Devido a isso, vários métodos para a inibição do desenvolvimento deste fungo são recomendados e o mais comum é o uso de fungicidas sintéticos que, comparado aos outros métodos, é relativamente fácil. Embora considerado vilão, o controle químico frequentemente propicia resultados efetivos, porém, a não observância de dosagens, o desrespeito ao período de carência e o uso de princípios ativos não registrados para a cultura oferecem risco a saúde humana e danos irreparáveis ao ambiente.

Compostos orgânicos naturais, como extratos, decoctos e óleos essenciais, extraídos de plantas constituem em alternativa viável e desejável para inibição do desenvolvimento de *C. gloeosporioides* por causa de suas propriedades fungitóxicas, atacando diretamente o patógeno.

Por outro lado, estudos feitos com películas biodegradáveis mostraram que as características físico-químicas do mamão são mantidas devido ao retardo no processo de maturação dificultando a contaminação por microrganismo, atingindo-os de forma indireta. Películas à base de amido por serem abundantes e possuírem baixo custo, também podem servir como alternativa para diminuir o impacto negativo causado pelas embalagens de polímeros sintéticos.

Os relatos sobre a eficiência de películas biodegradáveis na conservação de frutas e hortaliças durante o processo de maturação, e, de fungicidas e óleos essenciais no controle de fitopatógenos, fundamentaram a seguinte hipótese: caso o uso de película à base de amido de mandioca, associada ou não a fungicida e óleos essenciais, sejam eficientes na inibição do desenvolvimento de *C.gloeosporioides* e no retardo no processo de maturação em frutos de mamoeiro, constituirão um método potencial para prolongar a vida útil do fruto conservando as características físico-químicas e mantendo-o livre de antracnose.

A infecção causada por *C. gloeosporioides* comumente inicia-se em campo nos frutos ainda imaturos, no entanto, a sua agressividade aumenta quando o fruto começa a amadurecer e, por consequência, os sintomas aparecem, sendo responsável por perdas durante as etapas de transporte, embalagem e comercialização, evidenciando a importância deste trabalho com o objetivo geral de avaliar o potencial uso da película à base de amido de mandioca, combinada ou não a fungicida ou óleos essenciais, no controle da antracnose em mamão pós-colheita. Considerando o exposto os objetivos específicos deste estudo foram:

- a) aprimorar metodologia de inoculação de *C. gloeosporioides* em mamão;
- b) avaliar película à base de amido de mandioca, aplicada em mamões, no retardo da maturação;
- c) avaliar a película à base de amido de mandioca, aplicada em mamões, no controle da antracnose;
- d) avaliar o efeito integrado da película à base de amido de mandioca com óleos essenciais sobre a infecção de *C. gloeosporioides* em frutos de mamoeiro;
- e) avaliar o efeito integrado da película à base de amido de mandioca com fungicida thiabendazol sobre a infecção de *C. gloeosporioides* em frutos de mamoeiro.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Origem e classificação botânica do mamoeiro (*Caricapapaya* L.)

Em 1535 Ovideo, em carta dirigida ao rei da Espanha, mencionou pela primeira vez a existência de mamoeiro na América Central (SIMÃO, 1998). Avistada por espanhóis no Panamá na época das grandes navegações (OLIVEIRA et al., 1994), a planta era conhecida, até então, apenas por ameríndios.

O mamoeiro é uma Dicotiledônea que pertence à ordem *Brassicales* e família *Caricaceae* da qual fazem parte 35 espécies, compreendidas em seis gêneros: *Horovitzia* (uma espécie), *Jacaratia* (sete espécies), *Jarilla* (três espécies), *Vasconcellea* (21 espécies) e *Carica* (uma espécie), originários do continente americano, enquanto o gênero *Cylicomorpha* (duas espécies) pertence ao continente africano (DROOGENBROECK et al., 2004).

Dos gêneros, destaca-se o *Carica* com a espécie *Carica papaya*, a única de valor comercial e a mais conhecida. Tem como centro de origem o noroeste da América do Sul – vertente oriental dos Andes, ou, mais precisamente, a Bacia Amazônica Superior, onde sua diversidade genética é máxima (OLIVEIRA et al., 1994).

A *Carica papaya* é uma das fruteiras mais cultivadas no mundo, estando hoje difundida em vários países a 32° de latitude norte e sul, mas, é em latitudes mais restritas, compreendida entre os trópicos de Câncer e Capricórnio, que se localizam as regiões onde seu cultivo tem importância econômica (ALVES, 2003).

A origem da cultura do mamoeiro não é definida com precisão, sendo que a maioria dos pesquisadores considera que seu cultivo teve início na América do Sul, América Central ou no Sul do México.

2.2 Cultura e principais cultivares de mamoeiro

A cultura desenvolve-se, satisfatoriamente, em locais com temperatura média anual de 25 °C, com limites entre 21 °C e 33 °C, e precipitação pluviométrica de 1.500 mm anual bem distribuída (SERRANO; CATTANEO, 2010). Tem como características principais: rápido desenvolvimento, fácil propagação, frutificação precoce e quase uniforme durante o ano inteiro (MARIN, 2004). Podendo assim, apresentar alta produtividade, com uso de práticas culturais como desbrota, sexagem e desfrute, o que demanda grande mão-de-obra e, com isso, a fixação do homem no campo evitando o êxodo rural.

A principal importância de cultivo do mamoeiro é o grande aproveitamento de seu fruto, que tanto pode ser consumido maduro ao natural, ou verdes, em doces industrializados, ou ainda para extração da papaína ou pectina (PERES et al., 2000).

As cultivares de mamoeiro mais exploradas no Brasil são classificadas em dois grupos: 'Solo' e 'Formosa'. As cultivares do grupo 'Solo' possuem alto potencial de endogamia, e seus frutos, de menor tamanho ($\approx 0,35$ a $0,70$ kg), são destinados para o mercado interno e, principalmente, para o mercado externo. As principais cultivares do grupo 'Formosa' são híbridas importadas que produzem frutos de maior tamanho ($>1,0$ kg) que são destinados, principalmente, ao mercado interno. Os municípios de Pinheiros-ES, Prado-BA e Porto Seguro-BA são os maiores produtores de mamão do grupo 'Formosa' principalmente o híbrido importado 'Tainung 01'. No Espírito Santo os municípios de Linhares e Sooretama são os maiores produtores de mamão do grupo 'Solo' principalmente

‘Golden’ e ‘Golden THB’ para exportação e ‘Sunrise Solo’ para o mercado nacional (SERRANO; CATTANEO, 2010).

2.3 Importância econômica do mamão

O Brasil é um grande consumidor de mamão, tendo a maior parte de sua produção destinada para o mercado interno. Em 2010 a produção brasileira foi de 1.871.300 ton permanecendo como segundo maior produtor mundial de mamão, perdendo apenas para a Índia, e, nesse mesmo ano, exportou menos de 2% de sua produção, o que fez ficar na segunda posição no ranking mundial de exportações, atrás apenas do México. Vale destacar que os países que mais importaram mamão em 2010 foram Estados Unidos, Cingapura e Canadá, e que, só os Estados Unidos importaram mais de 50% da produção mundial (AGRIANUAL, 2013).

Dentre os frutos tropicais produzidos no Brasil em 2001, o mamão encontrava-se listado na pauta de exportações, com uma tendência de crescimento no mercado futuro (LIMA et al., 2001) e hoje é uma das frutas mais exportadas pelo país. São os estados da Bahia e do Espírito Santo os maiores produtores e exportadores deste fruto, com produção de 910.131ton/ha e 613.734 ton/ha, e, área colhida de 15.031 ha e 7.133 ha, respectivamente, em 2010. Nesse mesmo ano o volume exportado pelo Brasil foi de 27.057 toneladas (AGRIANUAL, 2013) com o estado do Espírito Santo respondendo por 50% do total exportado pelo país (SERRANO; CATTANEO, 2010).

2.4 A antracnose

Por se tratar de fruto tropical, o mamão requer cuidados especiais, pois em qualquer grau de maturação, ele é suscetível a danos mecânicos. Estas injúrias podem servir como porta de entrada para diversos patógenos, o que resulta numa grande incidência de doenças.

Em mamão as doenças pós-colheita são importantes na redução da produção e da qualidade dos frutos, sendo a antracnose causada por *Colletotrichum* spp. a mais grave delas.

Sua ocorrência pode ser em associação, como no caso de cultivares de mamão encontradas em Trinidad, onde 79% eram *Colletotrichum gloeosporioides* e 21% eram *Colletotrichum truncatum* (RAMPERSAD, 2011), ou, simplesmente, apenas *C. gloeosporioides*, como no Brasil, onde o agente causal da antracnose em mamão tem sido referido apenas como tal, e, é provável que essa doença ocorra em todas as regiões tropicais e subtropicais onde o mamoeiro é cultivado (LIBERATO; ZAMBOLIM, 2002), embora, resultados como em Phoulivong et al. (2010), por meio de análise filogenética utilizando 25 isolados de frutas tropicais, inclusive o mamão, de Laos e Tailândia, mostrarem não ser dessas duas espécies. A análise filogenética, no entanto, mostrou que a maioria dos isolados incluídos no estudo pertencem a um complexo chamado de ‘gloeosporioides’.

O gênero *Colletotrichum* pertence à classe Ascomycetes e além de apresentar ampla distribuição geográfica causando, principalmente, doenças pós-colheita em frutos como: *Persea americana* (abacate), *Mangifera indica* (manga), *Passiflora edulis* (maracujá) e *Carica papaya* (mamão) (PERES et al., 2002), é também notoriamente variável em relação à determinadas características, destacando-se a patogenicidade (SERRA et al., 2011). Portanto a ocorrência de populações de espécies de *Colletotrichum* com comportamento

patogênico diferenciado pode determinar variações na expressão da doença (FREEMAN; KATAN; SHABI, 1998).

Embora seja confusa, devido à ampla variabilidade morfofisiológica e patogênica (SERRA et al., 2011), a identificação da espécie de *Colletotrichum*, responsável por antracnose em frutíferas, é fundamental para o desenvolvimento e implantação de métodos eficientes no controle da doença.

2.5 Etiologia do *Colletotrichum gloeosporioides*

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Sacc., forma anamórfica (assexuada) do fungo *Glomerella cingulata* (AGRIOS, 2005), é um patógeno facultativo: pode viver tanto como saprófita na matéria orgânica degradada como hospedeiro de planta viva (NESHER et al., 2011).

O desenvolvimento do *C. gloeosporioides* é favorecido por temperatura e umidade relativa elevadas (AGRIOS, 2005). O fungo produz conídios unicelulares, hialinos, cilíndricos, com terminações obtusas ou elipsoides e dimensões de 7-20 x 2,5-5µm que são liberados pelos conidióforos formados em acérvulos, com formação de setas (RESENDE; MARTINS, 2005). A sobrevivência do fungo ocorre em restos de cultura de onde os conídios são dispersos por respingo da chuva, correntes de ar, insetos, ferramentas e etc (RESENDE; MARTINS, 2005; TAVARES; SOUZA, 2005).

Tais conídios, ao atingir o fruto, germinam na presença de água e logo em seguida produzem o apressório que adere à cutícula do fruto e penetra diretamente o tecido não lesionado do hospedeiro. A penetração do tecido é favorecida pela ação de enzimas pectinolíticas excretadas no tecido do hospedeiro e pela força mecânica exercida pelo apressório sobre o peg de penetração. Após a penetração, as hifas crescem muito rapidamente tanto de forma intercelular como intracelular e podem permanecer latentes por algum

tempo antes de as células começarem a entrar em colapso e podridão. O micélio produz então acérvulos logo abaixo da cutícula, que rompem a cutícula e liberam conídios que causam mais infecções. A agressividade do fungo aumenta quando o fruto começa a amadurecer e, por consequência, os sintomas aparecem (AGRIOS, 2005).

2.6 Sintomatologia causada por *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão

No Brasil a antracnose em frutos de mamoeiro foi relatada pela primeira vez em 1895 por Hennings em Minas Gerais (LIBERATO; ZAMBOLIM, 2002) e seus sintomas podem aparecer tanto em frutos jovens (imaturos) como frutos em maturação.

Os frutos jovens, quando infectados pelo fungo, cessam o seu desenvolvimento, mumificam e caem (OLIVEIRA et al., 1994), e, mesmo sem evidência de sintomas nas condições de campo, podem se manifestar na fase de embalagem, transporte, comercialização e amadurecimento onde se apresentam com maior frequência (SANCHES; DANTAS, 1999).

Inicialmente os sintomas da doença se caracterizam por pequenas manchas rosadas, não deprimidas, de aspecto seco e borda definida sobre a superfície dos frutos, onde pode ocorrer exsudação. Em seguida, essas lesões tornam-se arredondadas e aumentam de tamanho, sendo formadas lesões deprimidas, circulares, de coloração marrom a preta (LIBERATO; ZAMBOLIM, 2002). Quando em grande quantidade, as manchas podem coalescer, espalham-se pela casca do fruto, penetram e aprofundam-se na polpa, ocasionando podridão mole (OLIVEIRA et al., 1994). O tecido interno da área infectada é firme, com uma descoloração branca-acinzentada, tornando-se posteriormente marrom. Nas células do parênquima, uma camada de calose é formada permitindo que a área infectada se desprenda livremente da superfície

do fruto (RESENDE; MARTINS, 2005). As lesões podem ser aquosas ou secas e duras, onde também podem ser observados sinais no centro das mesmas, como acérvulos escuros e massas de cor alaranjada ou rosada, de consistência gelatinosa, formadas pelos conídios (LIBERATO; ZAMBOLIM, 2002).

2.7 Métodos de controle para antracnose em mamão

Por se tratar de uma doença em que o patógeno, na maioria das vezes, inicia sua infecção durante a ontogenia do fruto, mantendo-se em quiescência, onde os sintomas não se evidenciam, é recomendável que medidas de controle visando à redução da incidência de antracnose em mamão sejam iniciadas no campo.

Assim, uma das principais medidas de controle para essa doença seria o desenvolvimento de cultivares resistentes associadas com outras características agrônomicas de interesse. De acordo com Vivas et al. (2011), a resistência genética constitui numa alternativa sustentável para o controle da doença no mamoeiro. Ferramentas biotecnológicas, como o transgênico, têm vislumbrado novas possibilidades para outro problema dessa cultura que é o *papaya ringspot virus* (DAVIS; YING, 2004), no entanto, para *C. gloeosporioides* não foram encontrados relatos de cultivares resistente.

O controle químico, com fungicidas sintéticos, é o método mais utilizado para controle deste patógeno. Ferreira et al. (2009) observaram que o tetraconazol foi eficiente tanto na inibição do crescimento micelial como na germinação dos conídios ao utilizar quatro fungicidas diferentes e em diferentes concentrações em testes 'in vitro' sobre *C. gloeosporioides*.

Tavares e Souza (2005) relataram que, os fungicidas azoxystrobin, chlorotalonil, imazalil, prochloraz, propiconazol e tebuconazol apresentaram alta eficiência na inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, e, na

inibição da germinação dos conídios, os fungicidas chlorotalonil e hipoclorito de sódio demonstraram eficiência em concentrações de 10 ppm.

Embora eficaz, o agrotóxico tem sido considerado um problema, visto que alguns tratamentos afetam o processo de amadurecimento natural dos frutos e pode levar ao aparecimento de variações resistentes do fungo devido ao seu uso permanente (GAMAGAE et al., 2003). A não observância de dosagens, o desrespeito ao período de carência e o uso de princípios ativos não registrados para a cultura também oferecem risco a saúde humana e danos irreparáveis ao ambiente.

Sendo assim, formas alternativas de controle têm sido empregadas, buscando uma produção de qualidade com respeito à saúde humana e conservando a sustentabilidade do sistema. Dessa forma, agentes físicos e biológicos são utilizados como métodos de controle a vários patógenos pós-colheita em mamão.

Segundo Marin (2004), os frutos do mamoeiro devem ser imersos em água com temperatura variando de 47 - 49 °C durante 20 minutos, seguida de outra imersão em água fria por igual tempo.

Cia et al. (2007) mostraram que a irradiação com raios gama contribuiu para a redução de perdas pós-colheita de mamão, causadas pela infecção de *C. gloeosporioides*, inibindo a germinação de conídio e o crescimento micelial.

Outra forma de controle é a aplicação de agentes biocontroladores utilizados como “fungicidas vivos”. A capacidade de colonizar superfícies feridas muito mais rápido que o patógeno e a produção de uma matriz floculante afetando a integridade das hifas do patógeno foram investigados por Capdeville et al. (2007), por meio de microscópio eletrônico de varredura, utilizando a levedura *Cryptococcus magnus* como antagonista do *C. gloeosporioides* em mamão. Almeida (2009) utilizou *Trichoderma viride* como antagonista sobre fungos patogênicos de fruteiras tropicais, incluindo o *C. gloeosporioides* em

mamão, mostrando potencial antagônico tanto em culturas pareadas quanto aos seus metabólitos fixos e voláteis.

O uso de agentes biocontroladores também pode aumentar a eficácia de outros produtos quando associados, como é o caso de bicarbonato de sódio a 2% no controle da antracnose do mamão, que aumentou quando associado com *Candida oleophila* (GAMAGAE et al., 2003). Essa mesma associação revestida com cera foi investigada por Gamagae et al. (2004) e representa uma alternativa comercialmente aceitável para controle da antracnose em mamão durante o armazenamento.

Tratamento de frutos com indutores de resistência apresenta-se como alternativa eficaz no controle da antracnose em mamão. A redução na incidência da antracnose em mamão foi em torno de 70% quando tratados com acibenzolar-S-methyl (ASM) e Agro-Mos (AM) (DANTAS et al., 2004).

Microrganismos também podem induzir resistência no hospedeiro. Shi et al. (2011) sugerem que o mamão é capaz de responder ao endófito *Pseudomonas putida* MGY2, que poderia ativar as enzimas de defesa e, assim, induzir resistência à antracnose.

O uso de compostos naturais de origem vegetal vem se mostrando em estratégia potencial para o controle de doenças pós-colheita. Alguns trabalhos com aplicação de óleos essenciais, por exemplo, tem demonstrado resultados satisfatórios.

Carnelossi et al. (2009) mostraram que os óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus citriodora*, *Mentha arvensis* e *Artemisia dracuncululus* testados *in vitro* foram eficientes, inibindo em 100% o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* na aliquota de 50µL. Em teste *in vivo*, os mamões tratados com estes óleos e inoculados 24 horas após com o fungo, apresentaram menor AACPD (Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença).

Cho et al. (2006) demonstraram que compostos ativos presentes no extrato metanólico de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) inibiram efetivamente o crescimento micelial de *Colletotrichum* spp, inclusive o *C. gloeosporioides*. Roswalka et al. (2008) observaram a inibição total do crescimento micelial de *Glomerella cingulata* e *C. gloeosporioides*, na presença de extrato aquoso e óleo essencial de cravo-da-Índia, enquanto que o óleo de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) apresentou ação fungitóxica sobre o *C. gloeosporioides* e ação fungistática sobre *G. cingulata*.

Os métodos de controle podem ser aplicados de forma isolada ou integrada para controlar doenças de frutas pós-colheita, as quais geralmente são afetadas por mais de um patógeno (SENHOR et al., 2009).

No manejo integrado a aplicação de um número maior de medidas faz diminuir o uso exacerbado e indiscriminado de tecnologias que agridam o ambiente, causando menor impacto à sustentabilidade do sistema com uma produção de qualidade.

A combinação de óleos essenciais de plantas com alta pressão hidrostática também é sugerido como alternativa de controle para antracnose. No trabalho realizado por Palhano et al. (2004), esporos de *C. gloeosporioides* foram inibidos após uma pressão de 350 MPa por 30 min. Quando associado com óleo de capim limão a pressão necessária para inibir os esporos foi de 150 MPa.

Para aumentar a vida útil e a manutenção das características físico-químicas dos frutos, a combinação de óleos essenciais com película biodegradável pode apresentar uma estratégia promissora, sendo confirmado por Bosquez-Molina et al. (2010) que por meio de revestimento à base de goma de algaroba formulado com óleos de *Thymus vulgaris* (tomilho) e *Citrus aurantifolia* (limão mexicano) obteve a inibição do crescimento de dois

patógenos (*C. gloeosporioides* e *Rhizopus stolonifer*) e aumentou a vida útil do mamão.

O uso da película biodegradável, como polissacarídeo, por exemplo, também pode trazer benefícios ao ambiente, pois substituirá as embalagens produzidas com polímeros sintéticos convencionais que demoram anos para sua decomposição total.

REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL. São Paulo: AgraFNP Consultoria e Comércio, 2013. 334 p.
- AGRIOS, G. N. Plant diseases caused by fungi. In: AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5thed. New York: Elsevier Academic, 2005. p. 385-614.
- ALMEIDA, W. K. D. Antagonismo de *Trichoderma viride* sobre fungos fitopatogênicos, *Colletotrichum* spp., *Cercospora musae* e *Asperisporium caricae* em fruteiras tropicais. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, v.4, n.2, p.1374-1378, 2009.
- ALVES, F.L.A. cultura do mamão *Carica papaya* no mundo, no Brasil e no Estado do Espírito Santo. In: MARTINS, D. S.; COSTA, A. F. S. (Ed.). **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória: INCAPER, 2003. p.13-34.
- BOSQUEZ-MOLINA, E. et al. Inhibitory effect of essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruit and their possible application in coatings. **Postharvest Biology and Technology**, Washington, v.57, n. 2, p. 32-137, Mar. 2010.
- CAPDEVILLE, G. et al. Scanning electron microscopy of the interaction between *Cryptococcus magnus* and *Colletotrichum gloeosporioides* on papaya fruit. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.11, p.1537-1544, nov. 2007.
- CARNELOSSI, P.R. et al. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.11, n.4, p.399-406, 2009.
- CHO, J.Y. et al. Antifungal activity against *Colletotrichum* spp. of curcuminoids isolated from *Curcuma longa* L. rhizomes. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 16, n. 2, p.280-285, Feb. 2006.

CIA, P. et al. Effects of gamma and UV-C irradiation on the postharvest control of papaya anthracnose. **Postharvest Biology and Technology**, Washington, v.43, n. 3, p.366-373, Oct. 2007.

DANTAS, S.A.F. et al. Indutores de resistência na proteção do mamão contra podridões pós-colheita. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, n. 3, p.304-319, 2004.

DAVIS, M.J.; YING, Z. Development of papaya breeding lines with transgenic resistance to *Papaya ringspot virus*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 88, n.4, p. 352-358, Apr. 2004.

DROOGENBROECK, B. van et al. Phylogenetic analysis of the highland papayas (*Vasconcellea*) and allied genera (*Caricaceae*) using PCR-RFLP. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.108, n. 8, p.1473-1486, May 2004.

FERREIRA, J.B. et al. Sensibilidade de *Colletotrichum gloeosporioides* (mancha manteigosa do cafeeiro) a diferentes concentrações de fungicidas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, p. 2052-2058, 2009. Edição especial.

FREEMAN, S.; KATAN, T.; SHABI, E. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. **Plant Disease**, Saint Paul, v.82, n.6, p. 596-605, 1998.

GAMAGAE, S. U. et al. Evaluation of post-harvest application of sodium bicarbonate-incorporated wax formulation and *Candida oleophila* for the control of anthracnose of papaya. **Crop Protection**, Guildford, v.23, n. 7, p.575-579, July 2004.

GAMAGAE, S. U. et al. Use of sodium bicarbonate and *Candida oleophila* to control anthracnose in papaya during storage. **Crop Protection**, Guildford, v. 22, n. 7, p.775-779, July 2003.

LIBERATO, J. R.; ZAMBOLIM, L. Controle das doenças causadas por fungos, bactérias e nematóides em mamoeiro. In: ZAMBOLIM, L. et al. (Ed.). **Controle de doenças de plantas fruteiras**. Viçosa, MG: UFV, 2002. v.2, p.1023-1138.

LIMA, R. C. A. et al. Etiologia e estratégias de controle de viroses do mamoeiro no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, n. 4, p.689-702, dez. 2001.

MARIN, S. L. D. **Mamão papaya: produção, pós-colheita e mercado**. Fortaleza: Instituto Frutal, 2004. 82p.

NESHER, I. et al. Regulation of pathogenic spore germination by CgRac1 in the fungal plant pathogen *Colletotrichum gloeosporioides*. **Eukaryotic Cell**, Washington, v.10, n. 8, p.122-1130, Aug. 2011.

OLIVEIRA, A. M. G. et al. **Mamão para exportação: aspectos técnicos da produção**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 52p. (Frupeex, 9).

PALHANO, F. L. et al. Inactivation of *Colletotrichum gloeosporioides* spores by high hydrostatic pressure combined with citral or lemongrass essential oil. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 95, n. 1, p.61-66, Aug. 2004.

PERES, A. P. et al. Perfil enzimático de fungos associados à podridão peduncular do mamão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.1, p.295-299, jan./fev. 2000.

PERES, N.A.R. et al. Identification and characterization of *Colletotrichum* spp. affecting fruit after harvest in Brazil. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.150, n. 3, p.128-134, Mar. 2002.

PHOULIVONG, S. et al. *Colletotrichum gloeosporioides* is not a common pathogen on tropical fruits. **Fungal Diversity**, Kunming, v.44, n. 1, p.33-43, Oct. 2010.

RAMBERSAD, S.N. Molecular and phenotypic characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease of papaya in Trinidad. **Plant Disease**, Saint Paul, v.95,n. 10, p.1244-1254, Oct. 2011.

RESENDE, J.A.M.; MARTINS, M. C. Doenças do mamoeiro. In: KIMATTI, J.et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v.2, p.440-444.

ROSWALKA, L. C. et al. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulatae Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.2, p. 301-307, mar./abr. 2008.

SANCHES, N. F.; DANTAS, J. L. L. **O cultivo do mamão**. Cruz das Almas: EMBRAPA Mandioca e fruticultura, 1999. 105 p. (Circular Técnico, 1999).

SENHOR, R. F. et al. Manejo de doenças pós-colheita. **Revista Verde**, Mossoró, v.4, n. 1, p. 1-13, 2009.

SERRA, I. M. R. S. et al. Diversidade fenotípica e patogênica de *Colletotrichum*, agente causal de antracnose em mangueira, e identificação de espécie. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.37, n.1, p.42-51, 2011.

SERRANO, L. A. L.; CATTANEO, L. F. O cultivo do mamoeiro no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.32, n.3, p. 657-959, 2010.

SHI, J. et al. Inhibitory mechanisms induced by the endophytic bacterium MGY2 in controlling anthracnose of papaya. **Biological Control**, Orlando, v. 56, p. 2-8, 2011.

SIMÃO, S. Mamoeiro. In: Simão S. **Tratado de fruticultura**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p.541-575.

TAVARES, G. M.; SOUZA, P.E. Efeito de fungicidas no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da antracnose do mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p.52-59, jan./fev. 2005.

VIVAS, M. et al. Testers for combining ability and selection of papaya hybrids resistant to fungal diseases. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v.11, n.1, p.36-42, 2011.

CAPÍTULO 2 Aprimoramento de metodologia de inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão com diferentes estádios de maturação

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo aprimorar um método que reproduza os sintomas da antracnose em diferentes estádios de maturação do fruto de forma rápida, simples e uniforme. Os frutos preliminarmente higienizados foram selecionados mediante seus estádios de maturação em 1, 2 e 3. Em seguida, inoculados com uma suspensão ajustada para 2×10^5 conídios/mL de *C. gloeosporioides* por meio de três métodos: 1) ferimento com cinco furos com uma agulha de metal de 1mm de diâmetro; 2) ferimento com 15 furos com agulha de metal de 0,4mm de diâmetro e 3) ferimento com um corte de aproximadamente 5,5mm com bisturi. Cada fruto, dos diferentes estádios de maturação, foi inoculado com o patógeno pelos três métodos com deposição de 15µL de inóculo. O mesmo volume de água destilada e estéril serviu como controle negativo. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 6 repetições por tratamento, sendo o experimento analisado em esquema fatorial, $3 \times 3 + 1$, com 3 estádios de maturação e 3 métodos de inoculação mais o controle. A avaliação foi feita com a contagem das lesões de antracnose para cada método nos três estádios de maturação dos mamões após sete dias de inoculados. Os resultados indicam que o método 1 de inoculação serve para todos os estádios de maturação do mamão que se queira reproduzir sintoma de antracnose em condições de laboratório e para uma reprodução de sintoma de antracnose mais rápida e uniforme, sugere-se frutos de mamoeiro em estádio 3 de maturação.

Palavras-chave: Antracnose. Doenças pós-colheita. Fruta.

ABSTRACT

The present study aimed to improve a method to reproduce faster, uniform and of a simple way the symptoms of the anthracnose at different stages of fruit ripening. The fruits were selected preliminarily cleaned conform their maturation stages 1, 2 and 3. Then and inoculated with a suspension of 2×10^5 conidia / ml of *C. gloesporioides* by three methods: 1) wound with five holes with a metal needle of 1mm in diameter, 2) wound with 15 holes with a metal needle of 0.4 mm diameter and 3) wound with a cut of approximately 5.5mm with a scalpel. Each fruit, from different maturity stages were inoculated with the pathogen by the methods and deposition 15 μ L inoculum. The same volume of distilled sterile water served as a negative control. The experimental design was completely randomized with six replicates per treatment, and the experiment analyzed in factorial 3 x 3 + 1, with 3 stages of maturation and 3 methods of inoculation control. The evaluation was done with counting anthracnose lesions for each method in three maturity stages of papaya fruits after seven days of inoculation. The results indicate that the method of inoculation 1 serves to all maturation stages of papaya one wants to reproduce anthracnose symptoms in laboratory conditions and for a reproduction of anthracnose symptoms quickly and uniformly, it is suggested papaya fruits in stage 3 maturation.

Keywords: Anthracnose. Postharvest diseases. Fruit.

1 INTRODUÇÃO

O *Colletotrichum gloeosporioides* apresenta ampla distribuição geográfica no mundo causando doenças pós-colheita em frutos como: banana (*Musa* spp.), caju (*Anacardium occidentale* L.), manga (*Mangifera indica* L.), maracujá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) e mamão (*Carica papaya* L.) (BENATO, 1999; PERES et al., 2002), representando sérios problemas em regiões tropicais e subtropicais.

Em mamão, a antracnose, causada pelo *C. gloeosporioides*, é a principal doença fúngica pós-colheita responsável por perdas, que começam no campo, passam pelo transporte, embalagem e comercialização.

Em condições de campo, os sintomas podem não ser evidentes, porém os frutos imaturos quando infectados cessam o seu desenvolvimento, mumificam e caem (OLIVEIRA et al., 1994). Embora os sintomas ocorram em frutos de qualquer estágio de desenvolvimento, eles se apresentam com maior frequência nos maduros (SANCHES; DANTAS, 1999).

Comumente as infecções se iniciam no campo, nos estágios iniciais de desenvolvimento do mamão e permanecem quiescentes até seu amadurecimento (RESENDE; MARTINS, 2005). Quando inicia a maturação, nos frutos atacados formam lesões deprimidas que atingem até 5 cm de diâmetro e com 3 a 5 mm de profundidade (LIBERATO; ZAMBOLIM, 2002), tornando-se imprestáveis para a comercialização.

Várias são as formas de controle da antracnose em mamão recomendadas pela literatura, no entanto, há pouca informação em relação ao método de inoculação do fungo para que estudos sobre a doença na pós-colheita possam ser melhores conduzidos.

Diante do exposto objetivou-se com o presente trabalho aprimorar metodologia de inoculação de *C. gloeosporioides* em mamão, para que sintomas de antracnose possam ser reproduzidos de forma rápida, simples e uniforme em laboratório, auxiliando assim no entendimento de seus aspectos de patogenicidade e de interação com outros agentes bióticos e abióticos, facilitando, com isso, no controle da doença.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de condução do experimento

O experimento foi realizado no Laboratório de Microscopia e Análise Ultraestrutural (LME) do Departamento de Fitopatologia (DFP) da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.

2.2 Isolamento de *Colletotrichum gloeosporioides*

O fungo foi isolado a partir de lesões em frutos maduros de mamoeiro da cultivar ‘Sunrise solo’, adquiridos no CEASA - MINAS, Contagem – MG.

Os frutos lesionados foram transportados para o laboratório, onde se procedeu ao isolamento do fungo.

Por meio de isolamento indireto, pequenos pedaços de tecidos do epicarpo e mesocarpo foram retirados de áreas em transição entre o sintoma e a região aparentemente sadia dos frutos lesionados com um bisturi esterilizado. Após foram desinfestados em álcool a 70%, hipoclorito de sódio a 2% e lavados em água destilada esterilizada por 3 vezes, seguindo a sequência por 1 minuto cada etapa. Em seguida fez-se a secagem dos referidos fragmentos em papel de filtro esterilizado e, logo depois, transferiu-os para placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo como substrato o meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar). Depois foram mantidos em câmara de crescimento a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas até o surgimento de estruturas reprodutivas do fungo. Formada a colônia do fungo, procedeu-se a inoculação e reprodução dos sintomas em frutos de mamoeiro para verificação de patogenicidade.

2.3 Verificação da patogenicidade do isolado *Colletotrichum gloeosporioides*

Em uma placa de Petri de 9 cm de diâmetro contendo colônia do fungo com idade de 21 dias foram adicionados 20 ml de água estéril e com uma alça de Drigalski de vidro espalhou a água por toda colônia para desprender as estruturas do fungo. Após, foi filtrada em gaze dobrada em quatro vezes sobre um béquer, para obtenção de uma suspensão contendo somente conídios e fragmentos de hifas.

A concentração da suspensão foi obtida utilizando hemacitômetro e ajustada para $2,0 \times 10^5$ conídios/ml, adicionando-se, 3 gotas de Tween 20, como espalhante adesivo.

Quatro frutos sadios de mamão da cultivar 'Sunrise Solo', previamente lavados em água corrente, higienizados com hipoclorito de sódio (NaClO) a 2% por 3 minutos, lavados em água destilada e secos em papel toalha, foram feridos com 10 furos em 3 regiões distintas com uma agulha histológica flambada. Posteriormente, em três dos quatro mamões utilizados foi depositado 15 µL do inóculo sobre os ferimentos com uma pipeta automática. O outro fruto serviu como controle e, ao invés do inóculo, foi depositado 15 µL de água estéril. Em seguida, os frutos inoculados e o controle foram acondicionados em câmara úmida e incubados a 25 °C com fotoperíodo de 12 horas.

Quatro dias após, os frutos inoculados apresentaram o sintoma de antracnose observado nos frutos de onde o fungo foi isolado. A partir destes frutos inoculados, foi feito o re-isolamento do fungo.

2.4 Cultura monospórica e incorporação de *Colletotrichum gloeosporioides* à Coleção Micológica de Lavras, DFP-UFLA

Quatorze dias após o re-isolamento do fungo, foi feita uma suspensão de onde foram retirados 100µL com uma pipeta automática e depositado em placa de Petri de 9 cm com meio ágar-água contendo 5 ‘glassbeads’ (bolinhas de vidro). Sem movimento brusco, a placa foi agitada para que os ‘glassbeads’ pudessem espalhar a suspensão de forma homogênea no meio.

Após o descarte dos ‘glassbeads’, a placa com a suspensão do fungo foi acondicionada em incubadora com fotoperíodo de 12 horas a 25 °C até a germinação dos esporos.

Depois de 24 horas de incubação foi feita a transferência de apenas um esporo germinado da placa com meio ágar-água para placa com meio BDA com uma agulha histológica em um microscópio de luz.

Por meio de preparações em lâminas e observação ao microscópio de luz, o *C.gloeosporioides*, fase anamórfica do fungo *Glomerella cingulata*, foi identificado baseando-se em suas características morfológicas de acordo com Sutton (1980).

Após a identificação, o isolado foi incorporado à Coleção Micológica de Lavras do Departamento de Fitopatologia da UFLA codificado como CML 2339.

2.5 Obtenção e preparo dos frutos de mamoeiro (*Caricapapaya L.*) para inoculação

Os mamões da cultivar ‘Sunrise Solo’ provenientes da fazenda Alvorada, localizada em São Mateus-ES, foram adquiridos por intermédio de um

comerciante de frutas e hortaliças de Lavras-MG e transportados para o Laboratório de Microscopia e Análise Ultraestrutural do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras.

Em seguida, os frutos sem sintomas de doenças e sem qualquer dano mecânico foram selecionados quanto ao estágio de maturação e submetidos à lavagem em água corrente com detergente, desinfestação em hipoclorito de sódio (NaClO) a 2% durante 3 minutos, lavagem em água destilada e secagem em papel toalha.

Os estádios de maturação selecionados foram: estágio 1 – frutos com até 15% da superfície amarela; estágio 2 - frutos com até 25% da superfície amarela; e estágio 3 - frutos com até 50% da superfície amarela.

2.6 Preparo do inóculo

O isolado CML 2339 da Micoteca do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras foi utilizado como inóculo.

Aos seis dias de cultivo do isolado em BDA, colocou-se 25 ml de água destilada estéril na placa com a cultura e com uma alça de Drigalski de vidro, espalhou a água por toda a colônia para desprender as estruturas do fungo. Após, a suspensão foi filtrada em gaze dobrada em quatro vezes para obter somente conídios e fragmentos de hifas.

A leitura da suspensão foi feita por meio de câmara de Neubauer e a concentração foi ajustada para $2,0 \times 10^5$ conídios/ml de *C. gloeosporioides*, adicionando-se 3 gotas de Tween 20, como espalhante adesivo.

2.7 Inoculação

Os mamões em estádios 1, 2 e 3 de maturação foram submetidos a três métodos de inoculação: método 1 –ferimento com cinco furos com uma agulha de metal de 1mm de diâmetro; método 2 –ferimento com 15 furos com agulha de metal de 0,4 mm de diâmetro e método 3 – ferimento com um corte de aproximadamente 5,5 mm com bisturi (Figura 1).

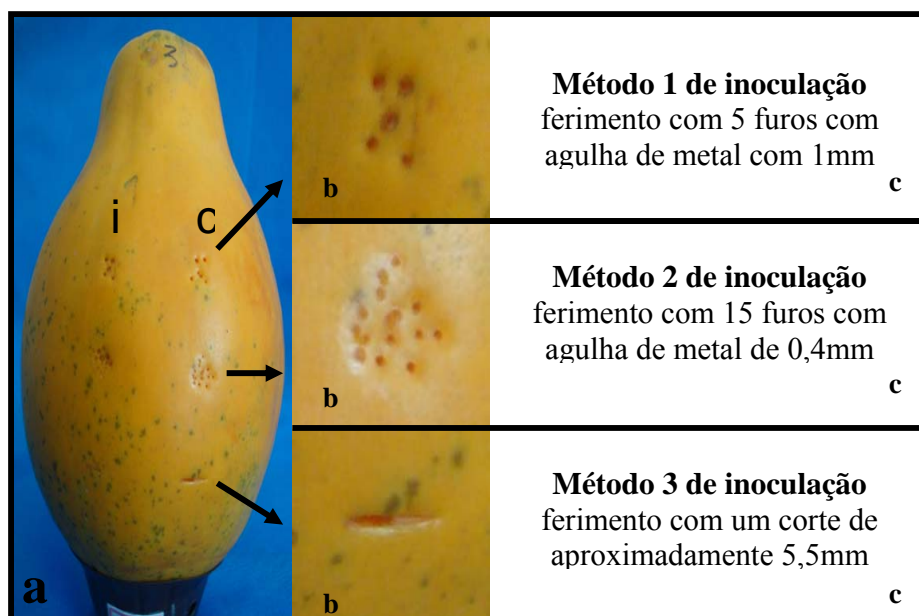


Figura 1 Fotografia de mamão ‘Sunrise Solo’ em estágio 3 de maturação: a) inoculado com *Colletotrichum gloeosporioides* por 3 métodos (i) e água estéril (controle – c); b) detalhes dos ferimentos para inoculação; c) métodos de inoculação testados

A profundidade dos ferimentos foi de aproximadamente 4 mm e o látex que saiu dos frutos foi retirado com algodão esterilizado. Sobre os ferimentos

foram depositados com uma pipeta automática 15 µL do inóculo na concentração de $2,0 \times 10^5$ conídios/ml. Nos seis frutos de cada estágio de maturação foram feitos os três tipos de fermentos (métodos 1, 2 e 3) duplicados.

Esses métodos de fermento duplicados em um mesmo mamão foram divididos em inoculado com *C. gloeosporioides* e controle (deposição de 15 µL de água destilada estéril).

Ao final da inoculação, cada fruto continha os três métodos duplicados, três inoculados com o patógeno e os outros três com deposição de água destilada estéril.

Em seguida, os frutos foram identificados e acondicionados em câmara úmida constituída por uma armação de madeira e arame envolvida por dois sacos plásticos e mantido a temperatura de $24 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ sobre bancada. No interior da câmara úmida continha uma bandeja plástica com uma esponja umedecida com água destilada e envolvida por papel alumínio onde os frutos, sobre uma placa de Petri, foram colocados deitados com os fermentos voltados para cima por 48 horas para dar condições ao fungo de penetrar.

Após este período, cada fruto foi colocado sobre suporte (recipiente de plástico) com a base e pedúnculo voltados para cima. No suporte continha dois furos nas laterais feitos para não abafar o ápice do fruto e não formar uma câmara úmida para outros patógenos.

2.8 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com seis repetições por tratamento, sendo o experimento analisado em esquema fatorial, $3 \times 3+1$, com 3 estágios de maturação e 3 métodos de inoculação mais o controle.

2.9 Avaliação

Aos sete dias de inoculação foi realizada a avaliação pelo número de lesões de antracnose em cada método, nos três estádios de maturação dos mamões.

2.10 Análise estatística

O programa SISVAR (FERREIRA, 2011) foi utilizado para a análise estatística dos dados. Os dados foram submetidos à análise de variância aplicando-se o teste de Tukey ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os frutos apresentaram sintomas característicos da antracnose após sete dias da inoculação período de tempo que foi realizada a avaliação (Figura 2).



Figura 2 Fotografia de mamões inoculados com *Colletotrichum gloesporioides* após sete dias de inoculação em diferentes estádios de maturação: a) estágio 1; b) estágio 2; c) estágio 3 e mostrando os sintomas da antracnose em b e c.

Os frutos no estágio 2 e 3 de maturação quando inoculados com os três métodos, apresentaram sintomas de antracnose, enquanto que os frutos no estágio 1 de maturação apresentaram sintoma evidente de antracnose apenas quando inoculado pelo método 1.

Mesmo apresentando sintomas pelo método 1, os frutos no estágio 1 de maturação tiveram baixa incidência de 16,7%. É importante ressaltar que ao ferir os frutos neste estágio de maturação para inoculação do fungo, estes liberaram

muito látex. No látex é encontrada a papaína, uma enzima proteolítica que pode ser associada à proteção da planta contra predadores (MELO; MELO; MELO, 1997), nesse caso impedindo a germinação e colonização dos frutos pelo fungo.

Os frutos no estágio 2 de maturação tiveram moderada incidência quando comparados aos frutos nos estádios 1 e 3, apresentando 50% de incidência de antracnose quando inoculados pelos métodos 1 e 3 (Tabela 1).

Em frutos no estágio 3 de maturação, observou-se alta incidência de antracnose com mais de 50% pelos métodos de inoculação 1 e 3, sendo que pelo método 1 de inoculação apresentou 100% de lesão de antracnose (Tabela 1). Acredita-se que isto se deve ao decréscimo de compostos fenólicos durante o seu amadurecimento (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Os compostos fenólicos geralmente estão associados ao mecanismo de adaptação e resistência da planta ao meio ambiente (ROCHA et al., 2011). A redução desses compostos nos frutos diminui a sua resistência e com o aumento de sólidos solúveis totais (ALMEIDA et al., 2006) torna-os substratos disponíveis ao desenvolvimento de fungos.

Tabela 1 Incidência de antracnose em relação aos métodos de inoculação em três estádios de maturação do mamão

Estádio de maturação	Método de inoculação	Incidência %
1	1 ^a	16,7e
	2 ^b	0 f
	3 ^c	0 f
	Controle*	0 f
2	1	50c
	2	33,3d
	3	50c
	Controle	0 f
3	1	100 a
	2	33,3d
	3	66,7b
	Controle	0 f

^aMétodo 1 de inoculação – ferimento com 5 furos com agulha de metal com 1mm de diâmetro; ^bMétodo 2 – ferimento com 15 furos com agulha de metal de 0,4 mm de diâmetro; ^cMétodo 3 – ferimento com um corte de aproximadamente 5,5 mm com bisturi; *Controle – frutos não inoculados com *Colletotrichum gloeosporioides*.

Os tratamentos do estágio 1 com o método 2 e 3 não diferiram estatisticamente entre si e do controle por não apresentarem incidência de antracnose. Os tratamentos do estágio 2 e 3 com método 2 também não diferiram estatisticamente entre si apresentando ambos 33,3% de incidência, porém diferiram do controle que não apresentou sintoma. Os tratamentos do estágio 2 com método 1 e 3 apresentaram 50% de incidência e diferiram estatisticamente do controle.

O método 3 de inoculação apresentou incidência de 50% no estágio 2 de maturação e 66,7% no estágio 3.

A inoculação no estágio 3 de maturação dos frutos foi a mais eficiente, pois apresentou sintomas nos 3 métodos de inoculação, sendo o método 1 com 100% de sintomas, seguido pelo método 3 com 66,7% e o método 2 com 33,3%.

O método 1 de inoculação foi altamente eficiente, apresentando sintoma nos 3 estádios de maturação do mamão, mostrando alta incidência da doença quando associado a esta metodologia. Isso, possivelmente, foi devido ao tamanho do furo realizado com agulha de 1 mm de diâmetro, que foi maior quando comparado com a agulha de 0,4 mm pelo método 2 de inoculação, e a área ferida, que foi maior quando comparada com a área realizada pelo método 3 que utilizou bisturi.

O tratamento no estágio 3 de maturação com o método de inoculação 1 distinguiu-se dos demais tratamentos, sendo possível distinguir a eficácia de cada metodologia.

Diferentes métodos de inoculação com fungos causadores de podridões em mamão têm sido relatados na literatura (CARNELOSSI et al., 2009; DANTAS et al., 2004; NERY-SILVA et al., 2007), mas apenas em Gomes et al. (2012) observa-se a correlação com o estágio de maturação do fruto. Neste estudo ao se utilizar frutos de mamoeiro em estádios 1, 2 e 3 associados a dois métodos de inoculação (método 1 - ferimentos com uma agulha de metal nº 6 e método 2 – ferimentos simultâneos com um conjunto de 22 agulhas entomológicas nº 7) foi observado que os estádios 2 e 3 do mamão associados ao método 1 foram mais adequados por apresentarem uniformidade na reprodução de sintoma e estes resultados corroboram com os aqui apresentados, tomando-o como base para aprimoramento deste.

4 CONCLUSÕES

- a) O método 1 de inoculação é indicado para todos os estádios de maturação do mamão que se queira reproduzir sintoma de antracnose em condições de laboratório.
- b) Para uma reprodução de sintoma de antracnose mais rápida e uniforme, sugere-se frutos de mamoeiro em estágio 3 de maturação.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, R. F. et al. Influência da temperatura de refrigeração sobre as características químicas do mamão cv. "Golden". **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 577-581, 2006.
- BENATO, E.A. Controle de doenças pós-colheita em frutas tropicais. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 25, n. 1, p. 90-92, 1999.
- CARNELOSSI, P. R. et al. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 399-406, 2009.
- CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.
- DANTAS, S. A. F. et al. Indutores de resistência na proteção do mamão contra podridões pós-colheita. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, n. 3, p. 304-319, 2004.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011.
- GOMES, L.I.S. et al. Metodologia de inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de mamão. **Agrotropica**, Ilhéus, v. 24, n. 3, p. 183-188, 2012.
- LIBERATO, J. R.; ZAMBOLIM, L. Controle das doenças causadas por fungos, bactérias e nematóides em mamoeiro. In: ZAMBOLIM, L. et al. (Ed.). **Controle de doenças de plantas fruteiras**. Viçosa, MG: UFV, 2002. v. 2, p. 1023-1138.
- MELO, W.J.; MELO, G.M.P.; MELO, V.P. **Papaína: uma opção para o produtor de mamão**. Jaboticabal: FUNEP Rural, 1997. 75 p.
- NERY-SILVA, F. A. et al. Metodologia de inoculação de fungos causadores da podridão peduncular em mamão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.5, p.1374-1379, set./out. 2007.

OLIVEIRA, A. M. G. et al. **Mamão para exportação**: aspectos técnicos da produção. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 52 p. (Frupeex, 9).

PERES, N. A. R.. et al. Identification and characterization of *Colletotrichum* spp. affecting fruit after harvest in Brazil. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 150, n. 3, p. 128-134, Mar. 2002.

RESENDE, J.A.M.; MARTINS, M. C. Doenças do mamoeiro. In: KIMATTI, J. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v.2, p.440-444.

ROCHA, W.S. et al. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 4, p. 1215-1221, 2011.

SANCHES, N. F.; DANTAS, J. L. L. **O cultivo do mamão**. Cruz das Almas: EMBRAPA Mandioca e fruticultura, 1999. 105 p. (Circular Técnico, 1999).

SUTTON, B.C. **The Coelomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1980. 696p.

CAPÍTULO 3 Amido de mandioca, em diferentes concentrações, no controle pós-colheita da antracnose em mamão

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar película à base de amido de mandioca no controle pós-colheita da maturação e de antracnose em mamão. Após teste de granulometria das amostras de amido, várias suspensões com concentrações diferentes de amido foram testadas, a saber: 1%, 2%, 3% e 4%. Estas suspensões de amido com 48,3% de grânulos de 0,42 mm de diâmetro foram aquecidas a 80 °C e agitadas a cada 10 segundos, por 1 a 2 minutos em volume de 300 ml, até adquirirem consistência de gel. Os mamões preliminarmente selecionados e desinfestados foram inoculados com 2×10^5 conídios/ml de *C. gloeosporioides* e incubados por 48h em câmara úmida. Após, os frutos foram retirados da câmara úmida e cobertos pelo gel a 25°C nas concentrações descritas. O recobrimento procedeu-se da seguinte forma: banho por 1 minuto, escorrimento e secagem por 3 minutos, repetidos por três vezes. Os frutos controle (apenas inoculados e sem revestimento) e os frutos revestidos pela película nas concentrações 1%, 2%, 3% e 4% foram acondicionados em suportes plásticos sobre bancada dentro do laboratório com temperatura de aproximadamente 25 °C. O delineamento foi inteiramente casualizado, dispondo de 5 tratamentos com três repetições. Aos quatro dias de inoculados, iniciou-se a avaliação com contagem de lesões de antracnose durante 11 dias. Todas as películas de amido de mandioca nas concentrações testadas controlam a maturação e a antracnose, com destaque para as películas em concentrações de 2%, 3% e 4% que controlaram em 100% a incidência de antracnose em mamão.

Palavras chave: *Colletotrichum gloeosporioides*. Biopolímero de mandioca. Controle alternativo de doenças.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate film starchy of cassava in controlling anthracnose in papaya. After testing the starch particle, several suspensions with different starch concentrations were tested, namely: 1%, 2%, 3% and 4%. These suspensions with 48.3% starch granules of 0.42 mm diameter were heated at 80 °C under periodical stirring of 10 seconds, for 1 to 2 minutes in volume of 300 ml, until they acquire gel consistency. The papayas preliminarily selected and disinfected, were inoculated with 2×10^5 conidia/ml of *C. gloeosporioides* and incubated for 48 hours in a moist chamber. After the fruits were removed from the moist chamber and covered by the gel at 25 °C at the concentrations described. The coating proceeded as follows: bath for 1 minute, draining (removing excess) and drying for 3 min, repeated 3 times. The fruits control (inoculated but without coating) and the coated fruits film at concentrations of 1%, 2%, 3% and 4% were placed in plastic holders on bench in the laboratory at room temperature of approximately 25 °C. The completely randomized design, featuring five treatments with three replications. At four days of inoculated, was initiated with an evaluation score of anthracnose lesions for 11 days. Although all concentrations film having a controlled ripening and anthracnose, the films in concentrations of 2%, 3% and 4% controlled at 100% incidence of anthracnose on papaya.

Keywords: *Colletotrichum gloeosporioides*. Biopolymer cassava. Alternative control of disease.

1 INTRODUÇÃO

Os polissacarídeos são materiais naturalmente hidrofílicos cuja afinidade por água está associada à predominância de grupos altamente polares como hidroxila (CEREDA; BERTOLINI; EVANGELISTA, 1992). Devido a essa afinidade por água, esses materiais vêm sendo estudados, especialmente na área de Engenharia de Alimentos e Agronomia, como preparo de géis para formação de película.

Películas a base de polissacarídeos tem sido bastante exploradas para revestimento de frutas e hortaliças frescas, visando minimizar a perda de umidade e reduzir as taxas de respiração, além de conferir aparência brilhante e atraente (AZEREDO, 2003).

O produto amiláceo que serve de reserva energética para as plantas é um polissacarídeo que está disponível em abundância na natureza. Segundo Luvielmo (2012), os polissacarídeos mais utilizados na elaboração de revestimentos comestíveis em frutas são: fécula de mandioca, alginato de sódio, pectina, carragena, quitosana e derivados da celulose (metilcelulose, carboximetilcelulose e hidroxipropilmetilcelulose).

A utilização de películas a partir de amido é uma alternativa de conservação pós-colheita para frutos que são mais consumidos *in natura*. Em mamão, por exemplo, por ser um fruto altamente perecível na fase pós-colheita registrando os maiores índices de perdas, normalmente devido às contaminações microbiológicas, as desordens fisiológicas, danos mecânicos, amadurecimento excessivo, manuseio inadequado e perda da integridade estrutural devido à alta umidade (GODOY; CERQUEIRA-PEREIRA; JACOMINO, 2008), pesquisas apontam que películas à base de polissacarídeos aumentam sua vida útil.

No entanto os estudos até então realizados com películas à base de polissacarídeos para conservação de mamão foram com a finalidade de

contribuir apenas para melhoria no aspecto visual, evitando contaminações na pós-colheita e retardando o amadurecimento.

Neste trabalho o objetivo foi utilizar diferentes concentrações de película à base de amido de mandioca para controle da maturação e de antracnose em frutos de mamoeiro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de condução dos trabalhos

O experimento e as observações e registro das imagens em microscópio estereoscópico foram realizados no Laboratório de Microscopia e Análise Ultraestrutural (LME) do Departamento de Fitopatologia (DFP) da Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG.

A homogeneização e granulometria do amido de mandioca foram realizadas no Laboratório de Grãos, Raízes e Tubérculos do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG.

2.2 Obtenção, homogeneização e teste de granulometria dos lotes do amido de mandioca

Quatro quilos de amido de mandioca de coloração branca, aparência límpida, produzidos artesanalmente por agricultores e adquiridos em comércio de Porto Seguro – BA foram homogeneizados em agitador homogeneizador TE-200/10 Tecnal Brasil a 30 rpm por 15 minutos no Laboratório de Grãos, Raízes e Tubérculos do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG.

Em seguida foi feito o teste de granulometria utilizando-se um conjunto de cinco peneiras de 40, 60, 80, 100 e 140 de abertura das malhas conforme ABNT, o que equivale a 0,42; 0,250; 0,177; 0,149 e 0,105 mm de diâmetro respectivamente.

Em vibrador ELKA Brasil, uma amostra de 100 g de amido de mandioca retirada do lote homogeneizado foi colocada na peneira superior do conjunto de

peneiras dispostas uma sobre a outra em ordem crescente de tamanho de abertura da malha, deixando por último a bandeja. Em seguida foi regulado o tempo para 15 minutos e velocidade máxima do aparelho para iniciar o teste.

Com a vibração, frações da amostra de 100 g do amido foram depositadas em cada peneira a depender de sua abertura de malha.

Ao final, as frações depositadas em cada peneira mais a da bandeja foram recolhidas e pesadas em balança analítica. Esse processo foi repetido em três ensaios. Depois de feita a média, a porcentagem de material existente em cada faixa de granulometria foi expressa.

2.3 Obtenção e preparo dos frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) para revestimento de película

Os mamões da cultivar ‘Sunrise Solo’ provenientes da fazenda Alvorada, localizada em São Mateus-ES, foram adquiridos por intermédio de um comerciante de frutas e hortaliças de Lavras - MG e transportados para o Laboratório de Microscopia e Análise Ultraestrutural do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras.

Em seguida, os frutos sem sintomas de doenças e sem qualquer dano mecânico foram selecionados e submetidos à lavagem em água corrente com detergente, desinfestação em hipoclorito de sódio (NaClO) a 2% durante 3 minutos, lavagem em água destilada e secagem em papel toalha.

Os frutos possuíam em média peso de 623,5 g e 14,5 cm de comprimento linear (medindo-se do ápice à base).

2.4 Preparo do inóculo

O isolado CML 2339 da Coleção Micológica de Lavras, do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras foi utilizado como inóculo.

Com oito dias de cultivo do isolado em BDA, colocou-se 25 ml de água destilada estéril na placa com a cultura e com um bastão de vidro, espalhou a água por toda a colônia para desprender as estruturas do fungo. Após, a suspensão foi filtrada em gaze dobrada em quatro vezes, para obter somente conídios e fragmentos de hifas.

A leitura da suspensão foi feita por meio de câmara de Neubauer e a concentração foi ajustada para $2,0 \times 10^5$ conídios/mL de *C. gloeosporioides*, adicionando-se 3 gotas de Tween 20, como espalhante adesivo.

2.5 Inoculação dos mamões

Os mamões em estágio 2 de maturação foram inoculados fazendo-se cinco furos com agulha histológica de 1mm de diâmetro e 4mm de profundidade (método 1 de inoculação, cap. 2) em 3 regiões distintas. Por meio de uma pipeta automática foi depositado 15 μ L do inóculo na concentração de $2,0 \times 10^5$ conídios/mL de *C. gloeosporioides* em cada região.

Em seguida, os frutos inoculados foram acondicionados em câmara úmida (item 2.7, cap. 2) por 48 horas.

2.6 Preparo de diferentes concentrações de gel à base de amido de mandioca para revestimento dos mamões

Suspensões de amido de mandioca a 1%; 2%; 3% e 4% (peso/volume) foram aquecidas em forno de micro-ondas a 80 °C, agitadas periodicamente a cada 10 segundos, para obtenção de géis sem grânulos para revestimento dos mamões e formação de película. O tempo de gelatinização no aparelho de micro-ondas variou de 1 a 2 minutos em 300 ml de suspensão de amido.

2.7 Revestimento dos mamões

Para o revestimento dos frutos foi utilizado gel a 25 °C e que se procedeu da seguinte forma: banho por 1 minuto, retirada do excesso (escorrimento) e secagem por 3 minutos, repetidos três vezes nos seguintes tratamentos:

- a) frutos revestidos com película a base de amido de mandioca a 1,0%;
- b) frutos revestidos com película a base de amido de mandioca a 2,0%;
- c) frutos revestidos com película a base de amido de mandioca a 3,0%;
- d) frutos revestidos com película a base de amido de mandioca a 4,0%;
- e) frutos não revestidos com película a base de amido de mandioca (controle)

2.8 Delineamento Experimental

O delineamento foi inteiramente casualizado, onde os tratamentos e frutos foram numerados e distribuídos ao acaso. Foram cinco tratamentos com três repetições, perfazendo um total de 15 mamões.

2.9 Avaliação

A partir do quarto dia de inoculados foram feitas as avaliações com a contagem de lesões de antracnose nos mamões e medições da área da lesão com um paquímetro digital durante 10 dias. Para saber da uniformidade da película nos frutos revestidos, fez-se o teste com adição de tintura de iodo 2% para detectar a presença de amido.

2.10 Análise estatística

O programa SISVAR (FERREIRA, 2011) foi utilizado para a análise estatística dos dados. Os dados foram submetidos à análise de variância aplicando-se o teste de Tukey ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Granulometria das amostras de amido de mandioca

As amostras de amido de mandioca, utilizadas para preparo do gel e posterior formação de película nesse experimento, apresentavam 48,3% de grânulos de 0,42 mm de diâmetro que ficaram retidos na peneira 40; 12,3% de grânulos de 0,149 mm de diâmetro que ficaram retidos na peneira 100; 12% de grânulos de 0,177mm de diâmetro que ficaram retidos na peneira 80; 11% de grânulos de 0,250 mm de diâmetro que ficaram retidos na peneira 60; 11% de grânulos de 0,105 mm de diâmetro que ficaram retidos na peneira 140 e 5,4% de grânulos menores do que 0,105 mm de diâmetro que ficaram retidos na bandeja (Tabela 1).

Tabela 1 Porcentagem de material (amido de mandioca) existente em cada faixa de granulometria.

Peneiras	Porcentagem de material (%)
40	48,3
60	11
80	12
100	12,3
140	11
Bandeja	5,4
Total	100

Com essa faixa granulométrica de material existente na amostra homogeneizada de amido de mandioca utilizada nesse experimento o tempo

gasto para que os grânulos absorvam água, inchem e arrebentem para formação de gel foi de 1 a 2 minutos em volume de 300 ml, a 80°C no micro-ondas.

É importante ressaltar que de acordo com o tamanho do grânulo, o tempo de aquecimento para formação de gel, pode variar, sendo que quanto maior o tamanho, maior será o tempo de aquecimento para que ocorra a gelatinização.

3.2 Porcentagem de incidência

A contagem de lesão iniciou no quarto dia após a inoculação com o surgimento da primeira lesão no tratamento controle com área de aproximadamente 0,21 cm de diâmetro, apresentando forma circular e deprimida (Figura 1).

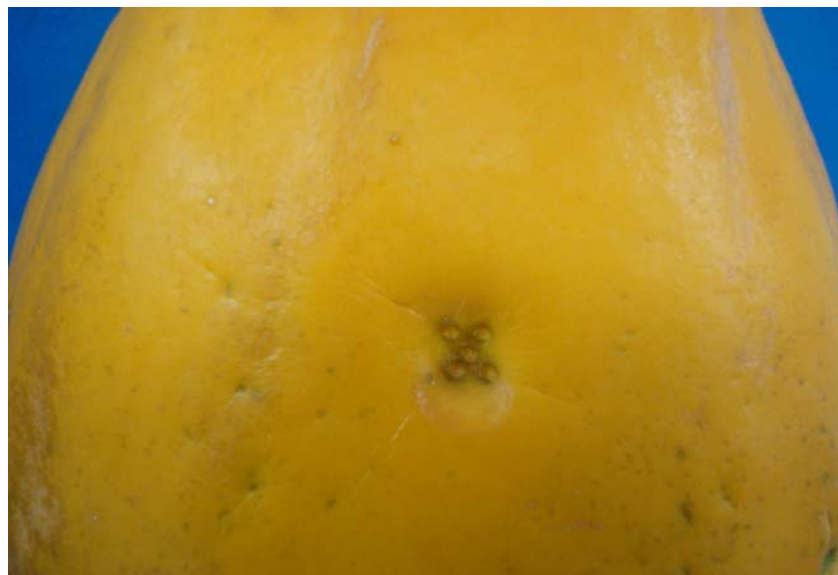


Figura 1 Fotografia de uma lesão de antracnose em mamão controle aos quatro dias de inoculado.

No sexto dia após a inoculação (3ª avaliação) foi possível observar a primeira lesão de antracnose em fruto revestido com película à base de amido de mandioca, em concentração de 1%. Nesse período o tratamento controle apresentava 14,8% de incidência, enquanto que os frutos revestidos com película a 2%, 3% e 4% não apresentavam lesão (Tabela 2).

Tabela 2 Incidência de antracnose em mamões apenas inoculados com *Colletotrichum gloeosporioides* (controle) e revestidos com película à base de amido de mandioca a 1%, 2%, 3% e 4% durante avaliações realizadas em onze dias.

Tratamento	Incidência (%)/Avaliação											Média
	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª	8ª	9ª	10ª	11ª	
Controle	3,7	-	11,1	3,7	-	-	-	-	3,7	-	-	22,2 a
Película 1%	-	-	3,7	-	-	3,7	-	-	-	-	-	7,4 b
Película 2%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Película 3%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Película 4%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Na Tabela 2, observa-se que a incidência no tratamento controle continuou até a 9ª avaliação, com média de 22,2% de incidência de antracnose, enquanto que no tratamento com película a 1% se estabilizou na 6ª avaliação com média de 7,4% de incidência de antracnose. Embora não tenha controlado totalmente a incidência de antracnose, o tratamento com película a 1% ainda obteve um melhor resultado que a testemunha constituída por frutos sem revestimento.

Os tratamentos com película a 2%, 3% e 4% mantiveram sem incidência de antracnose até o final da avaliação.

Pelo teste de Tukey no nível de 5% de significância os tratamentos com película 2%, 3% e 4% não diferiram entre si, porém, tiveram sua eficiência no

controle da antracnose comprovada ao compará-los com a película 1% e com o controle. A película 1% embora não tenha controlado 100% a antracnose como as demais películas, mostrou-se eficaz ao ser comparada com o controle.

A eficiência no controle da incidência de antracnose nos frutos revestidos com película à base de amido de mandioca a 2%, 3% e 4% se deu pela interferência da película sobre o processo de maturação dos frutos, mantendo-os resistentes por mais tempo, pois durante o amadurecimento há decréscimo de compostos fenólicos (CHITARRA; CHITARRA, 2005) e esses compostos geralmente estão associados ao mecanismo de adaptação e resistência da planta ao meio ambiente (ROCHA et al., 2011). O patógeno então inoculado, possivelmente, permaneceu quiescente, não ativando seus fatores de patogenicidade e, com isso, não comprometendo o aspecto visual do fruto. Segundo Prusky (1996), para o processo de decomposição se desenvolver em frutas e hortaliças causadas por fungos patogênicos, estes devem ativar fatores de patogenicidade que macerem tecidos do hospedeiro e liberem os nutrientes necessários para manter o seu desenvolvimento. Para ter sucesso, um agente patogênico também deve ser capaz de superar as defesas do hospedeiro.

3.3 Controle da maturação

Após 48 h na câmara úmida, todos os frutos inoculados com *C. gloeosporioides* e não revestidos pela película tiveram sua maturação avançada, progredindo para o estágio 3. Os frutos então no estágio 3 foram revestidos pela película e tiveram suas vidas pós-colheita prolongadas por conta de seu amadurecimento retardado.

Os frutos revestidos com as películas 3% e 4% avançaram para o estágio 4 de maturação (mamões com 51 a 75% da superfície amarela) e se mantiveram no mesmo estágio de maturação até o final do experimento (14º dia), os frutos

revestidos com película a 2% atingiram o estágio 5 de maturação (mamões com 76 a 100% da superfície amarela), enquanto que os frutos revestidos com película a 1% apresentavam alguns sinais de senescência. Os frutos controle completaram a sua maturação e, com a morte dos tecidos, mostravam-se impróprios para comercialização (Figura 2).

No tratamento com película a 1% a maturação aumentou devido a pouca aderência do gel ao fruto formando uma película desuniforme. A consistência da textura aumenta quanto maior a concentração de amido. Mesmo assim, todos os frutos revestidos com película controlaram a maturação. Isso ocorreu porque com a aplicação do gel de revestimento, tem-se a formação de uma cobertura com preenchimento parcial dos estômatos, reduzindo dessa forma a transferência de umidade (transpiração) e as trocas gasosas (respiração) (ASSIS et al., 2009). No entanto, após 12 dias de revestimento, os frutos com película 3% e 4%, foram mais eficientes no controle da maturação (Figura 2) do que os frutos com película 1% e 2% que apresentaram certo grau de enrugamento (Figura 3), principalmente nas extremidades (ápice e base), mostrando que quanto maior foi a concentração de amido na película, mais eficiente foi o controle da maturação, embora as películas 3% e 4% tenham apresentado resultados semelhantes.

Estes resultados corroboram aos encontrados em Castricini et al. (2010) que utilizaram formulações a base de amido de mandioca em concentrações de 1%, 3% e 5% como revestimento em mamões 'golden' e concluíram que as concentrações a 3 e 5% proporcionam melhores resultados quanto às alterações no amadurecimento dos frutos. Ainda em Castricini et al. (2010), a utilização de revestimento à base de amido de mandioca a 3% e 5% além de influenciar no amadurecimento durante o armazenamento, reduziu a perda de massa fresca.



Figura 2 Fotografia de frutos de mamoeiro inoculados e revestidos com película a base de amido de mandioca nas concentrações 1%, 2%, 3% e 4% mais o controle aos 14 dias de experimento.

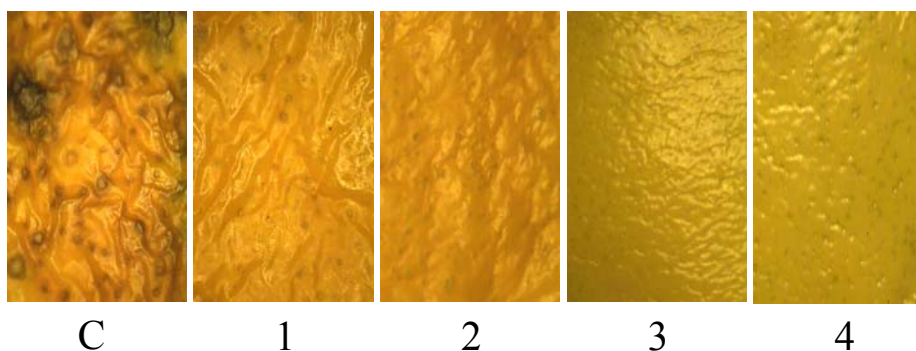


Figura 3 Fotoesteriomicrografias mostrando detalhes da textura do epicarpo de mamões revestidos com película à base de amido de mandioca nas concentrações 1%, 2%, 3% e 4%

Nota: C = Controle.

Ao final da avaliação (12 dias após o revestimento com película), os frutos foram cortados linearmente na horizontal e com isso foi possível notar a firmeza da polpa dos daqueles revestidos com película quando comparados ao controle (Figura 4).

Pereira et al. (2006), ao avaliarem o amadurecimento de frutos de mamão Formosa em temperatura ambiente, revestidos com película comestível à base de amido de mandioca, observaram que os revestimentos com 1% e 3% prolongaram a vida útil pós-colheita por quatro dias sem afetarem a qualidade dos mesmos. Os tratamentos com película retardaram o amadurecimento dos frutos, cujas alterações de cor da casca, acidez titulável, sólidos solúveis e firmeza da polpa foram significativamente mais lentos que os frutos não tratados.

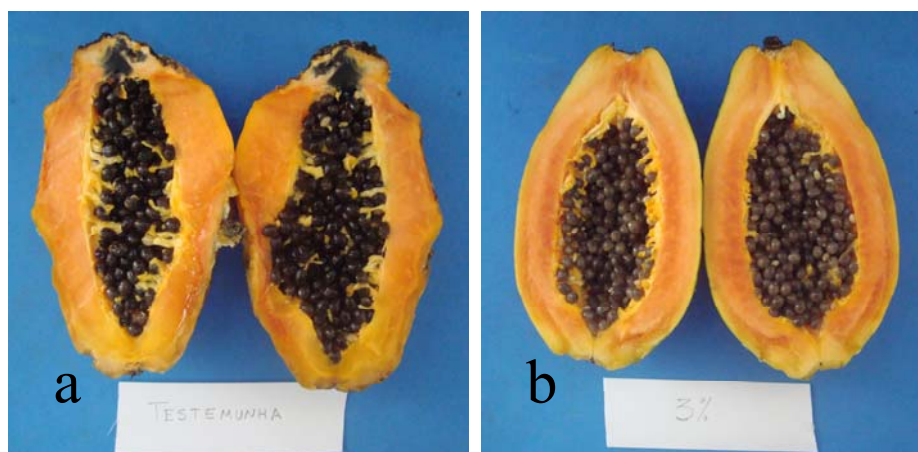


Figura 4 Fotografias de corte longitudinal dos frutos de mamoeiro após 12 dias de revestimento: a) fruto controle (apenas inoculado com *Colletotrichum gloeosporioides*) e b) fruto revestido com película a base de amido de mandioca a 3%.

3.4 Teste do iodo 2%

Pela observação da figura 7, nota-se o escurecimento gradativo de acordo com a concentração de amido de mandioca na formação das películas. O

escurecimento intenso sugerido pela literatura foi atingido no fruto revestido com gel a 3% de amido de mandioca.

De acordo com Rocha et al. (2001), o teste de iodo pela solução aquosa de iodeto de potássio detecta a presença de produto amiláceo por meio do desenvolvimento de uma coloração escura.

Isso ocorre porque em soluções aquosas neutras, a estrutura normal de espiral do produto amiláceo possui a capacidade de interagir com iodo, produzindo complexo de inclusão helicoidal com aproximadamente seis moléculas de amilose por giro, no qual o iodo se encontra na cavidade central da hélice (DENARDIN; SILVA, 2009).

Pelo teste de iodo, observou-se também uma descontinuidade na cor quando os frutos revestidos com película a 1% foram banhados pela solução, mostrando a má aderência desta película. Essa irregularidade da película a 1%, apresentando áreas não tingidas com a tintura do iodo (Figura 5), provando estarem descobertas de película, pode explicar a incidência da doença nos frutos revestidos com esta concentração.

As películas com 2%, 3% e 4% mostraram excelente aderência, pois, ao manusear os frutos revestidos com estas, sua remoção não foi notada. Por meio do teste do iodo 2%, frutos com película de 2%, mesmo totalmente revestidos, não apresentaram uniformidade na coloração, ou seja, algumas áreas foram mais escuras que outras como mostra a Figura 5.

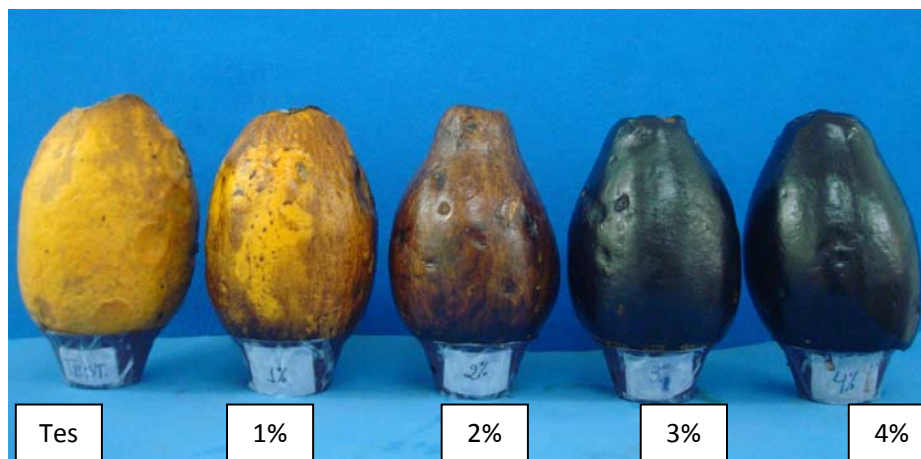


Figura 5 Fotografia de frutos de mamoeiro banhados com iodo 2% para avaliação da uniformidade da distribuição da película de amido de mandioca sobre o fruto.

4 CONCLUSÃO

- a) Películas de amido de mandioca controlam a maturação e a incidência da antracnose em frutos de mamoeiro.
- b) A melhor concentração da película foi de 2%, considerando o menor gasto de produto e sua eficiência de controle da doença.

REFERÊNCIAS

ASSIS, O.B.G. et al. O uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas *in natura* e minimamente processadas. São Carlos: EMBRAPA Instrumentação Agropecuária, 2009. 23p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 29).

AZEREDO, H. M. C. Películas comestíveis em frutas conservadas por métodos combinados: potencial da aplicação. Boletim CEPPA, Curitiba, v. 21, n. 2, p.267-278, 2003.

CASTRICINI, A. et al. Qualidade e amadurecimento de mamões 'golden' revestidos por película de fécula de mandioca. **Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v. 4, n.1, p. 32-41, 2010.

CEREDA, M. P.; BERTOLINI, A. C.; EVANGELISTA, R. M. Uso do amido em substituição às ceras na elaboração de "películas" na conservação pós-colheita de frutas e hortaliças: estabelecimento de curvas de secagem. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 7., 1992, Recife. **Anais...** Recife: UFPE, 1992.p.107.

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

DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.3, p.945-954, maio/jun. 2009.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011.

GODOY, A. E.; CERQUEIRA-PEREIRA, E. C.; JACOMINO, A. P. Efeito de injúrias mecânicas na coloração de mamões 'Golden'. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 20.; ANNUAL MEETING OF THE INTERAMERICAN SOCIETY FOR TROPICAL HORTICULTURE, 54., 2008, Vitória. **Resumos...** Vitória: UFES, 2008.1 CD-ROM.

LUVIELMO, M. M. Revestimentos comestíveis em frutas. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, São Leopoldo, v. 8, n. 1, p. 8-15, 2012.

PEREIRA, M. E. C. et al. Amadurecimento de mamão formosa com revestimento comestível à base de fécula de mandioca. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1116-1119, nov./dez. 2006.

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

ROCHA, R. H. C. et al. Uso do índice de degradação de amido na determinação da maturidade da manga 'Tommy atkins'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 302-305, 2001.

ROCHA, W. S. et al. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 4, p. 1215-1221, 2011.

CAPÍTULO 4 Potencial uso de película à base de amido de mandioca, associada ou não a fungicida e óleos essenciais, no controle pós-colheita da antracnose em mamão

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial de película à base de amido de mandioca, com e sem incorporação de óleos essenciais e fungicida (thiabendazol), na conservação pós-colheita de mamões com ênfase no controle da antracnose, como alternativa de reduzir o uso de agrotóxico. Os frutos selecionados preliminarmente foram inoculados com 15µL na concentração de 2×10^5 conídios/ml de *C. gloeosporioides* em três áreas distintas fazendo-se 5 furos com agulha de metal com 1mm de diâmetro. Após 48h de incubação, os frutos foram revestidos com película à base de amido de mandioca a 3%, com e sem incorporação de fungicida e óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Cymbopogon citratus* (capim limão), *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia), *Cymbopogon martinii* (palmarora) e *Thymus vulgaris* (tomilho). Os frutos do controle negativo (apenas inoculados e não revestidos com película), do controle positivo (inoculado e imersos em calda fungicida thiabendazol a 0,4%) e dos tratamentos revestidos com película, associado ou não a fungicida ou óleos essenciais, foram acondicionados em suporte sobre bancada à temperatura ambiente (~25 °C) para simular condição de comercialização. O delineamento foi inteiramente casualizado, dispondo de 9 tratamentos com três repetições cada. Aos quatro dias de inoculados, iniciou-se a avaliação com contagem de lesões de antracnose durante 11 dias. Ao final dos 14 dias de inoculação, apenas os frutos dos controles (fruto inoculado sem tratamento e tratado com apenas fungicida) apresentaram incidência média de antracnose com 25,9% e 22,2% respectivamente, enquanto que os tratamentos revestidos com película a 3%, associada ou não a fungicida e óleos essenciais, nenhuma lesão de antracnose foi observada, mostrando serem eficientes no controle da antracnose em mamão.

Palavras-chave: Manejo integrado de doenças. Doenças pós-colheita. *Colletotrichum gloeosporioides*.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the potential of film made of cassava starch, with and without incorporating essential oils and fungicide (thiabendazole), in post-harvest papayas with emphasis on control of anthracnose, as an alternative to reduce the use pesticide. The preliminarily selected fruits were inoculated with 15 μ L at a concentration of 2x10⁵ conidia/ml *C. gloeosporioides* in three distinct areas making up 5 holes with metal needle with 1mm diameter. After 48h incubation, the fruits were coated with a film based on cassava starch 3%, with and without incorporation of fungicide and essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (cinnamon), *Cymbopogon citratus* (lemon grass), *Syzygium aromaticum* (clove -India), *Cymbopogon martinii* (palmarora) and *Thymus vulgaris* (thyme). The fruits of the negative control (only inoculated and not film coated), positive control (inoculated and immersed in fungicide thiabendazole 0.4%) and treatments film coated, with or without fungicide or essential oils are packed supported on the bench at room temperature (~ 25 °C) to simulate conditions of commercialization. The completely randomized design, featuring nine treatments with three replicates each. After four days of inoculation, began with the evaluation of anthracnose lesion counts for 11 days. At the end of 14 days of inoculation, the controls only the fruits (fruit inoculated untreated and treated with fungicide alone) had an mean incidence of anthracnose with 25.9% and 22.2% respectively, whereas treatments film coated to 3%, with or without fungicide and essential oils, no anthracnose lesions was observed and shown to be effective in controlling anthracnose in papaya.

Keywords: Integrated management of plant disease. Post-harvest diseases. *Colletotrichum gloeosporioides*.

1 INTRODUÇÃO

O mamão, mais conhecido como papaya em vários países da América ou mesmo ababaia, é o fruto do mamoeiro ou papaeira (OLIVEIRA et al., 2004). O nome papaya, segundo Simão (1998) é uma corruptela da palavra *ababay*, de origem caribenha.

Por conta de suas características sensoriais, nutricionais (fonte dietética de sais minerais, vitaminas e fibras) e propriedades funcionais (digestiva e laxativa), o mamão é de grande aceitabilidade (JIANG et al., 2003; SOUZA, 1998) e o Brasil é grande consumidor e produtor deste fruto.

Embora o Brasil tenha a maior parte de sua produção destinada ao mercado interno, o mamão encontra-se listado na pauta de exportações, com uma tendência de crescimento no mercado futuro (LIMA et al., 2001).

As exigências do mercado externo, e ultimamente do mercado interno, estão cada vez mais evidentes (NERY-SILVA et al., 2007) e a aparência e sanidade do fruto são as características mais importantes para garantir a aceitação nesses mercados.

O mamão requer cuidados especiais, pois em qualquer grau de maturação, ele é suscetível a danos mecânicos como abrasão, impacto, compressão e cortes (PAULL et al., 1997; QUITANA; PAULL, 1993) e estas injúrias podem servir como porta de entrada para diversos patógenos, causando incidência de doenças pós-colheita que são fatores limitantes à exportação e responsáveis por consideráveis perdas na cultura de mamão no Brasil.

Os fungos, por sua vez, são os principais causadores de doenças pós-colheita em frutos tropicais (SILVEIRA et al., 2005) e a antracnose, causada por *Colletotrichum* spp, é uma das doenças fúngicas mais comuns e importantes em frutíferas, ocorrendo tanto nas fases de desenvolvimento vegetativo como

reprodutivo de diversos hospedeiros, sendo mais severa quando afeta os frutos (FREEMAN; KATAN; SHABI, 1998).

Em mamão, o agente causal de antracnose, assim como, em outras frutas tropicais no Brasil como abacate, acerola, caju, goiaba, manga e maracujá, tem sido referido como *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. e Sacc. (MENEZES, 2002) e é provável que ocorra em todas as regiões tropicais e subtropicais onde o mamoeiro é cultivado (LIBERATO; ZAMBOLIM, 2002).

O método mais comum de controle deste patógeno é o com uso de fungicidas inorgânicos (FERREIRA et al., 2009, 2010; MACKENZIE; MERTELY; PERES, 2009; VIVAS et al., 2011) que comparado aos outros métodos é relativamente fácil e que frequentemente propicia resultados efetivos. Embora também garanta proteção durante o armazenamento prolongado do fruto devido a seu efeito residual, o agrotóxico tem sido considerado um problema, visto que alguns tratamentos afetam o processo de amadurecimento natural dos frutos e pode levar ao aparecimento de variações resistentes do fungo devido ao seu uso permanente (GAMAGAE et al., 2003).

Produtos naturais extraídos de plantas com propriedades antibióticas constituem uma alternativa viável e desejável em relação ao método convencional, representando menor risco à saúde humana e ao ambiente, como os óleos essenciais largamente utilizados especialmente na indústria farmacêutica pelas propriedades antibacteriana, antifúngica e inseticida, já observados na natureza (BAKKALI et al., 2008).

Por também possuir padrão respiratório climatérico, apresentando atividade metabólica normal após a colheita (CHITARRA; CHITARRA, 2005), cujas características são de aumento da taxa respiratória, produção autocatalítica de etileno e alterações organolépticas substanciais durante o seu amadurecimento, tais como cor, sabor, amaciamento e produção de compostos voláteis aromáticos, o mamão se caracteriza por ser altamente perecível em

temperatura ambiente (OLIVEIRA, 2002), apresentando, com isso, pequena vida útil após a colheita.

Devido à alta perecibilidade, vários métodos têm sido utilizados para conservação do mamão, no entanto, o uso de películas biodegradáveis tem ganhado muito espaço neste mercado, principalmente como alternativa para reduzir impactos ambientais causados pelas embalagens plásticas. Neste segmento, o amido e/ou fécula tem recebido especial atenção e as pesquisas com este polímero se intensificaram nos últimos anos, pois o amido e/ou fécula possui baixo custo, abundância e alta aplicabilidade.

Diante do exposto, com o presente trabalho objetivou-se avaliar o potencial de película a base de amido de mandioca, com e sem incorporação de óleos essenciais e fungicidas, na conservação pós-colheita, de frutos de mamoeiro com ênfase no controle da antracnose.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de condução dos trabalhos

O experimento foi realizado no Laboratório de Microscopia e Análise Ultraestrutural (LME) do Departamento de Fitopatologia (DFP) da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.

2.2 Seleção e obtenção dos óleos essenciais (OE)

Os óleos essenciais (OE) foram selecionados mediante potencial de inibição ao *Colletotrichum gloeosporioides*, observado em testes *in vitro* e *in vivo* em frutos de goiabeira descritos por Roswalka et al. (2010) (Tabela 1).

Os óleos foram fornecidos pela Chamel (Indústria e Comércio de Produtos Naturais, Paraná-Brasil) com exceção do *Cymbopogon martinii* (palmarosa) que foi adquirido em comércio do município de Lavras-MG.

Tabela 1 Óleos essenciais (OE) selecionados mediante potencial de inibição ao *Colletotrichum gloeosporioides* ‘in vitro’

Nome científico	Nome comum
<i>Cymbopogon martinii</i>	Palmarosa
<i>Syzygium aromaticum</i>	Cravo-da-Índia
<i>Thymus vulgaris</i>	Tomilho
<i>Cymbopogon citratus</i>	Capim-limão
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Canela

2.3 Obtenção do fungicida

O fungicida (TectoSc), como ingrediente ativo de thiabendazol, foi doado pela Syngenta.

2.4 Obtenção e preparo dos frutos de mamoeiro (*Caricapapaya L.*) para revestimento de película

Os mamões da cultivar ‘Sunrise Solo’ provenientes da fazenda Alvorada, localizada em São Mateus-ES, foram adquiridos por intermédio de um comerciante de frutas e hortaliças de Lavras-MG e transportados para o Laboratório de Microscopia e Análise Ultraestrutural do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras.

Em seguida, os frutos sem sintomas de doenças e sem qualquer dano mecânico foram selecionados e submetidos à lavagem em água corrente com detergente, desinfestação em hipoclorito de sódio (NaClO) a 2% durante 3 minutos, lavagem em água destilada e secagem em papel toalha.

Os frutos pesavam em média 606,4g e 14,75 cm de comprimento (medindo-se do ápice até a base).

2.5 Preparo do inóculo

O isolado CML 2339 da Micoteca do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras foi utilizado para inóculo.

Aos 17 dias de cultivo do isolado de *C. gloeosporioides* (2339) em BDA, colocou-se 25 ml de água destilada estéril na placa e com auxílio de uma alça de Drigalsky de vidro, espalhou-se a água por toda a colônia para

desprender as estruturas do fungo. Após, a suspensão foi filtrada em gaze dobrada em quatro vezes, para obter somente conídios e fragmentos de hifas.

Em seguida, fez-se a leitura da suspensão por meio de câmara de Neubauer e a concentração foi ajustada para $2,0 \times 10^5$ conídios/ml. Como espalhante adesivo, adicionou-se 3 gotas de Tween 20.

2.6 Inoculação nos mamões

Os mamões em estágio 2 de maturação foram inoculados fazendo-se cinco furos com agulha histológica de 1 mm de diâmetro e 4 mm de profundidade (método 1 de inoculação, cap. 2) em 3 regiões distintas. Por meio de uma pipeta automática foi depositado 15 μ L do inóculo na concentração de $2,0 \times 10^5$ conídios/ml de *C. gloeosporioides* em cada região.

Em seguida, os frutos inoculados foram acondicionados em câmara úmida (item 2.7, cap. 2) por 48 horas.

2.7 Preparo do gel à base de amido de mandioca a 3% para revestimento dos mamões

A suspensão de amido de mandioca a 3,0% (peso/volume), foi aquecida em aparelho de micro-ondas a 80°C, sob agitação periódica de 10 em 10 segundos, por 1 a 2 minutos em 300 ml, para obtenção de gel sem grânulos para revestimento dos mamões e formação de película.

2.8 Incorporação dos óleos essenciais e fungicida ao gel para revestimento dos mamões

Os óleos essenciais, pré-selecionados, a 0,1% e o fungicida a 0,4% foram incorporados ao gel, individualmente, com auxílio de uma pipeta automática após o resfriamento do mesmo a temperatura ambiente (~25 °C), para o revestimento dos mamões.

2.9 Revestimento dos mamões

Para o revestimento dos frutos foi utilizado gel a 25 °C e que se procedeu da seguinte forma: banho por 1 minuto, retirada do excesso (escorrimento) e secagem por 3 minutos, repetida três vezes.

Para o controle negativo foi feita apenas a inoculação nos frutos e para o controle positivo foi feita a inoculação e imersão dos frutos em uma calda fungicida por um período de 1 minuto.

Os tratamentos foram:

- a) frutos inoculados e não revestidos com película à base de amido de mandioca (controle positivo);
- b) frutos inoculados e imersos em calda fungicida thiabendazol (controle com fungicida);
- c) frutos inoculados e revestidos com película à base de amido de mandioca a 3% (controle com amido);
- d) frutos inoculados e revestidos com película à base de amido de mandioca a 3%, com incorporação de OE de palmarosa a 0,1%.

- e) frutos inoculados e revestidos com película à base de amido de mandioca a 3%, com incorporação de OE de cravo-da-índia a 0,1%.
- f) frutos inoculados e revestidos com película à base de amido de mandioca a 3%, com incorporação de OE de tomilho a 0,1%.
- g) frutos inoculados e revestidos com película à base de amido de mandioca a 3%, com incorporação de OE de capim limão a 0,1%.
- h) frutos inoculados e revestidos com película à base de amido de mandioca a 3%, com incorporação de OE de canela a 0,1%.
- i) frutos inoculados e revestidos com película à base de amido de mandioca a 3%, com incorporação de fungicida thiabendazol a 0,4%.

2.10 Delineamento Experimental.

O delineamento foi inteiramente casualizado, onde os tratamentos e frutos foram numerados e distribuídos ao acaso. Foram nove tratamentos com três repetições, perfazendo um total de 27 mamões.

2.11 Avaliação

Com quatro dias de inoculação foi feita a avaliação pelo número de lesões de antracnose nos mamões por 11 dias.

2.12 Análise estatística

O programa SISVAR (FERREIRA, 2011) foi utilizado para a análise estatística dos dados. Os dados foram submetidos à análise de variância aplicando-se o teste de Tukey ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira lesão de antracnose foi observada aos quatro dias da inoculação em fruto do controle negativo com área de aproximadamente 0,4 cm de diâmetro, apresentando forma circular e deprimida de cor levemente amarronzada (Figura 1).



Figura 1 Fotografias de lesões de antracnose em mamão aos quatro dias de inoculado com *Colletotrichum gloeosporioides*: a) detalhe da doença e b) visão geral do fruto

Ao final dos 14 dias de experimento, apenas os frutos dos controles negativos e positivos apresentaram incidência de antracnose com médias de

“Tabela 2, conclusão”

Tratamento	Incidência (%)/Avaliação											
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a	11 ^a	Média
Pel. 3% + fungicida	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pel. 3% + Palmarosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pel. 3% + Tomilho	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Pelo teste de Tukey a 5%, o controle positivo (apenas calda fungicida) com média de 22,2% de incidência de antracnose diferiu estatisticamente do controle negativo (25,9% de incidência média de antracnose), porém a sua eficiência não foi comprovada ao ser comparado aos tratamentos com frutos revestidos de película à base de amido de mandioca a 3%. Os tratamentos com película à base de amido de mandioca diferiu estatisticamente do controle negativo e do controle positivo pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) por não apresentarem incidência de doença, mostrando, mais uma vez, sua alta eficiência no controle de antracnose em mamão.

Maqbool et al. (2011) investigaram goma arábica em combinação com óleos essenciais de canela e capim limão para controle da antracnose em mamão e banana, e, verificaram que a goma arábica sozinha (10%) não apresentou efeito fungicida, enquanto que combinada a óleo essencial de canela em concentração de 0,4% reduziu em mais de 70% a incidência de antracnose causada por *C. musae* e *C.gloeosporioides* inoculados artificialmente em banana e mamão respectivamente, observando também um atraso no amadurecimento destes frutos.

Pelos resultados encontrados em Maqbool et al. (2011), infere-se que a película à base de amido de mandioca utilizada neste trabalho controlou a

antracnose indiretamente por manter a resistência do mamão por mais tempo por meio do controle da maturação, já que não há comprovação química de que o amido de mandioca tenha efeito fungitóxico. Em contrapartida, Roswalka et al. (2010) observaram, por meio de microscópio eletrônico de transmissão, a desorganização celular e a degradação de conídios de *C. gloeosporioides* promovidos pela ação fungitóxica dos mesmos óleos aqui testados. Nesse caso, os óleos essenciais vêm a contribuir no controle da antracnose em mamão de forma sinérgica, quando combinado com a película, por ser um fungicida natural.

4 CONCLUSÕES

- a) A película à base de amido de mandioca a 3%, por si só, controla a maturação e a antracnose em mamão.
- b) Óleos essenciais e fungicida, associados à película de amido de mandioca, causam um efeito sinérgico, potencializando ainda mais o controle da antracnose em mamão.

REFERÊNCIAS

- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils: a review. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.46, n.2, p. 446-475, 2008.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.
- FARIA, R. N. et al. Efeitos da imposição de barreiras técnicas e fitossanitárias nas exportações brasileiras de mamão. **Revista de Economia e Agronegócio**, Viçosa, MG, v.3, n.2, p.151-172, 2005.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011.
- FERREIRA, J. B. et al. Sensibilidade de *Colletotrichum gloeosporioides* (mancha manteigosa do cafeeiro) a diferentes concentrações de fungicidas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, p. 2052-2058, 2009. Edição especial.
- FERREIRA, J. B. et al. Transmissibilidade e efeito do tratamento de sementes de cafeeiros com mancha manteigosa (*C. gloeosporioides*). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 1, p.101-108, jan./fev. 2010.
- FREEMAN, S.; KATAN, T.; SHABI, E. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 82, n. 6, p. 596-605, 1998.
- GAMAGAE, S. U. et al. Use of sodium bicarbonate and *Candida oleophila* to control anthracnose in papaya during storage. **Crop Protection**, Guildford, v. 22, n. 5, p. 775-779, June 2003.
- JIANG, C. M. et al. Pectinesterase and polygalacturonase activities and textural properties of rubbery papaya (*Carica papaya* L.). **Journal of Food Science**, New York, v.68, n.5, p. 1590-1594, 2003.

LIBERATO, J. R.; ZAMBOLIM, L. Controle das doenças causadas por fungos, bactérias e nematóides em mamoeiro. In: ZAMBOLIM, L. et al. (Ed.). **Controle de doenças de plantas fruteiras**. Viçosa, MG: UFV, 2002. v. 2, p. 1023-1138.

LIMA, R. C. A. et al. Etiologia e estratégias de controle de viroses do mamoeiro no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 4, p. 689-702, dez. 2001.

MACKENZIE, S.J.; MERTELY, J. C.; PERES, N. A. Curative and protectant activity of fungicides for control of crown rot of strawberry caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Plant Disease**, Saint Paul, v.93, n. 8, p.815-820, Aug. 2009.

MAQBOOL, M. et al. Postharvest application of gum arabic and essential oils for controlling anthracnose and quality of banana and papaya during cold storage. **Postharvest Biology and Technology**, Washington, v.62, n. 1, p. 71-76, Oct. 2011.

MENEZES, M. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, p.523-524, 2002. Suplemento.

NERY-SILVA, F. A. et al. Metodologia de inoculação de fungos causadores da podridão peduncular em mamão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 5, p. 1374-1379, set./out. 2007.

OLIVEIRA, A. M. G. et al. **Mamão para exportação: aspectos técnicos da produção**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 52 p. (Frupe, 9).

OLIVEIRA, J. J. V. Resíduos de benomil em mamão (*Carica papaya* L.) tratado em pós-colheita. **Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 12, n. 1, p. 51-58, jan./fev. 2002.

PAULL, R.E. et al. Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L.). **Postharvest Biology and Technology**, Washington, v.11, n. 3, p.165-179, July 1997.

QUINTANA, M.E.G.; PAULL, R.E. Mechanical injury during postharvest handling of solo papaya fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.118, n. 5, p.618-622, Sept. 1993.

ROSWALKA, L.C. et al. Ultrastructural study of conidia of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum musae* treated with essential oils. **Interciencia**, Caracas, v. 35, n. 12, p. 912-915, 2010.

SILVEIRA, N.S.S. et al. Doenças fúngicas pós-colheita em frutas tropicais: patogênese e controle. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.18, n.4, p.283-299, 2005.

SIMÃO, S. Mamoeiro. In: Simão, S. **Tratado de fruticultura**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 541-575.

SOUZA, G. **Características físicas, químicas e sensoriais do fruto de cinco cultivares de mamoeiro (*Carica papaya* L.) produzidas em Macaé, RJ**. 1998. 68 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual Norte Fluminense, Campos dos Goitacazes, 1998.

VIVAS, M. et al. Testers for combining ability and selection of papaya hybrids resistant to fungal diseases. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 11, n. 1, p. 36-42, 2011.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A preocupação com a qualidade e a inocuidade dos alimentos pelo poder público e a preservação do ambiente, fazem com que a película à base de amido de mandioca seja um método de controle de doenças pós-colheita promissor em substituição ao uso abusivo de agrotóxicos.

Com esse trabalho, o objetivo de atender as exigências do consumidor em ingerir um alimento seguro e as imposições de barreiras fitossanitárias por países importadores, torna-se viável a todos os produtores de frutas do Brasil.

O amido de mandioca é produzido e encontrado em todo território nacional, servindo de matéria prima para indústrias de alimento e como produto de alimentação.

Por não ser tóxica, a película à base de amido de mandioca pode ser ingerida juntamente com o produto revestido, não causando efeito nocivo, ou removida com água.

Nesse trabalho, verificou-se que a película além de contribuir para uma melhoria no aspecto visual conferindo brilho e transparência, não interferindo na aparência natural dos frutos, mostrou-se altamente eficiente no controle da antracnose e da maturação, o que fez aumentar ainda mais a vida útil do mamão.

O uso de amido de mandioca como película de revestimento para evitar contaminação ou oxidação em frutas é recente. Para controle de doenças de plantas pós-colheita nada foi publicado, o que torna esse trabalho ainda mais importante.

Em trabalhos futuros e dependendo do objetivo a ser estudado, deve-se levar em conta a distância do mercado, tipo de mercado e tempo para comercialização do mamão, pois de acordo com esses fatores, a determinação do estágio de maturação para colheita varia. Nos Estados Unidos, só são aceitos frutos de mamão no estágio 2 de maturação (FARIA et al., 2005), enquanto que

para o mercado interno varia conforme a distância do mercado consumidor e o tempo de comercialização da fruta. Para método de inoculação não existem entraves, sendo o método 1 de inoculação recomendado para os três estádios de maturação aqui testados.