Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

**Doenças pós-colheita em citros e caracterização da população fúngica em
packinghouses e na Ceagesp-SP**

Ivan Herman Fischer

**Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor em Agronomia. Área de concentração:
Fitopatologia**

Piracicaba

2007

Ivan Herman Fischer
Engenheiro Agrônomo

Doenças pós-colheita em citros e caracterização da população fúngica em *packinghouses* e na
Ceagesp-SP

Orientadora:

Prof^a. Dra. **LILIAN AMORIM**

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor em Agronomia. Área de concentração:
Fitopatologia

Piracicaba

2007

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Fischer, Ivan Herman

Doenças pós-colheita em citros e caracterização da população fúngica em packinghouses e na Ceagesp-SP / Ivan Herman Fischer. - - Piracicaba, 2007.
88 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.
Bibliografia.

1. Frutas cítricas 2. Mofo verde 3. Podridão – Doença de planta 4. Pós-colheita I. Título

CDD 634.3

Aos meus queridos pais, Antonio e Mirna (*in memoriam*), meu irmão
Heitor e minha companheira Fernanda, pela confiança, incentivo,
compreensão e paciência, e por serem meu exemplo de vida, com
todo amor,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A DEUS por ter me dado a oportunidade de viver e realizar meus sonhos;

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, especialmente ao Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, pela oportunidade concedida à realização do curso;

À professora Dra. Lilian Amorim pela valiosa orientação, ética profissional, paciência, exigências e cobranças dos deveres cumpridos e incentivos na vida profissional;

Ao professor Dr. Hiroshi Kimati (*in memorian*) pelos valiosos ensinamentos acadêmicos, conselhos e lições de vida;

Ao CNPq por investir nos novos pesquisadores brasileiros;

Aos professores do Setor de Fitopatologia pelos valiosos ensinamentos e cobranças nas disciplinas;

Aos funcionários, em especial Silvia de A. Lourenço e Maria H. Duarte de Moraes pela amizade, paciência e colaboração direta nos trabalhos desenvolvidos;

Aos pesquisadores Marcel Bellato Spósito, Cristina S. Motta e Ludwig H. Pfenning pela colaboração e apoio na realização dos experimentos;

Aos colegas da Pós-graduação da Fitopatologia: Silvio, Fabrício, Davi, Júlio, Alexandre, Rock, Raquel e demais amigos, pela ajuda e por tornar a jornada do doutorado mais leve e alegre;

Aos secretários da Pós-Graduação em Fitopatologia, Jefferson e Linda pela preciosa ajuda com a parte burocrática do curso e pela amizade;

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1 INTRODUÇÃO.....	9
Referências	11
2 DOENÇAS PÓS-COLHEITA EM CITROS PROCEDENTES DE <i>PACKINGHOUSES</i> E DA CEAGESP-SP.....	13
Resumo	13
Abstract.....	14
2.1 Introdução.....	15
2.2 Desenvolvimento	16
2.2.1 Revisão Bibliográfica	16
2.2.2 Material e Métodos.....	21
2.2.2.1 Caracterização dos danos pós-colheita em citros	22
2.2.2.2 Análises físico-químicas dos frutos cítricos	24
2.2.2.3 Pontos críticos de impacto em linhas de beneficiamento de citros	25
2.2.3 Resultados.....	26
2.2.3.1 Doenças pós-colheita de frutos cítricos.....	26
2.2.3.1.1 <i>Packinghouse</i> de Matão.....	26
2.2.3.1.2 <i>Packinghouse</i> de Engenheiro Coelho	28
2.2.3.1.3 Ceagesp.....	33
2.2.3.2 Injúrias em frutos cítricos.....	35
2.2.3.2.1 <i>Packinghouse</i> de Matão.....	35
2.2.3.2.2 <i>Packinghouse</i> de Engenheiro Coelho	38
2.2.3.2.3 Ceagesp.....	42
2.2.3.3 Relação entre parâmetros físico-químicos e incidência de podridões.....	43
2.2.3.4 Pontos críticos de impacto em linhas de beneficiamento de citros	44
2.2.4 Discussão	46
2.3 Conclusões.....	53

Referências	54
3 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO FÚNGICA DE <i>PACKINGHOUSES</i> CITRÍCOLAS E DA CEAGESP-SP	60
Resumo	60
Abstract.....	61
3.1 Introdução	62
3.2 Desenvolvimento	63
3.2.1 Revisão Bibliográfica	63
3.2.2 Material e Métodos	66
3.2.2.1 Caracterização da micoflora de <i>packinghouses</i> e da Ceagesp.....	66
3.2.2.2 Determinação de isolados de <i>Penicillium</i> spp. resistentes a fungicidas	68
3.2.3 Resultados.....	70
3.2.3.1 População fúngica em ambiente e superfície de <i>packinghouse</i> de Matão.....	70
3.2.3.2 População fúngica em ambiente e superfície de <i>packinghouse</i> de Engenheiro Coelho.....	72
3.2.3.3 População fúngica em ambiente da Ceagesp.....	73
3.2.3.4 Isolados de <i>Penicillium</i> spp. resistentes	74
3.2.4 Discussão	79
3.3 Conclusões.....	83
Referências	84

RESUMO

Doenças Pós-Colheita em Citros e Caracterização da População Fúngica em *Packinghouses* e na Ceagesp-SP

Este trabalho objetivou caracterizar os danos pós-colheita em frutos de laranja ‘Valência’ e de tangor ‘Murcott’, destinados à exportação, e em frutos de laranjas ‘Pêra’, ‘Lima’ e ‘Natal’ e de tangor ‘Murcott’, destinados ao mercado interno, após diferentes etapas do beneficiamento em *packinghouse*, em 2004 e 2005 e na Ceagesp-SP em 2006; identificar os pontos críticos e a magnitude de impacto em linhas de beneficiamento de citros dos *packinghouses*; e caracterizar a micoflora ambiental nos *packinghouses* e nos pontos de revenda de atacadistas da Ceagesp, assim como a micoflora da superfície de equipamentos e instalações e a presença de isolados de *Penicillium* spp. resistentes a fungicidas nos *packinghouses*. Frutos cítricos foram coletados na chegada ao *packinghouse*, após a pré-lavagem, após o desverdecimento, na banca, no palete e na Ceagesp, e armazenados durante 14 a 21 dias a 25°C e 85-90% de UR. A incidência de injúrias foi avaliada visualmente a cada três dias. Para a avaliação da magnitude de impactos nos pontos de transferência da linha de beneficiamento empregou-se uma esfera instrumentada com registrador de aceleração (G). A micoflora ambiental foi amostrada mediante o método gravimétrico, com placas de Petri, contendo meio batata-dextrose-ágar, abertas por dois minutos. A micoflora de superfície de equipamentos e instalações foi amostrada mediante placas Rodac. Observou-se baixa incidência (<3,5%) de podridões nos frutos destinados à exportação. As principais podridões encontradas em laranja ‘Valência’ e tangor ‘Murcott’ foram a podridão peduncular de *Lasiodiplodia* e a antracnose, respectivamente. Nos frutos para o mercado interno a incidência de podridões atingiu valores médios entre 12,8% e 36,2%, ao final do armazenamento, sendo o bolor verde a principal doença pós-colheita nos diferentes frutos cítricos. As injúrias mecânicas de oleocelose foram crescentes com o beneficiamento até a banca de embalagem e a aplicação de cera reduziu a incidência de frutos murchos. Na avaliação dos impactos na linha de beneficiamento do *packinghouse* de exportação, 95% dos impactos variaram entre 30-95 G. Já no *packinghouse* de mercado interno, 94% dos impactos variaram entre 24-131 G. A população fúngica no ambiente e na superfície do *packinghouse* de exportação foi de 12,3 e 52,3 ufc/placa, respectivamente, enquanto a população fúngica no *packinghouse* de mercado interno foi de 46,3 e 68,2 ufc/placa, respectivamente. Posição intermediária aos *packinghouses* foi observada na Ceagesp, com uma população fúngica ambiental de 25,3 ufc/placa. *Cladosporium* e *Penicillium* foram os gêneros fúngicos mais abundantes. A contaminação de “zonas limpas” nos *packinghouses* (lavagem dos frutos, banca, caixa e contêiner) não foi substancialmente menor que nas “zonas sujas” (recepção dos frutos e primeira seleção). A porcentagem de isolados de *P. digitatum* resistentes a tiabendazol foi de 25,9 no ambiente e de 30,1 na superfície do *packinghouse* de exportação, enquanto que para imazalil foi de 1,5 no ambiente e de 16,0 na superfície. No *packinghouse* de mercado interno, a porcentagem de isolados de *P. digitatum* resistentes a tiabendazol foi de 51,9 no ambiente e de 39,2 na superfície, enquanto que para imazalil foi de 0,1 e 0,9, respectivamente.

Palavras chaves: *Citrus*; Doenças fúngicas; *Penicillium digitatum*

ABSTRACT

Postharvest diseases in citrus and characterization of the fungal population in packinghouses and at Ceagesp-SP

The purposes of this work were a) to characterize postharvest injuries in ‘Valência’ oranges and ‘Murcott’ tangors aimed at the external market, and in ‘Pêra’, ‘Lima’, ‘Natal’ oranges and ‘Murcott’ tangors aimed at the internal market after different processing stages in a packinghouse in 2004 and 2005, and at Ceagesp-SP in 2006; b) to identify critical points and impact extent on processing lines in packinghouses; c) to characterize the environmental mycoflora in packinghouses and in retail points at Ceagesp; d) to characterize the superficial mycoflora of equipment and facilities, and e) to characterize the presence of isolated *Penicillium* spp. resistant to fungicides in packinghouses. Fruits were collected at the packinghouse, at their arrival, after pre-washing and degreening, from the packing table, from the pallet and at Ceagesp. They were stored for 14 to 21 days at 25°C and 85-90% RH. The incidence of injuries was visually evaluated every three days. An instrumented sphere with acceleration register (G) was used to evaluate the extent of impacts at the transference points of the citrus processing line. The environmental mycoflora was sampled according to the gravimetric method, using Petri dishes containing potato-dextrose-agar medium opened for two minutes. The superficial mycoflora on equipment and facilities was sampled with Rodac plates. There was low rot incidence (under 3.5%) in fruits aimed at the external market. The main disease affecting ‘Valência’ oranges and ‘Murcott’ tangors were *Lasiodiplodia* stem-end rot and anthracnose, respectively. Rots averaged between 12.8% and 36.2% at the end of the storage period in fruits aimed at the internal market, and green mold was the main postharvest disease. Oleocellosis increased along the processing stages until the arrival of fruits at the packing table. Wax application reduced the incidence of wilted fruits. Ninety-five percent of the impacts in the packinghouse processing line in fruits aimed at the external market ranged between 30 and 95 G, while 94% of the impacts in fruits aimed at the internal market ranged between 24 and 131 G. The environmental and the packinghouse superficial fungal population in fruits aimed at the external market were 12.3 and 52.3 cfu/plate, respectively, while these populations in fruits aimed at the internal market were 46.3 and 68.2 cfu/plate, respectively. Intermediate values in relation to packinghouses were observed at Ceagesp, where the environmental fungal population was 25.3 cfu/plate. *Cladosporium* and *Penicillium* were the most prevailing genera of fungi. The contamination of “clean zones” in the packinghouses (washing of fruits, packing table, boxes and containers) was not substantially lower than contamination in “dirty zones” (reception of fruits and first selection). The percentage of *P. digitatum* isolates resistant to thiabendazole was 25.9 in the environment and 30.1 on the packinghouse surface for fruits aimed at the external market, while the corresponding data concerning isolates resistant to imazalil were 1.5 and 16.0, respectively. In the packinghouse of fruits aimed at the internal market, the percentage of isolates of *P. digitatum* resistant to thiabendazole was 51.9 in the environment and 39.2 on the packinghouse surface, while the corresponding data concerning isolates resistant to imazalil were 0.1 and 0.9, respectively.

Keywords: *Citrus*; Fungal diseases; *Penicillium digitatum*

1 INTRODUÇÃO

O Brasil destacou-se em 2005 como o terceiro maior produtor mundial de frutas, com 41,2 milhões de toneladas (FAO, 2006), ocupando a primeira colocação em frutos cítricos, com aproximadamente 19 milhões de toneladas (FNP, 2007). A maioria dos estados brasileiros cultiva frutas cítricas. Entretanto, São Paulo domina tanto a produção de laranja quanto a de tangerinas e de lima ácida ‘Tahiti’ (*Citrus latifolia* Tan.). A instalação de um parque industrial voltado ao mercado externo de suco e a proximidade das metrópoles nacionais de maior poder aquisitivo tornaram São Paulo o maior pólo mundial citrícola (BOTEON; NEVES, 2005).

Ultimamente, grande atenção vem sendo dispensada às técnicas de manuseio e conservação pós-colheita de frutos ao invés de um maior empenho à produção, pois os danos que ocorrem nesta fase podem atingir 60%, em países em desenvolvimento (VILAS BOAS, 2002). As injúrias que geram os danos em pós-colheita podem ser mecânicas, fisiológicas e provocadas por patógenos, sendo decorrentes de práticas inadequadas de condução da cultura no campo e durante a colheita, transporte e/ou embalagem (KLUGE et al., 2001). Apesar de injúrias mecânicas, por si só, não inviabilizarem o consumo do fruto, elas podem servir de porta de entrada a patógenos, predispondo os frutos às doenças pós-colheita. Segundo Gullino (1994), as doenças fúngicas ocorrem com maior frequência e atividade, sendo responsáveis por 80 a 90% do total de danos ocasionados por fitopatógenos. Em frutos de laranja, esses fitopatógenos causam consideráveis danos pós-colheita, podendo atingir 50% na fase de comercialização (ECKERT, 1993).

As doenças pós-colheita apresentam sintomas após a colheita. A infecção pode ocorrer após a colheita ou no campo, durante a ontogenia da fruta, e permanecer latente, manifestando-se somente após a colheita, com a maturação fisiológica (CAPPELLINI; CEPONIS, 1984). A penetração do patógeno no hospedeiro pode ocorrer diretamente via epiderme, pela cutícula intacta, bem como por ferimentos ou aberturas naturais na superfície dos frutos, como as lenticelas (ECKERT, 1980; ZAMBOLIM et al., 2002). Mudanças fisiológicas no fruto, manuseio incorreto ou condições ambientais adversas podem promover a transição da fase de quiescência para agressiva, promovendo o desenvolvimento da doença (CAPPELLINI; CEPONIS, 1984; JARVIS, 1994). A suspensão da quiescência em alguns patógenos pós-colheita pode ser, ainda, o

resultado do declínio na concentração de componentes antifúngicos (DROBY; JACOBY; GOLDMAN, 1987; PRUSKY; KOBILER; JACOBY, 1988; PRUSKY; KEEN, 1993) e/ou de mudanças anatômicas na estrutura da fruta (BROWN; WILSON, 1968).

As infecções ativas ou não latentes ocorrem quando os frutos já iniciaram ou completaram o processo de maturação, progredindo na medida em que as condições ambientais favorecem o crescimento do patógeno. Nessas infecções, a penetração se processa principalmente por ferimentos causados durante as operações de colheita, armazenamento e comercialização (CAPPELLINI; CEPONIS, 1984).

A quantificação de danos pós-colheita visa facilitar a tomada de decisão por parte do produtor, do atacadista e do varejista quanto à necessidade de investimento em medidas de prevenção, pois só é possível decidir se a adoção de uma medida de controle será lucrativa ou não após quantificar os danos causados por determinada anomalia (BARITELLE; GARDNER, 1984).

O controle químico tem se mostrado o método mais eficiente na redução de infecções fúngicas. Entretanto, o surgimento de resistência nas populações de patógenos tem contribuído para a diminuição da eficiência desses produtos (SPOTTS; CEVANTES, 1986; DROBY; CHALUTZ, 1994), devendo-se aliar o controle químico a outros métodos que potencializam sua eficiência, destacando-se o uso da refrigeração, tratamento térmico, radiação e atmosferas controlada e modificada (ZAMBOLIM et al., 2002).

Desta forma, o presente trabalho teve por objetivos: a) caracterizar os danos pós-colheita em frutos de laranja doce [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] ‘Valência’ e tangor ‘Murcott’ (*C. sinensis* x *C. reticulata*), destinados à exportação, e em frutos de laranjas ‘Pêra’, ‘Lima’ e ‘Natal’ e de tangor ‘Murcott’, destinados ao mercado interno, após diferentes etapas do beneficiamento em *packinghouse*, assim como os danos pós-colheita em frutos de laranjas ‘Pêra’ e ‘Lima’ e de tangor ‘Murcott’ comercializados na Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (Ceagesp); b) correlacionar a incidência de podridões com as características físico-químicas sólidos solúveis e acidez (%) dos frutos amostrados; c) identificar os pontos críticos e a magnitude de impacto em linhas de beneficiamento e classificação de citros dos *packinghouses*; d) caracterizar a micoflora ambiental nos *packinghouses* e nos atacadistas da Ceagesp, assim como a micoflora da superfície de equipamentos e instalações nos *packinghouses*; e e) detectar a

presença de isolados de *Penicillium* spp. resistentes aos fungicidas tiabendazol e imazalil nos *packinghouses*.

Referências

- BARITELLE, J.L.; GARDNER, P.D. Economic losses in the food and fiber system: from the perspective of an economist. In: MOLINE, H.E. (Ed.). **Postharvest pathology of fruits and vegetables**: postharvest losses in perishable Crops. Berkeley: University of California Agricultural Experiment Station Bulletin, 1984. p. 4-10.
- BOTEON, M.; NEVES, AE.M. Citricultura brasileira: aspectos econômicos. In: MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag, 2005. cap. 2, p.19-36.
- BROWN, G. E.; WILSON, W. C. Mode of entry of *Diplodia natalensis* and *Phomopsis citri* into Florida oranges. **Phytopathology**, Lancaster, v. 58, p. 736- 739, 1968.
- CAPPELLINI, R. A.; CEPONIS, M. J. Postharvest losses in fresh fruits and vegetables: postharvest losses in perishable crops. In: MOLINE, H. E. (Ed.). **Postharvest pathology of fruits and vegetables**: postharvest losses in perishable Crops. Berkeley: University of California Agricultural Experiment Station, 1984. p. 24-30.
- DROBY, S.; JACOBY, B.; GOLDMAN, A. Induction of anti-fungal resorcinols in flesh of unripe mango fruits and its relation to latent infection by *Alternaria alternata*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 30, p. 285-292, 1987.
- DROBY, S.; CHALUTZ, E. Mode of action of biocontrol agents of postharvest diseases. In: WILSON, C. L.; WISNIEWSKI, M. E. (Ed.). **Biological control of postharvest diseases**: theory and practice. Boca Raton: CRC Press, 1994. p. 63-75.
- ECKERT, J. W. Postharvest disease of fresh fruits and vegetables - etiology and control. In: HAARD, N. F.; SALUNKHE, D. K. (eds.). **Postharvest biology and handling of fruits and vegetables**. Westport: The Avi, 1980. p.81-117.
- ECKERT, J.W. Post-harvest diseases of citrus fruits. **Agriculture Outlook**, Paris, v. 54, p. 225-232, 1993.
- FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: <<http://www.apps.fao.org>>. Acesso em: 3 dez. 2006.
- FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. **Agrianual 2007**: anuário estatístico da agricultura brasileira. São Paulo, 277-313: citros. 2007.

GULLINO, M.L. Lotta biologica a funghi agenti di marciumi della frutta in post-raccolta. **Informatore Fitopatogico**, Bologna, v. 4, p. 5-13, 1994.

JARVIS, W. R. Latent infection in pre- and postharvest environment. **HortScience**, Alexandria, v. 29, p. 749-751, 1994.

KLUGE, R.; SCARPARE FILHO, J.A.; JACOMINO, A.O.; PEIXOTO, C.P. **Distúrbios fisiológicos em frutos**. Piracicaba: FEALQ, 2001. 58 p.

PRUSKY, D.; KEEN, N. T. Involvement of preformed antifungal compounds in the resistance of subtropical fruits to fungal decay. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 77, p. 114-119, 1993.

PRUSKY, D.; KOBILER, I.; JACOBY, B. Involvement of epicatechin in cultivar susceptibility of avocado fruits to *Colletotrichum gloeosporioides* after harvest. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 123, p. 140-146, 1988.

SPOTTS, R. A.; CEVANTES, A. Populations, pathogenicity, and benomyl resistance of *Botrytis* spp., *Penicillium* spp., and *Mucor piriformis* in packinghouses. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 70, p. 106-108, 1986.

VILAS BOAS, E.V. de B. Frutos climatéricos e não-climatéricos: implicação na pós-colheita. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS: PATOLOGIA PÓS-COLHEITA DE FRUTOS E HORTALIÇAS, 2, 2002, Lavras. **Anais...** Lavras: FAEPE, 2002. p. 9-18.

ZAMBOLIM, L. COSTA, H.; VENTURA, J.A.; VALE, F.X.R. Controle de doenças em pós-colheita de frutas tropicais. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Manejo integrado: Fruteiras tropicais - doenças e pragas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002. p. 443-512.

2 DOENÇAS PÓS-COLHEITA EM CITROS PROCEDENTES DE *PACKINGHOUSES* E DA CEAGESP-SP

Resumo

As doenças pós-colheita representam um sério obstáculo à citricultura, uma vez que comprometem a qualidade e a quantidade dos frutos colhidos. Este trabalho objetivou caracterizar os danos pós-colheita em frutos de laranja ‘Valência’ e de tangor ‘Murcott’, destinados à exportação, e em frutos de laranjas ‘Pêra’, ‘Lima’ e ‘Natal’ e de tangor ‘Murcott’, destinados ao mercado interno, após diferentes etapas do beneficiamento em *packinghouse*, em 2004 e 2005, assim como os danos pós-colheita em frutos de laranjas ‘Pêra’ e ‘Lima’ e de tangor ‘Murcott’ comercializados na Ceagesp-SP, em 2006; e identificar os pontos críticos e a magnitude de impacto em linhas de beneficiamento e classificação de citros dos mesmos *packinghouses*. Frutos cítricos foram coletados na chegada ao *packinghouse*, após a pré-lavagem, após o desverdecimento, na banca de embalagem, no palete e na Ceagesp; e armazenados individualmente durante 14 a 21 dias a 25°C e 85-90% de UR. A incidência de injúrias foi avaliada visualmente a cada três dias. Para a avaliação da magnitude de impactos (G) nos pontos de transferência da linha de beneficiamento de citros empregou-se uma esfera instrumentada (70 mm) (Techmark, Inc., Lansing, EUA), com registrador de aceleração. Observou-se baixa incidência (<3,5%) de podridões nos frutos destinados à exportação. As principais doenças pós-colheita encontradas em laranja ‘Valência’ foram a podridão peduncular de *Lasiodiplodia* e o bolor verde, sendo superadas em tangor pela antracnose. Nos frutos para o mercado interno a incidência de podridões atingiu valores médios entre 12,8% e 36,2%, ao final do armazenamento, sendo o bolor verde a principal doença pós-colheita nos diferentes frutos cítricos. Outras doenças importantes foram a antracnose, as podridões pedunculares de *Lasiodiplodia* e *Phomopsis* e a podridão azeda. No *packinghouse* de mercado interno, a incidência de podridões em laranja ‘Pêra’ e tangor ‘Murcott’ foi menor nos frutos coletados na chegada. Injúrias mecânicas de oleocelose foram crescentes nos dois *packinghouses* até a banca de embalagem e as demais injúrias decorrentes de doenças de pré-colheita, pragas e fatores abióticos foram decrescentes com o beneficiamento no *packinghouse* de exportação, enquanto em frutos beneficiados para o mercado interno tais injúrias mantiveram-se praticamente nos mesmos níveis. A aplicação de cera reduziu a incidência de frutos murchos. Na avaliação dos impactos na linha de beneficiamento de exportação, 95% dos impactos variaram entre a faixa de 30-95 G. O maior impacto (272 G) foi observado na etapa de transferência dos frutos para bins de desverdecimento. Já no *packinghouse* de mercado interno, 94% dos impactos variaram entre 24-131 G. A máxima aceleração (226 G) ocorreu na etapa referente ao descarregamento dos frutos do caminhão em superfície de concreto.

Palavras chaves: *Citrus*; Doenças fúngicas; Injúrias mecânicas

POSTHARVEST DISEASES IN CITRUS FRUITS FROM PACKINGHOUSES AND FROM CEAGESP-SP

Abstract

Postharvest diseases represent a serious drawback to citrus culture activities, once they reduce quality and quantity of harvested fruits. The purposes of this work were a) to characterize postharvest injuries in 'Valência' oranges and 'Murcott' tangors aimed at the external market, and in 'Pêra', 'Lima' and 'Natal' oranges, and 'Murcott' tangors, aimed at the internal market after different processing stages in a packinghouse in 2004 and 2005; b) to characterize postharvest injuries in 'Pêra' and 'Lima' oranges and 'Murcott' tangors commercialized at Ceagesp-SP in 2006; c) to identify critical points and impact extent on processing lines and fruit classification in packinghouses. Citrus fruits were collected at the packinghouse, at their arrival, after pre-washing and degreening, from the packing table, from the pallet and at Ceagesp. They were stored for 14 to 21 days at 25°C and 85-90% RH. The incidence of injuries was visually evaluated every three days. An instrumented sphere (70 mm) (Techmark, Inc., Lansing, EUA) with acceleration register (G) was used to evaluate the extent of impacts at the transference points of the citrus processing line. There was low rot incidence (under 3.5%) in fruits aimed at the external market. The main diseases affecting 'Valência' oranges were *Lasiodiplodia* stem-end and green mold, both of which were exceeded by anthracnose in 'Murcott' tangor. Rots averaged between 12.8% and 36.2% at the end of the storage period in fruits aimed at the internal market, and green mold was the main postharvest disease. Other important diseases were anthracnose, *Lasiodiplodia* and *Phomopsis* stem-end and sour rot. At the packinghouse aimed at the internal market, the incidence of rots in 'Pêra' oranges and 'Murcott' tangor was lower in fruits collected at arrival than in other places of the packinghouse. Oleocellosis increased along the processing stages until the arrival of fruits at the packing table. Other injuries caused by preharvest diseases, insect pests and abiotic factors decreased with processing at the packinghouse aimed at the external market, while in processed fruits aimed at the internal market, such injuries remained almost at the same levels. Wax application reduced the incidence of wilted fruits. Ninety-five percent of the impacts in the packinghouse processing line on fruits aimed at the external market ranged between 30 and 95 G. The highest impact value (272 G) was observed at the transferring stage of fruits to bins where the degreening takes place. At the packinghouse aimed at the internal market, 94% of the impacts ranged between 24 and 131 G. The maximum acceleration (226 G) was observed during the unloading of fruits from trucks to concrete surfaces.

Keywords: *Citrus*; Fungal diseases; Mechanic damages

2.1 Introdução

O Brasil destaca-se como o maior produtor mundial de citros, com aproximadamente 19 milhões de toneladas/ano, correspondendo a 39% da produção mundial da laranja fresca (FNP, 2007). As podridões constituem-se na principal causa de danos pós-colheita em citros e se expressam desde a colheita até seu uso pelo consumidor. A porcentagem de frutos cítricos com podridões fúngicas que ocorrem em uma safra podem, sob condições favoráveis, atingir até 50% no período de comercialização de laranja (ECKERT, 1993).

O bolor verde [*Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc.] é considerado a principal doença pós-colheita dos citros e está disseminado em todos os países produtores, afetando todas as espécies e variedades cítricas. No entanto, a preocupação é maior com as variedades consumidas *in natura*, como as laranjas de umbigo (Bahia) e laranja ‘Lima’ (LARANJEIRA et al., 2005). Provoca podridões moles nos frutos, recobrando-os com micélio branco e grande número de esporos, os quais lhes dão uma coloração verde. A ocorrência da doença depende muito das condições climáticas e da forma de manipulação dos frutos, desde o pomar até o consumidor, já que a infecção ocorre mediante ferimentos na casca do fruto (LARANJEIRA et al., 2005). Outras doenças, como as podridões pedunculares [*Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. e *Phomopsis citri* Fawcett], a antracnose [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. et Sacc.], o bolor azul (*P. italicum* Wehmer), entre outras, podem ser importantes sob determinadas condições.

A falta de cuidados específicos durante os processos de colheita, transporte, beneficiamento e armazenamento podem acarretar uma série de danos aos frutos, prejudicando sua qualidade e proporcionando aumento das perdas pós-colheita. Além de predispor os frutos à entrada de patógenos, lesões decorrentes de injúrias mecânicas em pós-colheita mostram-se prejudiciais à qualidade de frutos de lima ácida ‘Tahiti’ (*Citrus latifolia* Tan.), afetando distintamente as características físico-químicas, a aparência e diminuindo o período de comercialização dos frutos (DURIGAN; MATTIUZ; DURIGAN, 2005).

A caracterização dos danos visa facilitar a tomada de decisão quanto à necessidade de investimento em medidas de prevenção. Os objetivos deste trabalho foram: a) caracterizar as injúrias e quantificar os danos pós-colheita em frutos de laranja doce [*Citrus sinensis* (L.)

Osbeck] ‘Valência’ e tangor ‘Murcott’ (*C. sinensis* x *C. reticulata*), destinados à exportação, e em frutos de laranja doce ‘Pêra’, ‘Lima’ e ‘Natal’ e de tangor ‘Murcott’, destinados ao mercado interno, após diferentes etapas do beneficiamento em *packinghouse*, assim como os danos pós-colheita em frutos de laranjas ‘Pêra’ e ‘Lima’ e de tangor ‘Murcott’ comercializados na Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (Ceagesp); b) correlacionar a incidência de podridões com as características físico-químicas sólidos solúveis e acidez (%) dos frutos; e c) identificar os pontos críticos e a magnitude de impacto em linhas de beneficiamento e classificação de citros dos mesmos *packinghouses*.

2.2 Desenvolvimento

2.2.1 Revisão Bibliográfica

Nesta revisão adotou-se a terminologia de Zadoks (1985) que define injúria como qualquer sintoma visual mensurável causado por agentes biológicos nocivos ou impactos mecânicos; dano como a redução em quantidade e/ou qualidade do fruto e perda como a redução financeira decorrente do dano. No entanto, em doenças pós-colheita que afetam todo o fruto, os termos injúria e dano muitas vezes são sinônimos, pois a incidência de injúria coincide com a redução em quantidade comercializada. Assim, o termo dano foi adotado, preferencialmente, sempre que essa generalização não compromettesse seu significado.

O Estado de São Paulo concentra 81% da produção brasileira de citros dos quais 82% destinam-se ao processamento de suco, 17% ao mercado interno e apenas 1% à exportação de fruta fresca (NEVES; LOPES, 2005; FNP, 2007). Esta baixa relação entre exportação e produção deve-se às variedades cultivadas, mais apropriadas ao processamento, e às barreiras tarifárias e restrições sanitárias, destacando a exigência de qualidade pelo mercado externo, com frutas certificadas (SPÓSITO; BASSANEZI, 2002).

Os principais mercados importadores são os países da União Européia (89,5% de laranjas e 19,1% de tangerinas e tangores) e da Ásia (9,7% de laranjas e 63,0% de tangerinas e tangores) (NEVES et al., 2004). As exportações de laranjas, tangerinas e tangores para a União Européia ocorrem no período de entressafra da produção de cítricos no hemisfério Norte,

principalmente da Espanha e de outros países do mediterrâneo, quando são retiradas as sobretaxas para a importação de frutos (SPÓSITO; BASSANEZI, 2002; FNP, 2007).

A fruta cítrica produzida no Brasil, via de regra, apresenta um aspecto visual de qualidade inferior. Esse problema decorre do clima, que age na coloração dos frutos, e de uma quantidade enorme de doenças, que levam a depreciação do produto final. Os problemas fitossanitários são amplamente utilizados como barreiras não tarifárias no intuito de restringir as importações por países, principalmente, da União Européia, com objetivos protecionistas (SPÓSITO; BASSANEZI, 2002).

A União Européia considera como doenças quarentenárias A1 em citros (aquelas que não estão presentes em nenhuma área dos países membros) a mancha preta dos citros, causada por *Guignardia citricarpa* Kiely (OEPP/EPPO, 2003) e o cancro cítrico, causado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* Vauterin et al. (OEPP/EPPO, 2005). Tanto no caso da mancha preta, quanto do cancro cítrico, considera-se como frutos doentes apenas os que apresentarem sintomas. Portanto, um bom trabalho de seleção no *packinghouse* é necessário para evitar a exportação de frutos doentes. Entretanto, a mancha preta, ao contrário do cancro cítrico, pode expressar sintomas na pós-colheita, no período de transporte, *ex-packinghouse* (OEPP/EPPO, 2003). Caso seja detectado apenas um fruto com um único sintoma desta doença na inspeção no porto de destino todo o lote é rechaçado. Além destas doenças, existem outras doenças típicas de pós-colheita que devem ser tratadas nos *packinghouses*, visando minimizar danos e problemas com o importador.

Na Espanha, a porcentagem de frutos cítricos com podridões que ocorrem em uma safra varia de 3 a 6% (TUSET, 1987), entretanto, sob condições favoráveis aos fitopatógenos perdas consideráveis em pós-colheita podem ocorrer, atingindo 50% no período de comercialização de laranja (ECKERT, 1993). No Brasil, levantamento da incidência de doenças pós-colheita em frutos de laranja 'Pêra' comercializados na Central de Abastecimento de Recife detectou incidência de 21,9% de podridões fúngicas após cinco dias de armazenamento dos frutos em condições de temperatura ambiente ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$) (DANTAS et al., 2003).

As doenças de pós-colheita podem ser separadas em duas categorias baseadas em sua infecção inicial. Infecções quiescentes ou de pré-colheita incluem as podridões pedunculares, antracnose e podridão negra (*Alternaria citri* Ellis & N. Pierce); e infecções típicas de pós-

colheita incluem o bolor verde, bolor azul e podridão azeda (*Geotrichum candidum* Link) (BROWN; MILLER, 1999; OHR; ECKERT, 1985). A ocorrência e severidade das podridões são influenciadas pelo clima, variedades, práticas culturais e práticas pós-colheita (ECKERT; EAKS, 1989).

O bolor verde é considerado a principal doença pós-colheita dos citros, principalmente em climas quentes. Danos em pós-colheita decorrentes de *P. digitatum* e *P. italicum* podem representar mais de 90% do total durante as fases de transporte, armazenamento e comercialização (ECKERT; EAKS, 1989; BROWING et al., 1995; AGRIOS, 1997). A infecção ocorre através de ferimentos onde os nutrientes estão disponíveis e estimulam a germinação dos esporos depositados na superfície do fruto (ISMAIL; ZHANG, 2004). Pode ocorrer em pomares, afetando frutos em fase final de maturação, contudo, os maiores prejuízos ocorrem após a colheita (FEICHTENBERGER et al., 2005). Além de ferimentos, a temperatura é outro fator importante para o desenvolvimento do bolor verde. Temperaturas em torno de 24°C são consideradas ótimas e maiores que 37°C ou menores que 5°C paralisam o crescimento do fungo (LARANJEIRA et al., 2005). Os sintomas iniciam-se pelo surgimento de uma mancha circular mole de aspecto encharcado e pela ligeira descoloração da superfície afetada. Esta área mede aproximadamente 0,5 cm e cede facilmente à pressão dos dedos. Em seguida, ocorre o aparecimento de micélio branco na superfície do fruto e o desenvolvimento, no centro do micélio, de uma massa de esporos verdes. Em temperaturas favoráveis, em menos de dois dias, a lesão alcança tamanho entre 4 e 5 cm de diâmetro, atingindo as vesículas de suco (LARANJEIRA et al., 2005). Os esporos maduros soltam-se com grande facilidade a qualquer movimento ou impacto sobre os frutos afetados. Em *packinghouse*, devido à presença constante de frutos sadios e doentes, os ciclos de infecção e esporulação podem ocorrer repetidas vezes no período de colheita. O período de armazenamento pode ser reduzido pela formação de etileno pelos frutos doentes, que acelera o processo de maturação do fruto, diminuindo sua vida de prateleira (LARANJEIRA et al., 2005).

A podridão peduncular de *Lasiodiplodia* é uma importante doença em regiões quentes e úmidas, como na Florida e Caribe (BROWN; ECKERT, 2000). Em Recife, foi a principal doença pós-colheita em laranja 'Pêra', atingindo 11,8% de incidência, seguida pelo bolor verde com 3,9% (DANTAS et al., 2003). Os sintomas ocorrem na fase de pós-colheita dentro de duas

semanas em temperatura acima de 21°C (BROWN; ECKERT, 2000). O patógeno penetra diretamente, normalmente pela região peduncular, sendo a penetração favorecida por ferimentos. O fungo desenvolve-se rapidamente pela região central do endocarpo atingindo a região estilar do fruto. Caracteriza-se pela descoloração marrom da casca, inicialmente observada nas extremidades do fruto, evoluindo para todo o fruto. O tecido descolorido vai amolecendo à medida que o patógeno avança pelo endocarpo (BROWN; ECKERT, 2000). O desenvolvimento da doença é maior com o desverdecimento com etileno, empregado para aumentar e uniformizar a coloração dos frutos cítricos (BROWN, 1988). A doença normalmente não se dissemina dos frutos doentes para os frutos sadios no armazenamento, já que o patógeno é um saprófita que completa seu ciclo de vida em ramos mortos (BROWN; ECKERT, 2000).

Entre as pragas que comprometem os frutos cítricos, destaque para a larva da mosca-das-frutas [*Ceratitis capitata* (Wied.), *Anastrepha* spp. e *Neosilba* spp.] e a lagarta do bicho-furão [*Ecdytolopha aurantiana* (Lima)] que se alimentam da polpa e apodrecem o fruto, causando perda total do fruto para a indústria e comércio (PARRA; OLIVEIRA; PINTO, 2003).

Os frutos cítricos colhidos em adequado estágio de maturação são transportados em engradados plásticos ou a granel até o *packinghouse* onde usualmente sofrem uma lavagem com desinfetantes (hipoclorito de sódio, detergente neutro), seguida de aplicação de cera, podendo ou não receber fungicidas previamente ou em mistura a cera. Padronizados e embalados normalmente em caixas de madeira tipo M retornável, de 27 kg, são transportados até o mercado atacadista ou varejista. No caso dos frutos para exportação, quando a coloração da casca não está no padrão para exportação, os mesmos são incubados em câmaras de desverdecimento (etileno a 1-5 ppm, temperatura entre 21-30°C e UR entre 92-96%), por um período de 48 a 96 horas, antes do beneficiamento, sendo exportados normalmente em caixas de papelão. Segundo estatísticas da Coordenadoria de Defesa Agropecuária, apud Neves e Lopes (2004), em 2003, havia 564 *packinghouses* em São Paulo. Seus principais clientes são os atacadistas nacionais e as grandes redes de supermercados e, em menor proporção, exercem também a função de exportador. Os principais mercados atacadistas são representados pelas Centrais de Abastecimento (Ceasas). A cidade de São Paulo apresenta a maior delas, a Ceagesp (BOTEON; NEVES, 2005).

O grau de maturação da fruta na colheita é importante, pois condiciona a qualidade pós-colheita. Os citros são considerados frutos não climatéricos, que não amadurecem após serem

retirados da planta, a respiração declina lentamente nos últimos estádios do desenvolvimento e a evolução do etileno é extremamente lenta durante a maturação (GUARDIOLA, 1999). Se a colheita ocorre antes do fruto alcançar o ponto ideal de colheita, os frutos terão uma baixa qualidade gustativa e serão sensíveis aos danos causados pelo frio. Por outra parte, frutas cítricas colhidas muito maduras apresentam pouca firmeza, maior suscetibilidade a injúrias mecânicas, podridões, alterações fisiológicas e possuem uma menor vida de armazenamento e de prateleira (PEREIRA et al., 2006). É considerado maduro o fruto que apresentar características definidas para cada variedade. As modificações mais evidentes são as que se processam no conteúdo de sólidos solúveis totais, na acidez titulável e na coloração da casca (MEDINA et al., 2005). O conteúdo de açúcares nos frutos depende de vários fatores como cultivar, copa, porta-enxerto, tratamentos culturais e clima. Durante a maturação dos frutos, ocorrem variações simultâneas na concentração de açúcares e ácidos, fazendo com que o conteúdo de sólidos solúveis totais permaneça praticamente constante ou apresente apenas tendência gradual de aumento (GUARDIOLA, 1999). Os ácidos acumulam-se durante o desenvolvimento inicial do fruto, e alcançam um conteúdo máximo, o qual permanece praticamente constante a partir desse ponto. A redução na concentração de ácidos, que ocorre durante a maturação, é devida principalmente à diluição ocasionada pelo crescimento do fruto, visto que a redução no conteúdo de acidez titulável é pequena (GUARDIOLA, 1999). Diversos estudos com frutíferas têm relacionado o grau de maturação a períodos de maior ou menor suscetibilidade à podridões (SHARMA; KAUL, 1988; MARI et al., 2003; NORTHOVER; BIGGS, 1990). No entanto, não se sabe ao certo, o papel das características físico-químicas dos frutos cítricos condicionando maior ou menor suscetibilidade às podridões.

Nas diferentes etapas da pós-colheita diversas injúrias podem ocorrer nos frutos. O tecido danificado torna-se susceptível à infecção por microrganismos patogênicos, além de aparecerem cicatrizes visíveis que comprometem a aparência dos frutos, depreciando-os no mercado (GOLOMB; BEN-YEROSHUA; SARIG, 1984). Injúrias mecânicas provocam o rompimento das glândulas de óleo da epiderme, com conseqüente aparecimento de manchas denominadas de oleocelose (FAWCETT, 1916). Lesões decorrentes de injúrias mecânicas em pós-colheita mostraram-se prejudiciais à qualidade do fruto de lima ácida ‘Tahiti’, afetando distintamente os conteúdos de ácido ascórbico, acidez titulável e sólidos solúveis, a aparência e diminuindo o

período de comercialização dos frutos (DURIGAN; MATTIUZ; DURIGAN, 2005). De acordo com Sardi (2005), os principais pontos que favorecem a ocorrência de danos mecânicos, numa linha de beneficiamento, são: queda dos frutos na entrada da linha de beneficiamento; transferência dos frutos entre componentes da linha; superfícies rígidas; velocidade elevada dos frutos; manutenção inadequada dos equipamentos; resíduos de cera na linha. Utilizando-se da esfera instrumentada (Techmark, Inc., Lansing, EUA), equipamento plástico com registrador de aceleração para a avaliação da magnitude de impactos em pontos de transferência em linhas de classificação de laranja, Miller e Wagner (1991), relataram que 80% dos impactos em uma linha de classificação para citros variam entre 25 e 150 G e são causados por quedas em superfícies rígidas de metal ou em superfícies protegidas por camada de cobertura emborrachada muito fina. Todavia, no recebimento dos frutos a aceleração, por algumas vezes, chegou a 300 G.

2.2.2 Material e Métodos

As amostragens dos frutos cítricos foram realizadas em dois *packinghouses*, de julho a novembro de 2004 e 2005 em *packinghouse* localizado em Matão, SP, com frutos destinados ao mercado externo (laranja ‘Valência’ e tangor ‘Murcott’) e de setembro a janeiro de 2004/05 e 2005/06 em *packinghouse* localizado em Engenheiro Coelho, SP, com frutos destinados ao mercado interno (laranja ‘Pêra’, ‘Lima’ e ‘Natal’ e tangor ‘Murcott’) (Tabela 2.1). Amostragens de frutos cítricos comercializados na Ceagesp (laranja ‘Pêra’ e ‘Lima’ e tangor ‘Murcott’) foram realizadas mensalmente, de maio a novembro de 2006.

A incubação, identificação e quantificação dos danos pós-colheita foram realizados nas dependências do Setor de Fitopatologia, pertencente ao Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

Tabela 2.1 - Datas de amostragem de frutos cítricos em *packinghouses* de citros localizados em Matão e Engenheiro Coelho

<i>Packinghouse</i>	Variedade cítrica	Datas de amostragem	
		2004	2005
Matão	Valência	15/07, 9/08, 13/08, 23/08, 31/08, 13/09, 17/09, 1/10	20/07, 28/07, 02/08, 16/08, 23/08, 30/08
	Murcott	1/10, 08/10, 17/10, 03/11	...
		2004/05	2005/06
Engenheiro Coelho	Pêra	26/10, 16/11, 18/11, 09/12, 23/12, 06/01	14/09, 10/10, 19/10, 26/10, 09/11
	Lima	12/01, 20/01, 26/01, 27/01	13/09, 10/10, 14/11, 13/12, 27/12
	Natal	30/12, 14/01, 19/01, 28/01	05/12, 06/12, 13/12, 27/12, 3/01
	Murcott	19/09, 01/12	05/09, 20/09, 28/09, 01/11

2.2.2.1 Caracterização dos danos pós-colheita em citros

Cem frutos foram coletados em cada uma das seguintes etapas do beneficiamento do *packinghouse* de Matão: 1) nos bins (caixas plásticas com capacidade para 400 Kg) de chegada dos frutos; 2) após a pré-lavagem com hipoclorito de sódio a 200 mg/L de cloro ativo e detergente neutro; 3) após o período de desverdecimento com etileno a 1-5 mg/L (três a cinco dias); 4) na banca de embalagem, após nova lavagem com hipoclorito de sódio e detergente e receber cera + fungicidas tiabendazol e imazalil a 1000 mg/L cada; e 5) no palete, em caixas de papelão localizadas em posição intermediária na pilha de caixas. No caso do tangor ‘Murcott’, como não houve necessidade de desverdecimento, as etapas avaliadas foram 1, 4 e 5.

Os 100 frutos do *packinghouse* de Engenheiro Coelho foram coletados nas seguintes etapas do beneficiamento: 1) após a chegada ao *packinghouse*, nos engradados plásticos (laranja ‘Lima’ e tangor ‘Murcott’) ou na rampa de descarregamento (laranja ‘Pêra’ e ‘Natal’); 2) na banca de embalagem, após lavagem com detergente neutro e pulverização de cera; e 3) no palete, em caixa de madeira tipo M localizada em posição intermediária na pilha de caixas.

Na Ceagesp, as amostragens de frutos foram realizadas em quatro atacadistas que comercializavam frutos cítricos, perfazendo 50 frutos de cada variedade por atacadista e totalizando 200 frutos para cada variedade (Tabela 2.2). Uma vez que no *packinghouse* de

Engenheiro Coelho não se empregava tratamento fungicida pós-colheita, optou-se por atacadistas que sabidamente comercializavam frutos sem tratamento fungicida pós-colheita.

Os frutos foram individualizados em bandejas plásticas e submetidos à câmara úmida por 24 horas, visando favorecer a ocorrência de podridões, permanecendo por mais 20 dias, para os frutos dos *packinghouses* e 13 dias, para os frutos da Ceagesp, a 25°C e 85-90% de umidade relativa, em câmara do Setor de Horticultura, pertencente ao Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP. A incidência de injúrias foi avaliada visualmente após a retirada da câmara úmida e a cada três dias. Os fungos isolados de frutos podres tiveram a patogenicidade confirmada através da inoculação em frutos sadios.

Compararam-se as incidências das doenças pós-colheita nas diferentes etapas do beneficiamento por meio de teste não paramétrico de comparação de múltiplas proporções, ao nível de 5% de probabilidade, conforme descrito por Zar (1999). A incidência de danos mecânicos de oleocelose e lesões não cicatrizadas foi correlacionada com a incidência de bolor verde nas diferentes etapas de beneficiamento dos frutos nos *packinghouses* e amostragens na Ceagesp. Foram testadas correlações simples, posteriormente analisadas pelo teste F.

Os modelos linear ($y=a+rt$, onde y representa a incidência de frutos doentes, a é um parâmetro do modelo relacionado ao inóculo inicial, r é a taxa de progresso da doença e t , o tempo) e monomolecular ($y=y_{\max}*(1-a \exp(-rt))$, onde y representa a incidência da doença em proporção, $y_{\max}$ é a assíntota da curva de progresso da doença, a é um parâmetro relacionado ao inóculo inicial, r é a taxa de progresso da doença e t , o tempo em dias após o início do armazenamento) foram ajustados aos dados de evolução do bolor verde, durante o armazenamento, por meio de regressões lineares e não-lineares. A escolha do melhor modelo foi feita por meio da comparação dos coeficientes de determinação e pela melhor distribuição dos resíduos. Os parâmetros dos modelos ajustados às curvas das diferentes variedades cítricas foram comparados entre si por meio do teste t (CAMPBELL; MADDEN, 1990).

Tabela 2.2 - Procedências (cidades paulistas) dos frutos cítricos amostrados em atacadistas na Ceagesp, em 2006

Amostragens	Atacadistas			
	1	2	3	4
Laranja 'Pêra'				
1	Pirangi	Santa Salete	Barretos	Pedranópolis
2	Pirangi	Estrela d'Oeste	Barretos	Venda Branca
3	Pirangi	Santa Salete	Barretos	Pedranópolis
4	Pirangi	São José do Rio Preto	Pirassununga	Santo Ant. da Posse
5	Engenheiro Coelho	Bariri	Jales	Santo Ant. da Posse
6	Pirangi	Bariri	Vista Alegre do Alto	Santo Ant. da Posse
7	Engenheiro Coelho	Bariri	Jales	Santo Ant. da Posse
Laranja 'Lima'				
1	Pirangi	Boa Esperança do Sul	Barretos	Itajobi
2	Pirangi	Aguaí	Pirassununga	Venda Branca
3	Taiaçu	Boa Esperança do Sul	Vista Alegre do Alto	Tambaú
4	Cabrália Paulista	Catanduva	Pirassununga	Santo Ant. da Posse
5	Paraíso	Botucatu	Pirassununga	Santo Ant. da Posse
6	Aguaí	Catanduva	Araraquara	Tambaú
7	Casa Branca	Catanduva	Santo A. da Posse	Tambaú
Tangor 'Murcott'				
1	Pirangi	Catanduva	Monte Alegre do Sul	...
2	Tambaú	Botucatu	Pirassununga	São Miguel Arcanjo
3	Tambaú	Boa Esperança do Sul	Pirassununga	São Miguel Arcanjo
4	Tambaú	Boa Esperança do Sul	Pirassununga	Engenheiro Coelho

2.2.2.2 Análises físico-químicas dos frutos cítricos

As análises físico-químicas dos frutos foram realizadas no Laboratório de Pós-Colheita do Setor de Horticultura da ESALQ/USP. Dez frutos de cada amostragem, realizadas nos *packinghouses* e na Ceagesp, foram utilizados para a obtenção de uma amostra composta de suco cítrico. Foram determinados dois parâmetros:

- Teor de sólidos solúveis - Apresenta uma indicação inicial do teor de açúcares no fruto. Foi medido por meio de leitura direta em refratômetro digital com correção automática de temperatura (Atago PR-101, Atago Co Ltda., Tóquio, Japão) sendo os resultados expressos em °Brix. Foram feitas duas leituras, considerando-se a média das leituras.
- Acidez titulável - Para essa determinação, 10 g de polpa foram diluídas em 90 mL de água destilada. A titulação foi feita com hidróxido de sódio (0,1 N) até que a solução atingisse pH 8,1 (ponto de virada da fenolftaleína). Os cálculos foram realizados segundo Carvalho, Mantovani e Carvalho (1990) e os resultados expressos em acidez (%).

O delineamento utilizado foi inteiramente ao acaso e as variáveis físico-químicas foram correlacionadas com a incidência de bolor verde e total de doenças pós-colheita em todas as datas

de amostragem. Foram testadas correlações simples, posteriormente analisadas pelo teste F ($P<0,05$).

2.2.2.3 Pontos críticos de impacto em linhas de beneficiamento de citros

Utilizou-se da esfera instrumentada (70 mm) (Techmark, Inc., Lansing, EUA), equipamento plástico com registrador de aceleração, para a avaliação da magnitude de impactos nos pontos de transferência das linhas de classificação de citros.

No *packinghouse* de Matão, a linha de beneficiamento e classificação caracterizava-se por ser extensa, com 110 m de comprimento, totalmente automatizada, desde a recepção dos frutos até a embalagem, composta por equipamentos importados (Maf-Rod, com classificador eletrônico “Optiscan 2000”). Nesta linha eram processadas 13,6 toneladas de frutos por hora, sendo estes submetidos a 19 pontos de transferência. Já no *packinghouse* de Engenheiro Coelho, a linha de beneficiamento era composta por equipamentos nacionais (DMS – Máquinas Agrícolas LTDA), com comprimento de 65 m. A linha era automatizada, exceção da recepção, e processava 5,1 toneladas de frutos por hora, sendo submetidos a 16 pontos de transferência. Considerando o recebimento de algumas variedades cítricas a granel e a cobertura parcial da superfície de recebimento com colchão, simulou-se o recebimento dos frutos à queda de altura de 90 cm em colchão de espuma com espessura de 5 cm e em concreto.

A esfera instrumentada, com limite para o nível de impacto variando entre 15 G e 500 G, foi colocada juntamente com os frutos na etapa de recebimento de cada linha de beneficiamento, que funcionava com sua capacidade normal, seguindo o fluxo dos mesmos até a classificação. O tempo de permanência da esfera instrumentada, em cada etapa, assim como o tempo para completar o percurso percorrido e os pontos de transferência, foram monitorados através de cronômetro de precisão. As medições no percurso total da linha de classificação foram repetidas cinco vezes. Os dados armazenados na esfera foram transferidos e analisados em computador, sendo possível a avaliação da magnitude dos impactos a que os frutos foram submetidos, nos pontos de transferência das linhas de beneficiamento.

A aceleração (G) nas diferentes etapas da linha de beneficiamento foi comparada pelo teste de Tukey ($P<0,05$). A incidência de oleocose em três etapas do beneficiamento dos frutos de laranja ‘Valência’ (recepção, após a pré-lavagem e banca) foi correlacionada ao impacto

(soma das acelerações nos diferentes pontos de transferência) nas respectivas etapas, posteriormente analisadas pelo teste F ($P < 0,05$).

2.2.3 Resultados

2.2.3.1 Doenças pós-colheita de frutos cítricos

2.2.3.1.1 *Packinghouse* de Matão

A incidência total de podridões em frutos de laranja ‘Valência’ e de tangor ‘Murcott’ não diferiram estatisticamente nas diferentes etapas de beneficiamento, com valores médios (2004/05) em laranja ‘Valência’ na chegada da fruta, pré-lavagem, desverdecimento, banca e palete de 1,8; 1,6; 2,6; 2,1 e 1,9%, respectivamente (Tabelas 2.3 e 2.4). As doenças mais frequentes em laranja ‘Valência’ foram a podridão peduncular de *Lasiodiplodia*, o bolor verde, a podridão negra e a podridão peduncular de *Phomopsis* (Figura 2.1A). Antracnose, podridão de *Fusarium*, podridão azeda, bolor azul e podridão de *Rhizopus*, causada por *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill foram encontradas em baixa frequência.

Em tangor ‘Murcott’ a incidência total de podridões foi de 2,6% na chegada da fruta ao *packinghouse*, 1,6% na banca de embalagem e 1,1% no palete (Tabela 2.5 e Figura 2.1B). As doenças mais frequentes foram antracnose, podridão peduncular de *Lasiodiplodia* e bolor verde, e em menor frequência a podridão peduncular de *Phomopsis*, a podridão azeda e a podridão de *Fusarium*.

Tabela 2.3 - Incidência (%)¹ de doenças fúngicas pós-colheita em frutos de laranja ‘Valência’ oriundos de diferentes fases do beneficiamento em *packinghouse* de frutos destinados à exportação (Matão), aos 21 dias de armazenamento em 2004

Doenças	Etapas do beneficiamento					
	Chegada	Pré-lavagem	Desverdecimento	Banca	Palete	Média
Podridão de <i>Lasiodiplodia</i>	0,7 aA ²	0,3 aA	1,3 aA	0,3 aA	0,7 aA	0,7 A
Bolor verde	0,7 aA	0,3 aA	0,5 aAB	0,3 aA	0,0 aA	0,4 A
Podridão negra	0,1 aA	0,3 aA	0,5 aAB	0,0 aA	0,0 aA	0,2 A
Podridão de <i>Phomopsis</i>	0,3 aA	0,1 aA	0,1 aB	0,1 aA	0,0 aA	0,1 A
Antracnose	0,1 aA	0,1 aA	0,1 aB	0,3 aA	0,0 aA	0,1 A
Podridão de <i>Fusarium</i>	0,0 aA	0,0 aA	0,1 aB	0,0 aA	0,0 aA	0,0 A
Total	1,9 a	1,1 a	2,6 a	1,0 a	0,7 a	1,5

¹ Média de oito amostragens de 100 frutos, procedentes de Gavião Peixoto, SP.

² Valores seguidos pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, em nível de 5 % pelo teste não paramétrico de comparação de múltiplas proporções.

Tabela 2.4 - Incidência (%)¹ de doenças fúngicas pós-colheita em frutos de laranja 'Valência' oriundos de diferentes fases do beneficiamento em *packinghouse* de frutos destinados à exportação (Matão), aos 21 dias de armazenamento em 2005

Doenças	Etapas do beneficiamento					
	Chegada	Pré-lavagem	Desverdecimento	Banca	Palete	Média
Podridão de <i>Lasiodiplodia</i>	0,3 bAB ²	1,5 abA	1,8 abA	2,2 aA	2,3 aA	1,6 A
Bolor verde	1,2 aA	0,2 aAB	0,5 aAB	0,3 aAB	0,2 aB	0,5 AB
Podridão de <i>Phomopsis</i>	0,0 aB	0,2 aAB	0,0 aB	0,3 aAB	0,3 aB	0,2 AB
Podridão azeda	0,2 aAB	0,0 aB	0,3 aAB	0,0 aB	0,2 aB	0,1 B
Bolor azul	0,0 aB	0,0 aB	0,0 aB	0,3 aAB	0,0 aB	0,1 B
Podridão negra	0,0 aB	0,2 aAB	0,0 aB	0,2 aB	0,0 aB	0,1 B
Podridão de <i>Rhizopus</i>	0,0 aB	0,0 aB	0,0 aB	0,0 aB	0,2 aB	0,0 B
Total	1,7 a	2,1 a	2,6 a	3,3 a	3,2 a	2,6

¹ Média de seis amostragens de 100 frutos. Frutos procedentes de (número de coletas): Matão, SP (1) e Uberlândia, MG (5).

² Valores seguidos pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, em nível de 5 % pelo teste não paramétrico de comparação de múltiplas proporções.

Tabela 2.5 - Incidência (%)¹ de doenças fúngicas pós-colheita em frutos de tangor 'Murcott' oriundos de diferentes fases do beneficiamento em *packinghouse* de frutos destinados à exportação (Matão), aos 21 dias de armazenamento em 2004

Doenças	Etapas do beneficiamento			
	Chegada	Banca	Palete	Média
Antracnose	1,0 aAB ²	0,0 aA	0,8 aA	0,6 A
Bolor verde	1,3 aA	0,0 bA	0,0 bA	0,4 A
Podridão de <i>Lasiodiplodia</i>	0,3 aAB	1,0 aA	0,0 aA	0,4 A
Podridão de <i>Phomopsis</i>	0,0 aB	0,3 aA	0,0 aA	0,1 A
Podridão azeda	0,0 aB	0,3 aA	0,0 aA	0,1 A
Podridão de <i>Fusarium</i>	0,0 aB	0,0 aA	0,3 aA	0,1 A
Total	2,6 a	1,6 a	1,1 a	1,8

¹ Média de quatro amostragens de 100 frutos, procedentes de Pratânia, SP.

² Valores seguidos pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, em nível de 5 % pelo teste não paramétrico de comparação de múltiplas proporções.

Figura 2.1 - Progresso de incidência (%) de podridões em frutos de laranja 'Valência' (A) (Média de 2004 e 2005) e tanger 'Murcott' (B) provenientes do *packinghouse* de Matão, durante três semanas de armazenamento

2.2.3.1.2 *Packinghouse* de Engenheiro Coelho

Os frutos de laranjas 'Pêra', 'Lima' e 'Natal' e de tanger 'Murcott' apresentaram incidência de diferentes doenças fúngicas pós-colheita, atingindo médias de 6,5; 9,2; 12,7 e 7,3% aos sete dias de armazenamento, 14,8; 17,5; 26,4 e 21,1% aos 14 dias e 21,2; 25,4; 36,2 e 29,9 % aos 21 dias de armazenamento, respectivamente (Tabelas 2.6 a 2.9). Observou-se um acréscimo significativo ($P < 0,05$) na incidência total de podridões fúngicas com o processamento dos frutos de laranja 'Pêra' (Tabela 2.6) e tanger 'Murcott' (Tabela 2.9) na linha de beneficiamento. Entretanto, em laranja 'Lima' (Tabela 2.7) e 'Natal' (Tabela 2.8) a incidência total de podridões não diferiu estatisticamente entre as etapas de beneficiamento.

Entre as doenças detectadas em frutos cítricos o bolor verde apresentou as maiores incidências médias (11,9-21,2%), diferindo significativamente dos demais patógenos nas laranjas 'Pêra' e 'Lima' e em tanger 'Murcott' (Figura 2.2). Na variedade Natal, a incidência de bolor verde também foi elevada e não diferiu apenas da incidência da podridão peduncular de *Lasiodiplodia* (Tabela 2.8). A evolução do bolor verde durante o armazenamento foi melhor descrita pelo modelo monomolecular (Tabela 2.10) do que pelo modelo linear. As curvas de progresso da doença nas quatro variedades amostradas não apresentaram diferenças nas assíntotas

e nas taxas de progresso da doença (Tabela 2.10, Figura 2.3). No entanto, os valores do inóculo inicial foram significativamente ($P<0,05$) mais elevados em laranja ‘Natal’ que em laranja ‘Pêra’. Nenhuma diferença estatística significativa foi constatada entre os valores do inóculo inicial das laranjas ‘Pêra’ e ‘Lima’ e tangor ‘Murcott’.

A podridão peduncular de *Lasiodiplodia* apresentou a segunda maior incidência (9,9%) em laranja ‘Natal’, estatisticamente semelhante ao bolor verde, e com 1,1; 1,0 e 0,7% em tangor ‘Murcott’, laranjas ‘Lima’ e ‘Pêra’, respectivamente. A antracnose foi a segunda doença em incidência em tangor ‘Murcott’ (4,5%) e laranja ‘Pêra’ (2,0%), apresentando, ainda, incidência média de 1,9% em laranja ‘Lima’ e 1,2% em laranja ‘Natal’. A podridão azeda apresentou a segunda maior incidência em laranja ‘Lima’ (4,2%) e valores médios de 2,9% em laranja ‘Natal’ e 1,0% em laranja ‘Pêra’ e tangor ‘Murcott’. A podridão peduncular de *Phomopsis* apresentou incidência intermediária, ocupando a terceira posição em Laranja ‘Lima’ (3,6%), ‘Natal’ (3,6%) e ‘Pêra’ (1,7%). Outras doenças foram constatadas em menores incidências nos diferentes frutos cítricos, tais como a podridão de *Fusarium*, o bolor azul, a podridão negra, a podridão de *Aspergillus* (*A. niger* Tieghem) e de *Rhizopus*.

Tabela 2.6 - Incidência (%)¹ de doenças fúngicas pós-colheita em frutos de laranja ‘Pêra’ oriundos de diferentes fases do beneficiamento em *packinghouse* de frutos destinados ao mercado interno (Engenheiro Coelho), aos 21 dias de armazenamento

Doença	Etapas do beneficiamento			
	Chegada	Banca	Palete	Média
Bolor verde	6,6 bA ²	18,6 aA	17,5 aA	14,2 A
Antracnose	2,0 aB	2,6 aB	1,3 aBC	2,0 B
Podridão peduncular de <i>Phomopsis</i>	1,4 aB	1,4 aB	2,3 aB	1,7 B
Podridão de <i>Fusarium</i>	1,1 aBC	1,0 aBC	1,3 aBC	1,1 BC
Podridão azeda	0,9 aBC	1,5 aB	0,5 aBC	1,0 BC
Podridão peduncular de <i>Lasiodiplodia</i>	1,1 aBC	0,7 aBC	0,3 aBC	0,7 BC
Bolor azul	0,3 aBC	0,9 aBC	0,2 aBC	0,5 BC
Podridão negra	0,0 aC	0,0 aC	0,1 aC	0,0 C
Podridão de <i>Aspergillus</i>	0,0 aC	0,0 aC	0,1 aC	0,0 C
Total	13,4 b	26,7 a	23,6 a	21,2

¹ Média das safras 2004/05 e 2005/06, com 6 e 5 repetições, de 100 frutos cada, respectivamente. Frutas procedentes (número de coletas), em 2004/05, de Casa Branca (1), Conchal (2) e Itirapina-SP (3), e em 2005/06, de Casa Branca (3) e Conchal-SP (2).

² Valores seguidos pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, em nível de 5 % pelo teste não paramétrico de comparação de múltiplas proporções.

Tabela 2.7 - Incidência (%)¹ de doenças fúngicas pós-colheita em frutos de laranja ‘Lima’ oriundos de diferentes fases do beneficiamento em *packinghouse* de frutos destinados ao mercado interno (Engenheiro Coelho), aos 21 dias de armazenamento

Doença	Etapas do beneficiamento			
	Chegada	Banca	Palete	Média
Bolor verde	12,8 aA ²	10,6 aA	12,3 aA	11,9 A
Podridão azeda	2,9 aB	5,6 aAB	4,2 aB	4,2 B
Podridão peduncular de <i>Phomopsis</i>	4,7 aB	3,4 aBC	2,7 aBC	3,6 B
Podridão de <i>Fusarium</i>	2,7 aB	2,4 aBC	2,3 aBC	2,5 B
Antracnose	2,7 aB	2,2 aBCD	0,8 aCD	1,9 BC
Podridão peduncular de <i>Lasiodiplodia</i>	1,7 aBC	1,0 aCDE	0,3 aCD	1,0 BC
Bolor azul	0,2 aC	0,4 aDE	0,0 aD	0,2 C
Podridão negra	0,1 aC	0,0 aE	0,1 aD	0,1 C
Total	27,8 a	25,6 a	22,7 a	25,4

¹ Média das safras 2004/05 e 2005/06, com 4 e 5 repetições, de 100 frutos cada, respectivamente. Frutas procedentes (número de coletas), em 2004/05, de Aguai (2) e Itirapina-SP (2) e, em 2005/06, de Catalão-GO (1), Descalvado (1), Eng. Coelho (1), Porto Ferreira (1) e Salto de Pirapora-SP (1).

² Valores seguidos pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, em nível de 5 % pelo teste não paramétrico de comparação de múltiplas proporções.

Tabela 2.8 - Incidência (%)¹ de doenças fúngicas pós-colheita em frutos de laranja ‘Natal’ oriundos de diferentes fases do beneficiamento em *packinghouse* de frutos destinados ao mercado interno (Engenheiro Coelho), aos 21 dias de armazenamento

Doença	Etapas do beneficiamento			
	Chegada	Banca	Palete	Média
Bolor verde	15,1 aA ²	16,2 aA	17,5 aA	16,3 A
Podridão peduncular de <i>Lasiodiplodia</i>	7,6 aB	12,2 aA	9,8 aB	9,9 A
Podridão peduncular de <i>Phomopsis</i>	3,7 aBC	3,0 aBC	4,1 aC	3,6 B
Podridão azeda	2,4 aC	3,4 aB	3,0 aCD	2,9 BC
Podridão de <i>Fusarium</i>	3,3 aBC	1,1 abBCD	0,6 bDE	1,7 BCD
Antracnose	1,9 aCD	1,0 aBCD	0,8 aDE	1,2 BCD
Bolor azul	0,9 aCD	0,6 aCD	0,1 aE	0,5 CD
Podridão negra	0,2 aD	0,0 aD	0,0 aE	0,1 D
Total	35,1 a	37,5 a	35,9 a	36,2

¹ Média das safras 2004/05 e 2005/06, com 4 e 5 repetições, de 100 frutos cada, respectivamente. Frutas procedentes (número de coletas), em 2004/05, de Catalão-GO (3) e Vargem Grande do Sul-SP (1) e, em 2005/06, de Aguai (3) e Salto de Pirapora-SP (2).

² Valores seguidos pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, em nível de 5 % pelo teste não paramétrico de comparação de múltiplas proporções.

Tabela 2.9 - Incidência (%)¹ de doenças fúngicas pós-colheita em frutos de tangor ‘Murcott’ oriundos de diferentes fases do beneficiamento em *packinghouse* de frutos destinados ao mercado interno (Engenheiro Coelho), aos 21 dias de armazenamento

Doença	Etapas do beneficiamento			
	Chegada	Banca	Paleta	Média
Bolor verde	10,6 bA ²	23,8 aA	29,3 aA	21,2 A
Antracnose	5,1 aA	3,6 aB	4,7 aB	4,5 B
Podridão peduncular de <i>Lasiodiplodia</i>	1,7 aA	0,9 aBC	0,6 aC	1,1 BCD
Podridão azeda	0,6 aB	0,9 aBC	1,5 aBC	1,0 BCD
Bolor azul	0,7 aB	0,3 aBC	1,3 aBC	0,8 BCD
Podridão peduncular de <i>Phomopsis</i>	0,3 aB	0,9 aBC	0,5 aC	0,6 CD
Podridão negra	0,3 aB	0,7 aC	0,4 aC	0,5 CD
Podridão de <i>Aspergillus</i>	0,3 aB	0,3 aC	0,0 aC	0,2 D
Podridão de <i>Fusarium</i>	0,1 aB	0,0 aC	0,2 aC	0,1 D
Podridão de <i>Rhizopus</i>	0,0 aB	0,0 aC	0,2 aC	0,1 D
Total	19,7 b	31,4 ab	38,7 a	29,9

¹ Média das safras 2004 e 2005, com 2 e 4 repetições, de 100 frutos cada, respectivamente. Frutas procedentes (número de coletas) em 2004, de Conchal (1) e Itirapina (1) e, em 2005, de Aguai (1), Conchal (2) e Itirapina-SP (1).

² Valores seguidos pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, em nível de 5 % pelo teste não paramétrico de comparação de múltiplas proporções.

Tabela 2.10 – Parâmetros do modelo monomolecular ($y=y_{\max}*(1-a \exp(-rt))$), onde y representa a incidência da doença em proporção, $y_{\max}$ é a assíntota da curva de progresso da doença, a é um parâmetro relacionado ao inóculo inicial, r é a taxa de progresso da doença e t , o tempo em dias após o início do armazenamento) ajustado às curvas de progresso do bolor verde dos citros nas laranjas ‘Pêra’, ‘Lima’ e ‘Natal’ e no tangor ‘Murcott’ e coeficientes de determinação da regressão

Variedades	Parâmetros e coeficiente de determinação da regressão			
	$y_{\max}$	a	r	R^2
Pêra	0,37 a ¹	1,01 b	0,02 a	0,99
Lima	0,16 a	1,03 ab	0,07 a	0,99
Natal	0,20 a	1,09 a	0,09 a	0,99
Murcott	0,61 a	1,02 ab	0,02 a	0,98

¹ Valores seguidos pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, em nível de 5 % pelo teste t .

Figura 2.2 – Progresso de incidência (%) de podridões em frutos de laranjas ‘Pêra’ (A), ‘Lima’ (B) e ‘Natal’ (C) e de tanger ‘Murcott’ (D) (Média de 2004 e 2005) provenientes do *packinghouse* de Engenheiro Coelho, durante três semanas de armazenamento

Figura 2.3 - Progresso da incidência do bolor verde em laranjas ‘Pêra’, ‘Lima’ e ‘Natal’ e em tangor ‘Murcott’ durante o armazenamento. Pontos representam a incidência média da doença nos dois anos de avaliação e as linhas representam o ajuste com o modelo monomolecular ($y=y_{\max}*(1-a \exp(-rt))$, onde y representa a incidência da doença em proporção, $y_{\max}$ é a assíntota da curva de progresso da doença, a é um parâmetro relacionado ao inóculo inicial, r é a taxa de progresso da doença e t , o tempo em dias após o início do armazenamento)

2.2.3.1.3 Ceagesp

Os frutos de laranjas ‘Pêra’ e ‘Lima’ e de tangor ‘Murcott’ apresentaram incidência de diferentes doenças fúngicas pós-colheita, atingindo médias de 4,5; 7,8 e 11,6% aos sete dias de armazenamento e 12,8; 14,9 e 25,8% aos 14 dias de armazenamento (Tabelas 2.11 a 2.13), respectivamente. Foram verificadas diferenças significativas ($P<0,05$) entre os períodos de coleta de frutos em relação à incidência total de podridões, ao bolor verde e a podridão peduncular de *Lasiodiplodia* para as três variedades cítricas estudadas; diferenças entre os períodos foram ainda observadas para o bolor azul e a podridão azeda em laranja ‘Pêra’ e tangor ‘Murcott’, bem como para a podridão peduncular de *Phomopsis* em laranja ‘Pêra’, aos 14 dias de armazenamento.

Entre as doenças detectadas em frutos cítricos o bolor verde apresentou as maiores incidências (5,6-14,6%), diferindo significativamente dos demais patógenos em laranja ‘Lima’ e tangor ‘Murcott’.

A podridão peduncular de *Lasiodiplodia* apresentou a segunda maior incidência em laranjas ‘Pêra’ (4,0%) e ‘Lima’ (1,9%), sendo estatisticamente semelhante ao bolor verde em laranja ‘Pêra’, e a terceira posição em tangor ‘Murcott’ (2,8%).

A podridão azeda apresentou a segunda maior incidência em tangor ‘Murcott’ (3,6%) e valores médios de 0,5% e 0,3% em laranjas ‘Pêra’ e ‘Lima’, respectivamente. A podridão peduncular de *Phomopsis* apresentou incidência intermediária, ocupando a terceira posição em laranjas ‘Lima’ (1,1%) e ‘Pêra’ (1,0%) e valor médio de 1,9% em tangor ‘Murcott’. Outras doenças foram constatadas em menores incidências nos diferentes frutos cítricos, tais como a antracnose, o bolor azul, a podridão de *Fusarium*, a podridão negra e a podridão de *Aspergillus*.

Tabela 2.11 - Incidência (%) de doenças fúngicas pós-colheita em frutos de laranja ‘Pêra’ comercializados na Ceagesp, aos 14 dias de armazenamento

Doenças	Amostragens							
	Maio	Junho	Julho	Agosto	Setem.	Outubro	Nov.	Média
Bolor verde	5,0 aAB ¹	2,7 aA	4,5 aA	5,5 aA	2,5aAB	2,0 aAB	17,0 bA	5,6 A
Antracnose	0,7 aBC	0,0 aAB	1,0 aAB	0,5 aBC	0,5 aB	0,0 aB	2,5 aB	0,7 BC
Podr. de <i>Fusar.</i>	0,0 aC	0,3 aAB	0,0 aB	0,0 aC	0,5 aB	0,5 aAB	0,0 aB	0,2 BC
Podr. de <i>Phomop.</i>	3,0 aBC	0,3 abAB	0,0 bB	0,0 bC	1,0 abB	1,0 abAB	1,5 abB	1,0 ABC
Podr. de <i>Lasiod.</i>	13,0 aAB	0,3 cdAB	2,0 bcdAB	3,5 bcAB	6,5 abA	2,5 bcdAB	0,0 dB	4,0 AB
Bolor azul	0,3 abC	0,3 abAB	0,0 bB	0,0 bC	1,0 abB	3,0 aA	0,0 bB	0,7 BC
Podridão azeda	0,3 abC	0,0 bB	0,0 bB	0,0 bC	0,5 abB	3,0 aA	0,0 bB	0,5 BC
Podridão negra	0,0 aC	0,0 aB	0,0 aB	0,0 aC	1,0 aB	0,0 aB	0,0 aB	0,1 C
Total	22,3 a	3,9 c	7,5 bc	9,5 bc	13,5 ab	12,0 ab	21,0 a	12,8

¹ Dados seguidos pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, em nível de 5 % pelo teste não paramétrico de comparação de múltiplas proporções.

Tabela 2.12 - Incidência (%) de doenças fúngicas pós-colheita em frutos de laranja ‘Lima’ comercializados na Ceagesp, aos 14 dias de armazenamento

Doenças	Amostragens							
	Maio	Junho	Julho	Agosto	Setemb.	Outubro	Novem.	Média
Bolor verde	9,3 bcdaA ¹	11,0 bcA	12,0 bcA	23,5 aA	3,0 dAB	7,0 bcdA	4,0 cdA	10,0 A
Antracnose	0,0 aC	1,0 aB	0,0 aB	0,5 aB	0,5 aB	1,0 aB	2,5 aAB	0,8 B
Podr. de <i>Fusarium</i>	0,0 aC	0,0 aB	0,0 aB	0,0 aB	1,5 aAB	1,5 aAB	0,5 aAB	0,5 B
Podr. de <i>Phomopsis</i>	2,0 aBC	1,0 aB	2,5 aB	0,5 aB	1,0 aAB	0,0 aB	0,5 aAB	1,1 B
Podr. de <i>Lasiodipl.</i>	7,3 aAB	0,7 bcB	0,5 bcB	0,0 cB	5,0 abA	0,0 cB	0,0 cB	1,9 B
Bolor azul	0,0 aC	0,3 aB	0,0 aB	0,5 aB	0,5 aB	0,0 aB	0,0 aB	0,2 B
Podridão azeda	0,0 aC	0,0 aB	0,5 aB	0,0 aB	0,5 aB	0,5 aB	0,5 aB	0,3 B
Podridão negra	0,0 aC	0,3 aB	0,0 aB	0,5 aB	0,5 aB	0,0 aB	0,0 aB	0,2 B
Total	18,6 ab	14,3 abc	15,5 abc	25,5 a	12,5 bc	10,0 bc	8,0 c	14,9

¹ Dados seguidos pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, em nível de 5 % pelo teste não paramétrico de comparação de múltiplas proporções.

Tabela 2.13 - Incidência (%) de doenças fúngicas pós-colheita em frutos de tangor ‘Murcott’ comercializados na Ceagesp, aos 14 dias de armazenamento

Doenças	Amostragens				
	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Média
Bolor verde	16,0 abA ¹	11,5 bA	7,5 bA	23,5 aA	14,6 A
Antracnose	0,7 aB	0,5 aC	1,0 aBC	2,0 aBC	1,1 B
Podridão de <i>Fusarium</i>	0,0 aB	0,0 aC	0,5 aC	0,5 aC	0,3 B
Podridão de <i>Phomopsis</i>	2,0 aB	1,5 aBC	2,0 aABC	2,0 aBC	1,9 B
Podridão de <i>Lasiodiplodia</i>	2,7 abB	5,5 aAB	3,0 aABC	0,0 bC	2,8 B
Bolor azul	0,0 bB	0,0 bC	4,0 aA	0,5 abC	1,1 B
Podridão azeda	1,3 abB	0,0 bC	6,5 aA	6,5 aB	3,6 B
Podridão negra	0,0 aB	0,5 aC	0,5 aC	0,0 aC	0,3 B
Podridão de <i>Aspergillus</i>	0,0 aB	0,0 aC	0,0 aC	1,0 aC	0,3 B
Total	22,7 b	19,5 b	25,0 ab	36,0 a	25,8

¹ Dados seguidos pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, em nível de 5 % pelo teste não paramétrico de comparação de múltiplas proporções.

2.2.3.2 Injúrias em frutos cítricos

2.2.3.2.1 Packinghouse de Matão

O beneficiamento foi eficiente em reduzir a fumagina (*Capnodium citri* Berk & Desm.) e demais doenças de pré-colheita para valores inferiores ou próximos a 1,0% em laranja ‘Valência’ (Figura 2.4A). Já em tangor ‘Murcott’ mesmo após o beneficiamento constatou-se uma média de 13,0% dos frutos com mancha marrom de alternaria (*Alternaria alternata* (Fr.) Keissler), em função da alta incidência da doença nos frutos provenientes do campo (22,0%) (Figura 2.4B). Embora tenha-se detectado frutos de laranja ‘Valência’ e de tangor ‘Murcott’ com sintomas de mancha preta nas etapas iniciais de beneficiamento, os mesmos não foram encontrados nos frutos embalados, mesmo após o armazenamento.

Figura 2.4 - Incidência média (%) de doenças de pré-colheita em frutos de laranja 'Valência' (Média de 2004 e 2005 – A) e tanger 'Murcott' (B) provenientes do *packinghouse* de Matão

As injúrias mecânicas de oleocelose foram crescentes com o beneficiamento de laranja 'Valência', com médias de 28,8; 38,4; 43,8; 52,6 e 46,0%, respectivamente para chegada, pré-lavagem, desverdecimento, banca e paleta (Figura 2.5A). A redução das injúrias mecânicas de oleocelose na última etapa deve-se a seleção de frutos mais rigorosa. Em tanger 'Murcott', os sintomas de oleocelose também foram crescentes, porém inferiores aos observados em laranja 'Valência' com valores de 7,5% na chegada do fruto, 19,5% na banca de embalagem e de 20,8% no paleta (Figura 2.5B). A incidência de frutos murchos ou desidratados, que são aqueles que apresentam deformação e perda de elasticidade, foi decrescente com o beneficiamento, com médias em laranja 'Valência', de 38,0; 23,0; 9,8; 1,7 e 2,0%, respectivamente para chegada, pré-lavagem, desverdecimento, banca e paleta (Figura 2.5A). De forma semelhante, os frutos de tanger 'Murcott' apresentaram incidências de frutos desidratados de 19,8; 3,5 e 0,8% nas três etapas amostradas, respectivamente (Figura 2.5B).

Outras injúrias nos frutos como as lesões cicatrizadas oriundas do ataque de pragas ou do atrito com as folhas foram reduzidas com o processo de seleção do beneficiamento, assim como as manchas de defensivos. Já as lesões não cicatrizadas, oriundas a partir da colheita, foram crescentes até a banca de beneficiamento (Figura 2.5). Foram, ainda, detectados outros defeitos

nos frutos de laranja e tangor, tais como prensado, quimeras, dano por etileno, dano por cera, entretanto, em baixas incidências, razão pela qual não foram apresentados.

Análise de correlação entre a incidência de injúrias mecânicas de oleocelose e de lesões não cicatrizadas com a incidência de bolor verde nas diferentes etapas de beneficiamento não foi feita em função dos baixos níveis de bolor verde observados em laranja ‘Valência’ e tangor ‘Murcott’ (<1,0%).

Figura 2.5 - Incidência média (%) de injúrias abióticas em frutos de laranja ‘Valência’ (Média de 2004 e 2005 – A) e tangor ‘Murcott’ (B) provenientes do packinghouse de Matão

As cochonilhas pardinha [*Selenaspidus articulatus* (Morgan)] e escama vírgula [*Cornuaspis beckii* (Newman) e *Insulaspis gloverii* (Packard)] foram os insetos praga mais frequentes nos frutos de laranja ‘Valência’ e tangor ‘Murcott’. O beneficiamento foi eficiente em reduzir, de forma geral, a incidência de frutos com cochonilhas e danos de esperanças (Orthoptera, Ensifera) e tripes [*Heliothrips haemorrhoidalis* (Bouché) e *Frankliniella insularis* (Franklin)] (Figura 2.6). Bicho-furão teve uma baixa incidência em laranja ‘Valência’, com média nos frutos oriundos da chegada e do paleta de 0,14% e 0,08%, respectivamente. Semelhantemente, observou-se uma baixa incidência de moscas-das-frutas nos frutos de laranja ‘Valência’, com incidência média de 0,08% na chegada e 0,17% no paleta. Estas duas pragas não

foram encontradas em tangor ‘Murcott’ em frutos de nenhuma das etapas amostradas. Foram, ainda, detectados outros insetos pragas ou danos decorrentes nos frutos cítricos, tais como falsa ferrugem [*Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead)], escama-farinha [*Pinnaspis aspidistrae* (Signoret)] e minador-dos-citros (*Phyllocnistis citrella* Station), entretanto, em baixas incidências (<1,0%), razão pela qual não foram apresentados.

Figura 2.6 - Incidência média (%) de insetos pragas em frutos de laranja ‘Valência’ (Média de 2004 e 2005 – A) e tangor ‘Murcott’ (B) provenientes do *packinghouse* de Matão

2.2.3.2.2 *Packinghouse* de Engenheiro Coelho

O beneficiamento não foi eficiente em reduzir as doenças de pré-colheita em frutos cítricos, exceto a fumagina que é lavável. A mancha preta foi a principal doença nos frutos de laranja com incidências no paleta entre 41,2% e 70,0%, seguida pela fumagina e melanose (*Diaporthe citri* Wolf) com valores próximo de 10,0% nos frutos beneficiados. Já em tangor ‘Murcott’ a principal doença foi a mancha marrom, com incidência média de 45,0% no paleta, seguida pela mancha preta com 21,5%. Incidência de verrugose (*Elsinoë australis* Bitancourt & Jenkins) e leprose (*Citrus leprosis virus* - CiLV) ficaram abaixo dos 2,0% nos diferentes frutos cítricos (Figura 2.7).

Figura 2.7 - Incidência (%) de doenças de pré-colheita em frutos de laranjas 'Pêra' (A), 'Lima' (B) e 'Natal' (C) e em tanger 'Murcott' (D) provenientes do *packinghouse* de Engenheiro Coelho. Média das safras de 2004/05 e 2005/06

As injúrias mecânicas de oleocelose foram crescentes com o beneficiamento de laranjas 'Pêra', 'Lima' e 'Natal' e de tanger 'Murcott', com incidências no paleta de 49,0; 59,8; 62,0 e 18,3%, respectivamente (Figura 2.8). A incidência de frutos desidratados foi decrescente com o beneficiamento de laranjas 'Pêra', 'Lima' e 'Natal' e de tanger 'Murcott', com incidências no paleta de 9,4; 12,7; 2,1 e 2,1%, respectivamente. As incidências de lesões cicatrizadas e não

cicatrizadas e manchas de defensivos pouco diferiram entre as etapas do beneficiamento. Foram, ainda, detectados outros defeitos nos frutos cítricos, tais como prensado, quimeras e dano por cera, entretanto, em baixas incidências (<1,0%), razão pela qual não foram apresentados.

Foi observada correlação entre a incidência média de injúrias mecânicas de oleocelose e a incidência de bolor verde com o beneficiamento de laranja ‘Pêra’, assim como entre a incidência média de lesões não cicatrizadas e o bolor verde em laranja ‘Pêra’ e tangor ‘Murcott’. Para as demais variedades cítricas não foram observadas correlações ($P>0,05$) entre a incidência de injúrias mecânicas e a incidência de bolor verde, entre as etapas do beneficiamento.

Figura 2.8 - Incidência (%) de injúrias abióticas em frutos de laranjas ‘Pêra’ (A), ‘Lima’ (B) e ‘Natal’ (C) e em tangor ‘Murcott’ (D) provenientes do *packinghouse* de Engenheiro Coelho. Média de 2004 e 2005

As cochonilhas pardinha e escama vírgula foram os insetos pragas mais freqüentes nos frutos de laranjas ‘Pêra’, ‘Lima’ e ‘Natal’ e de tangor ‘Murcott’. O beneficiamento não foi eficiente em reduzir, de forma geral, a incidência de frutos com cochonilhas e com sintomas de ataque de esperanças, tripes e ácaro da falsa ferrugem (Figura 2.9). Bicho-furão teve uma incidência média nos frutos oriundos da chegada, de laranjas ‘Pêra’, ‘Lima’ e ‘Natal’ e de tangor ‘Murcott’, de 1,13; 0,35; 0,50 e 0,25%, respectivamente, e no palete de 1,43; 0,98; 0,98 e 0,50%, respectivamente. A incidência média de moscas-das-frutas foi de 0,72; 0,93; 0,73 e 1,50% na chegada ao *packinghouse* e de 0,37; 0,95; 0,63 e 1,25% no palete, respectivamente. Foram, ainda, detectados outros insetos pragas ou danos decorrentes nos frutos cítricos, tais como ácaro branco (*Polyphagotarsonemus latus* (Banks)], escama-farinha e minador-dos-citros, entretanto, em baixas incidências (<1,0%), razão pela qual não foram apresentados.

Figura 2.9 - Incidência (%) de insetos pragas em frutos de laranjas 'Pêra' (A), 'Lima' (B) e 'Natal' (C) e em tanger 'Murcott' (D) provenientes do *packinghouse* de Engenheiro Coelho. Média das safras de 2004 e 2005

2.2.3.2.3 Ceagesp

A mancha preta em frutos de laranjas 'Pêra' e 'Lima' e de tanger 'Murcott' teve uma incidência média de 19,9; 18,5 e 19,8%. Bicho-furão teve uma incidência média nos respectivos frutos de 0,19; 0,07 e 0,25%, enquanto a incidência média de moscas-das-frutas foi de 0,00; 0,21 e 0,25%, respectivamente.

As injúrias mecânicas de oleocelose e frutos desidratados foram superiores em laranja 'Lima', seguido por laranja 'Pêra' e tanger 'Murcott'. Lesões não cicatrizadas foram superiores em tanger 'Murcott', seguido por laranjas 'Lima' e 'Pêra' (Figura 2.10). Não foram observadas

correlações ($P>0,05$) entre a incidência de injúrias mecânicas de oleocelose e de lesões não cicatrizadas com a incidência de bolor verde em frutos cítricos da Ceagesp nos diferentes meses amostrados.

Figura 2.10 - Incidência (%) de injúrias abióticas em frutos de laranjas ‘Pêra’ e ‘Lima’ e de tangor ‘Murcott’ provenientes da Ceagesp

2.2.3.3 Relação entre parâmetros físico-químicos e incidência de podridões

Os parâmetros físico-químicos °Brix e acidez (%) dos frutos cítricos e suas correlações com a incidência de bolor verde e o total de podridões estão expressos nas Tabelas 2.14 e 2.15, respectivamente. Correlações negativas ($P<0,05$) entre °Brix e a incidência de bolor verde e o total de podridões foram observadas em laranja ‘Lima’ da Ceagesp. Nas amostragens de laranja ‘Lima’ do *packinghouse* de Engenheiro Coelho e de demais variedades cítricas não foram observadas correlações entre os parâmetros físico-químicos avaliados e a incidência de podridões pós-colheita.

Tabela 2.14 – Valores médios de °Brix e acidez (%) de frutos cítricos amostrados em *packinghouses* de Matão e Engenheiro Coelho, SP e na Ceagesp

Variedade	Ano	°Brix	Acidez (%)
Matão			
Valência	2004	8,63	1,25
Valência	2005	8,61	1,06
Murcott	2004	12,01	0,75
Engenheiro Coelho			
Pêra	2004	8,95	0,65
Pêra	2005	8,74	0,69
Lima	2004	8,48	0,07
Lima	2005	8,04	0,08
Natal	2004	10,15	0,64
Natal	2005	8,98	0,74
Murcott	2004	...	...
Murcott	2005	10,83	0,72
Ceagesp			
Pêra	2006	9,28	0,77
Lima	2006	9,37	0,07
Murcott	2006	12,81	0,83

Tabela 2.15 - Coeficientes de correlação (r) entre parâmetros físico-químicos (°Brix e acidez) de frutos cítricos e a incidência de bolor verde e total de podridões em frutos cítricos amostrados em *packinghouses* de Matão e Engenheiro Coelho, SP e na Ceagesp

Variedade	Ano	°Brix/bolor verde	°Brix/total podridões	Acidez (%) / bolor verde	Acidez (%) / total podridões
Matão					
Valência	2004	0,14	-0,18	0,06	-0,55
Valência	2005	-0,13	0,14	0,20	0,49
Murcott	2004	-0,22	-0,51	0,79	0,50
Engenheiro Coelho					
Pêra	2004	0,18	-0,16	0,14	-0,36
Pêra	2005	0,39	0,27	0,45	0,13
Lima	2004	-0,96	-0,71	0,74	0,33
Lima	2005	-0,81	-0,24	-0,75	-0,30
Natal	2004	-0,72	-0,13	0,15	-0,50
Natal	2005	-0,53	-0,38	-0,78	-0,65
Murcott	2004	...	...	...	...
Murcott	2005	-0,71	-0,70	-0,58	-0,54
Ceagesp					
Pêra	2006	0,21	0,75	-0,19	-0,50
Lima	2006	-0,88*	-0,97*	0,37	0,61
Murcott	2006	0,54	0,76	-0,07	-0,69

* Significativo a 0,05.

2.2.3.4 Pontos críticos de impacto em linhas de beneficiamento de citros

Na linha de beneficiamento e classificação de Matão, 94,7% dos impactos variaram entre 30-95 G, causados principalmente por quedas em superfícies rígidas. A aceleração média máxima ocorreu na etapa 17 (Figura 2.11), referente ao retorno dos frutos lavados aos bins destinados ao

desverdecimento, atingindo 272 G, significativamente diferente das demais etapas ($P<0,05$). Correlação foi observada entre impacto na linha de beneficiamento e incidência de oleocelose em frutos de laranja ‘Valência’ ($r=0,97$ e $P<0,05$).

Figura 2.11 - Acelerações médias encontradas na linha de beneficiamento e classificação de Matão, em diferentes pontos de transferência: 1-Recebimento; 2-Lona de entrada; 3-Esteira espalhadora; 4-Fim da esteira espalhadora; 5-Entrada lavagem; 6-Entrada da balsa; 7-Esteira (escolha principal); 8-Saída 1 Esteira (escolha principal); 9-Degrau; 10-Saída 2 (escolha principal); 11-Entrada da classificação; 12-Saída da classificação; 13- Retorno do classificador; 14-Retorno da esteira; 15-Degrau 1 (talisca de retorno); 16-Degrau 2 (talisca de retorno); 17-Entrada em bins de recebimento; 18-Entrada para banca de classificação; 19-Saída da banca de classificação

Para a linha de beneficiamento e classificação de Engenheiro Coelho, 93,7% dos impactos variaram entre 24-131 G. A aceleração média máxima ocorreu na etapa 1, com 225,6 G (Figura 2.12), referente ao descarregamento dos frutos do caminhão em superfície de concreto, significativamente diferente das demais etapas ($P<0,05$). Quando a superfície do recebimento era protegida com um colchão de espuma, observou-se que a aceleração média diminuiu para 157 G.

Figura 2.12 - Acelerações médias encontradas na linha de beneficiamento e classificação de Engenheiro Coelho, em diferentes pontos de transferência: 1-Recebimento (sem colchão); 1'-Recebimento (com colchão); 2-Entrada na linha (1); 3-Entrada na linha (2); 4-Entrada da pré-classificação; 5-Saída da pré-classificação; 6-Entrada da lavagem; 7-Saída da lavagem; 8-Entrada do secador (1); 9-Saída do secador (1); 10-Entrada do secador (2); 11-Saída do secador (2); 12-Entrada da classificação; 13-Saída do rolete; 14-Esteira de separação para classificação; 15-Saída da classificação/entrada da banca; 16-Saída da banca.

2.2.4 Discussão

Os resultados obtidos no *packinghouse* de Engenheiro Coelho e na Ceagesp foram equiparáveis e confirmam a importância econômica das podridões pós-colheita em citros, uma vez que essas doenças desqualificam a fruta para comercialização, como destacado por Eckert (1993), que mencionou perdas de até 50% durante o período de comercialização. A incidência comparativamente inferior de podridões, no *packinghouse* de Matão, deve-se, provavelmente, ao manejo mais intensivo dos pomares, e em especial do manejo fitossanitário, uma vez que os frutos destinados ao mercado externo apresentaram menores incidências da maioria das doenças de pré-colheita e de pragas. Incidência ainda menor de podridões em frutos cítricos foi obtida com a desinfecção com cloro e detergente e o tratamento fungicida subsequente, em 2004.

Diferenças na incidência das podridões entre os períodos de coleta de frutos, na Ceagesp, também foram verificadas por Dantas et al. (2003), e provavelmente, devem-se às condições ambientais em cada mês de amostragem, pois a frequência e a intensidade das doenças são fortemente influenciadas pela variação ambiental imposta durante todas as etapas da pré e pós-colheita (AGRIOS, 1997).

O acréscimo observado na incidência de podridões fúngicas com o beneficiamento dos frutos de laranja ‘Pêra’ e tangor ‘Murcott’ no *packinghouse* de Engenheiro Coelho deve, uma vez que houve correlação, ser consequência do aumento das injúrias de oleocelose e lesões não cicatrizadas. Embora injúrias mecânicas não sejam facilmente visualizadas durante a seleção no *packinghouse* elas servem de porta de entrada para patógenos, como *P. digitatum*, além de com o tempo, os locais injuriados tornam-se escuros e encharcados, de aspecto não satisfatório (BROWN; ECKERT, 1993). Aumento da incidência de oleocelose pode ocorrer quando a colheita é efetuada após irrigações excessivas, que provoca a turgescência da casca, tornando-a mais suscetível (POZZAN; TRIBONI, 2005). As laranjas beneficiadas em Engenheiro Coelho, assim como os frutos do *packinghouse* de Matão, apresentaram uma leve redução, porém não significativa, da incidência de podridões com o embalamento, possivelmente devido à retirada de frutos injuriados pelo processo de seleção manual na banca.

Dentre as variedades cítricas estudadas destaca-se, em tangor ‘Murcott’, o incremento significativo de 96,4% na incidência de podridões com o beneficiamento no *packinghouse* de Engenheiro Coelho, onde não era efetuado tratamento fungicida pós-colheita e a sua maior incidência de podridões na Ceagesp quando comparado às laranjas ‘Pêra’ e ‘Lima’. Essa elevada incidência de podridões pode ser atribuída às lesões não cicatrizadas que foram crescentes com o beneficiamento no *packinghouse* de Engenheiro Coelho, como já destacado, e superiores em tangor ‘Murcott’ comparado às laranjas doces. Segundo Pio et al. (2005) as tangerinas e seus híbridos são muito sensíveis às injúrias decorrentes do manuseio na colheita, pós-colheita e transporte e que servem de porta de entrada aos patógenos.

O bolor verde foi a principal doença nos frutos cítricos destinados ao mercado interno. Em regiões semiáridas, é considerada a mais importante doença pós-colheita, principalmente em laranjas e tangerinas, podendo, em adição ao bolor azul, representar mais de 90% do total de danos, durante as fases de transporte, armazenamento e comercialização (TUSET, 1987;

ECKERT; EAKS, 1989; BROWING et al., 1995; AGRIOS, 1997). A elevada incidência da doença pode ser atribuída à elevada produção de esporos na superfície dos frutos, facilmente dispersos pelo ar, sendo abundantes nos pomares e nos *packinghouses*, principalmente nos locais de viragem das caixas. Potencialmente, um único esporo de *P. digitatum* pode produzir 100 milhões de esporos em um fruto infectado, após sete dias sob condições ambientais ótimas (BROWN, 2007). É por essa razão que recomenda-se o isolamento deste local em relação as etapas seguintes de beneficiamento (LARANJEIRA et al., 2005).

A evolução do bolor verde segundo o modelo monomolecular e as diferenças nos valores de inóculo inicial entre as variedades coletadas no *packinghouse* de Engenheiro Coelho indicam que a doença inicia-se com inóculo proveniente provavelmente do campo, uma vez que as origens e meios de transporte das frutas foram diferentes.

A redução do inóculo de *P. digitatum*, no *packinghouse* de Matão, com a lavagem dos frutos cítricos com detergente e hipoclorito de sódio, assim como a proteção complementar dos frutos com os fungicidas tiabendazol e imazalil, permitiu reduzir a incidência de bolor verde para valores abaixo de 0,5% em laranja e a 0,0% em tangerina.

A podridão peduncular de *Lasiodiplodia* foi a doença mais freqüente em laranjas beneficiadas em Matão, e a segunda mais importante no mercado interno para a maioria das variedades cítricas, corroborando os resultados obtidos por Dantas et al. (2003), na variedade 'Pêra' comercializada na Central de Abastecimento de Recife, onde a podridão peduncular de *Lasiodiplodia* foi a principal doença. A elevada incidência em Recife foi atribuída à temperatura do local de armazenamento dos frutos, em torno de 30°C, aliada ao uso do etileno para o desverdecimento dos frutos, que causa a abscisão precoce do botão, facilitando a entrada do patógeno que se encontra latente nos tecidos necróticos do botão (BARMORE; BROWN, 1985). Segundo Brown (1988) a doença desenvolve-se rapidamente durante e após excessivo desverdecimento e pode ser observada no *packinghouse*, sendo mais freqüente sua observação na chegada ao mercado ou logo depois. Neste trabalho, a incidência da podridão peduncular de *Lasiodiplodia* foi maior em frutos de laranja desverdecidos, inclusive nos frutos que receberam aplicação de fungicidas em 2005.

Antracnose, em geral, ocorre em frutos previamente injuriados por queimaduras de sol, ventos, pragas e pulverizações inadequadas com defensivos agrícolas. Contudo, em algumas

variedades de tangerina e seus híbridos, os sintomas da doença podem aparecer mesmo em frutos não injuriados (FEICHTENBERGER et al., 2005). Este foi o caso do tangor ‘Murcott’, onde a doença foi a de maior incidência em frutos destinados à exportação e a segunda em importância nos frutos beneficiados no *packinghouse* de Engenheiro Coelho. Na Florida, a antracnose é a principal doença pós-colheita em tangerinas submetidas ao desverdecimento (BROWN, 1988). *C. gloeosporioides* coloniza e esporula nos ramos secos da árvore. Através de respingos de água da chuva ocorre a dispersão dos conídios para aos frutos imaturos, onde o fungo permanece quiescente na forma de apressório e infecta após a colheita (ISMAIL; ZHANG, 2004). A lavagem dos frutos antes do desverdecimento remove muito dos apressórios, reduzindo a incidência da doença (BROWN, 1975). Difícil dizer da lavagem aqui, pois a incidência foi relativamente baixa, provavelmente devido ao baixo inóculo no campo.

A podridão azeda ocorre principalmente em frutos maduros ou em avançado estágio de maturação, localizados próximos ao solo, já que o fungo é um saprófita habitante do solo e que, por efeito da chuva, atinge os frutos (LARANJEIRA et al., 2005). Os frutos doentes exalam um forte e desagradável odor ácido e pútrido, sendo considerada a mais desagradável doença pós-colheita em citros (BROWN; ECKERT, 1993). A podridão azeda foi relatada por Eckert e Brown (1986) e Eckert (1993) como a segunda doença pós-colheita dos citros em importância, após os bolores, com infecção por fermentos, e um dos mais sérios problemas para a indústria de limão na Califórnia, devido ao longo período de conservação do fruto (ECKERT; BROWN, 1986). Neste trabalho, a doença assumiu maior importância em frutos de laranja ‘Lima’ beneficiados no *packinghouse* de Engenheiro Coelho e em frutos de tangor ‘Murcott’ da Ceagesp.

Phomopsis citri avança em direção à região central do fruto semelhante a *L. theobromae*, porém mais lentamente e, raramente, atinge a extremidade estilar, causando perdas de maiores proporções somente quando os frutos demoram a ser comercializados (FEICHTENBERGER et al., 2005). O aumento na incidência da doença a partir da segunda semana de armazenamento foi observado em laranja ‘Lima’ e ‘Natal’ beneficiadas no *packinghouse* de Engenheiro Coelho. Importância de *P. citri* já foi verificada na Austrália e no Japão (SINGH; RIPPON; GILBERT, 1977). O fungo que provoca a doença é o mesmo que provoca a melanose [*Diaporthe citri* (Fawc.) Wolf].

Associadas à podridão de *Fusarium* foram identificadas as espécies patogênicas *F. oxysporum* Schlecht. e *F. moniliforme* Sheldon. Estes resultados são concordantes com relatos que apontam várias espécies de *Fusarium* ocasionando podridões em frutos cítricos (BROWN; SCHIFFMANN-NADEL; ECKERT, 1993).

Os índices de descarte de frutos em pós-colheita são geralmente reflexos dos percentuais de incidência das doenças verificados nessa fase, uma vez que os frutos são desqualificados para comercialização pela simples presença dos sintomas, independentemente da intensidade das mesmas (GULLINO, 1994). Assim, a grande diversidade de doenças pós-colheita provenientes de infecções latentes e/ou ativas constatada nos frutos destinados ao mercado interno sugere a necessidade do emprego de medidas de controle mais efetivas durante as fases de produção e pós-colheita de frutos cítricos, visando principalmente evitar ferimentos nos frutos que são portas de entrada de patógenos (BROWN; ECKERT, 1993). Boas práticas agrícolas, incluindo adequada fertilização, controle de pragas, podas de limpeza e remoção de frutos caídos no pomar, reduzem os tecidos vegetais mortos e conseqüentemente a fonte de inóculo de patógenos, como *C. gloeosporioides*, *L. theobromae*, *P. citri*, *A. citri* e *Penicillium* spp. Infecções em pós-colheita podem ser reduzidas através do manuseio cuidadoso dos frutos durante as operações de colheita, transporte, processamento e armazenamento; da utilização de *drencher* para a limpeza dos frutos antes de entrarem no *packinghouse*; e da higienização, com produtos a base de cloro e amônia quaternária, das caixas de colheita e instalações (máquinas, câmaras, piso, etc.) do *packinghouse*. Aplicações de tiofanato metílico e benomil em pré-colheita reduziram pela metade a incidência de podridões em frutos cítricos, após o armazenamento (RITENOUR et al., 2004). Do mesmo modo, redução de podridões fúngicas pode ser obtida pelo emprego dos fungicidas tiabendazol e imazalil em pós-colheita, como observado em laranja e tangor em 2004, embora, em alguns casos, como em laranja em 2005, as podridões pedunculares tenham sido maiores, mesmo após a aplicação de fungicidas. Estima-se que sem o uso de tiabendazol em pós-colheita na Flórida, a venda de frutos cítricos poderia sofrer redução de até 50% (ISMAIL; ZHANG, 2004). A regulação do ambiente pelo uso de câmaras frias no armazenamento e contêineres refrigerados no transporte dos frutos beneficiados atrasa consideravelmente o desenvolvimento das podridões, sendo prática importante, especialmente se combinada com o tratamento químico, para a redução das doenças em pós-colheita.

As doenças de pré-colheita foram, a despeito da variedade, comparativamente menor nos frutos beneficiados no *packinghouse* de Matão comparado ao de Engenheiro Coelho, enquanto no primeiro observou-se redução na incidência das doenças com o beneficiamento, o mesmo não se verificou em Engenheiro Coelho, evidenciando a aceitação de frutos de menor qualidade por parte do mercado consumidor interno. Embora as doenças de pré-colheita não inutilizem a polpa, os sintomas de manchas depreciam o valor comercial dos frutos. Em estudo das exigências na hora da compra por parte do consumidor, do varejista e do atacadista de citros na Ceagesp, a aparência (ausência de defeitos) veio em primeiro lugar, sendo que os piores defeitos observados foram, em ordem de importância: amassado, podridão, mancha, dano mecânico e tamanho pequeno (GUTIERREZ; ALMEIDA, 2005). As principais medidas de controle para esse grupo de doenças baseiam-se nos princípios de proteção e imunização, por meio de aplicações preventivas de fungicidas, geralmente após o florescimento, e do uso de variedades resistentes quando disponíveis.

O recobrimento dos frutos cítricos com cera a base de carnaúba e resinas vegetais, nas etapas finais do beneficiamento (banca e palete), permitiu uma menor desidratação e uma maior conservação dos frutos no decorrer do período de armazenamento. A perda de massa pela transpiração ocorre principalmente da água existente nas células da casca, flavedo e albedo dos frutos. Considerando que a cera promove um revestimento sobre a casca dos frutos, bloqueia os estômatos e de certa forma, promove uma modificação das trocas gasosas dos frutos, sua eficiência na redução da transpiração é maior (PETRACEK; DOU; PAO, 1998). Além de reduzir a perda de massa (umidade) e, conseqüentemente, o murchamento, a aplicação de cera também tem por finalidade dar maior brilho à fruta, melhorando a qualidade visual da mesma (KAPLAN, 1986). Segundo Waks et al. (1985) as ceras minimizam desordens na casca e o colapso do tecido próximo ao pecíolo e protegem o fruto da entrada de patógenos.

Dentre as pragas, a incidência de moscas-das-frutas e bicho-furão foi relativamente baixa em pós-colheita, ficando abaixo de 0,3% nos frutos do *packinghouse* de Matão e da Ceagesp. Entretanto, considerando que os frutos atacados apodrecem e caem estima-se que os danos ocasionados pelas moscas-das-frutas possam ser de 30 a 50% nas condições brasileiras (ORLANDO; SAMPAIO, 1973). O dano por *C. capitata* varia de 1,2 a 4,1 toneladas de frutos por hectare (PAIVA, 2004). No caso do bicho-furão, em altas infestações os danos são de 0,5 a

1,5 caixa de frutos por árvore atacada, com prejuízos da ordem de 50 milhões de dólares por ano, no Estado de São Paulo (PARRA et al., 2005). As cochonilhas, assim como as doenças de pré-colheita tiveram uma redução na incidência com o beneficiamento no *packinghouse* de Matão. A cochonilha pardinha foi a mais freqüente nos frutos cítricos. Constatada em grandes populações, em 1984, na região de Bebedouro, a pardinha foi considerada uma das mais importantes cochonilhas na cultura dos citros (GRAVENA, 1995). As cochonilhas promovem a sucção da seiva e injeção de toxinas, promovendo, sob ataques intensos, a queda de frutos. No local da punctura, manchas verdes permanecem após o tratamento em *packinghouse*, depreciando comercialmente o produto. Como dano indireto, há o desenvolvimento de fumagina, que dificulta os processos fisiológicos da planta (fotossíntese e transpiração). O líquido açucarado expelido pelas cochonilhas (*honeydew*) favorece o desenvolvimento da fumagina, que recobre o fruto pelo desenvolvimento do patógeno (PARRA et al., 2005).

Associações entre os parâmetros físico-químicos de maturação e a incidência de podridões foram, em geral, variáveis e não significativos. Embora associações entre o aumento das infecções com a elevação da concentração de sólidos solúveis ou a diminuição da acidez tenham sido relatadas em frutos de cereja (NORTHOVER; BIGGS, 1990), maçã (SHARMA; KAUL, 1988) e pêssgo (SOUZA, 2007), essas características não auxiliaram no entendimento das causas de resistência/suscetibilidade dos frutos cítricos, devendo ser consideradas apenas no planejamento da colheita. Segundo Medina et al. (2005), durante a maturação dos citros, não ocorrem variações drásticas na composição química, não apresentando um ponto definido de maturação.

Os valores médios de aceleração encontrados nas linhas de beneficiamento dos *packinghouses* indicam desempenho comparável aos encontrados por Miller e Wagner (1991), onde 80% dos impactos variaram entre 25-150 G. A aceleração de 272 G detectada no retorno dos frutos lavados aos bins destinados ao desverdecimento corresponde à situação mais crítica possível, na qual os primeiros frutos a cair sofrem uma queda maior, e conseqüente impacto superior aos últimos frutos. No *packinghouse* de Engenheiro Coelho, a aceleração máxima de 226 G detectada no descarregamento dos frutos do caminhão diretamente sobre uma superfície de concreto, teve uma redução de 30% no impacto quando a superfície era protegida com um colchão de espuma, com o objetivo de amortecer o impacto. Embora estes valores tenham sido

altos, Miller e Wagner, (1991) observaram em etapas de recebimento que a aceleração máxima pode atingir 300 G. A ocorrência de injúrias mecânicas, provocadas pelo beneficiamento de pomelos (*Citrus paradise* Macf.), observada por Skaria et al. (2003), foi acompanhada por um aumento na incidência de podridões. Frutos beneficiados, mesmo tratados com tiabendazol e ortofenilfenato de sódio, apresentaram incidência superior de bolor verde comparados aos frutos cuidadosamente empacotados no campo, sem tratamento pós-colheita com fungicidas (SKARIA et al., 2003). Frutos de lima ácida ‘Tahiti’ submetidos a impactos mostraram-se bastante prejudicados na aparência externa, com sintomas de podridão estilar e redução no período de comercialização de seis dias, se comparado aos 15 dias de comercialização dos frutos que não sofreram impactos (DURIGAN; MATTIUZ; DURIGAN, 2005). Sargent, Brecht e Zoellner (1992) relatam que modificações em alguns pontos da linha de classificação de tomates de mesa, com protetores de superfície proporcionaram redução em até 50% na pressão de impacto. Timm e Brown (1991) também relatam um decréscimo no impacto em linhas de classificação de abacate, mamão e abacaxi, quando foram utilizados protetores emborrachados. A diminuição nos valores encontrados pode ser obtida através da redução da altura de queda dos frutos e com o uso de materiais amortecedores, reduzindo as superfícies abrasivas, como concreto ou metais, que são a causa mais provável de danos aos frutos (MILLER; WAGNER, 1991).

2.3 Conclusões

Com base nos resultados obtidos pode-se concluir:

- A incidência de doenças de pós e pré-colheita em frutos cítricos destinados à exportação é baixa, muito menor que a de frutos beneficiados para o mercado interno. Isto se deve às boas práticas agrícolas adotadas no *packinghouse* de exportação que incluem: procedência de frutos com baixa fonte de inóculo dos patógenos, alta eficiência do processo de seleção de frutos injuriados e tratamento com hipoclorito de sódio e fungicidas em pós-colheita;
- A incidência de frutos cítricos com cochonilhas é elevada, tanto em frutos destinados à exportação quanto ao mercado interno e supera a incidência de doenças;

- A elevada incidência de oleocelose aliada ao inóculo alto de *P. digitatum* e à ausência de tratamento fungicida em pós-colheita, fazem do bolor verde a principal doença pós-colheita em frutos cítricos destinados ao mercado interno;
- Os parâmetros °Brix e acidez (%) não auxiliam no entendimento das causas de resistência/suscetibilidade dos frutos cítricos as podridões;
- A incidência de injúrias mecânicas nos frutos cítricos é similar nos dois *packighouses* e isto se deve a níveis médios de impacto equiparáveis. O uso de superfícies protetoras ou a redução da altura de queda dos frutos podem diminuir a magnitude de impacto e conseqüentemente os danos físicos aos frutos.

Referências

- AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 4th ed. San Diego: Academic Press, 1997. 803 p.
- BARMORE, C.R.; BROWN, G.E. Influence of ethylene on increased susceptibility of oranges to *Diplodia natalensis*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 69, p. 228-230, 1985.
- BOSTOCK, R.M.; STERMER, B.A. Perspectives on wound healing in resistance to pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo alto, v. 27, p. 343-371, 1989.
- BOTEON, M.; NEVES, A.E.M. Citricultura brasileira aspectos econômicos. In: MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônomo e Fundag, 2005. cap. 2, p.19-36.
- BROWN, G.E. **Quality control assessment methodology related to citrus decay control**. Disponível em: <<http://flcitrus.ifas.ufl.edu/UF%20IFAS%20Short%20Course%20Proceedings/Quality%20Control/quality1-26tc.pdf>>. Acesso em: 1 fev. 2007.
- BROWN, G.E. Factors affecting postharvest development of *Colletotrichum gloeosporioides* in citrus fruits. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 65, p. 404-409, 1975.
- BROWN, G.E. Decay control/fungicides applications. In: BROW, G.E. (Ed.). **Fresh citrus quality short course proceedings**. AREC, Fort Pierce, FL, USA, 1988. p. 1-24.
- BROWN, G.E.; SCHIFFMANN-NADEL, M.; ECKERT, J.W. Fusarium Rot. In: WHITESIDE, J. O., GARNSEY, S. M. & TIMMER, L. W. (Ed.). **Compendium of Citrus Diseases**. Saint Paul: APS Press, 1993. p. 35-35.

- BROWN, G.E.; ECKERT, J.W. Green mold. In: WHITESIDE, J. O.; GARNSEY, S. M.; TIMMER, L. W. (Ed.). **Compendium of Citrus Diseases**. Saint Paul: APS Press, 1993. p. 35-36.
- BROWN, G.E.; MILLER, W.R. Maintaining fruit health after harvest. In: TIMMER, L.W.; DUNCAN, L.W. (Ed.). **Citrus Healthy Management**. Saint Paul: APS Press, 1999. p.175-92.
- BROWN, G.E.; ECKERT, J.W. Diplodia stem-end rot. In: TIMMER, L. W., GARNSEY, S. M.; GRAHAM, J. H. (Ed.). **Compendium of Citrus Diseases**. 2nd ed. Saint Paul: APS Press, 2000. p. 43-44.
- BROWING, H.; MCGOVERN, R.; JACKSON, L.; CALVERT, D.; WARDOWSKI, W. **Florida Citrus Diagnostic Guide**. Lake Alfred: Florida Science Source, 1995. 244 p.
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley, 1990. 532 p.
- CARVALHO, C.R.L.; MANTOVANI, D.M.B.; CARVALHO, P.R.N. **Análises químicas de alimentos**: manual técnico do Instituto de Tecnologia de Alimentos. Campinas, 1990. 121 p.
- DANTAS, S.A.F.; OLIVEIRA, S.M.A.; MICHEREFF, S.J.; NASCIMENTO, L.C.; GURGEL, L.M.S.; PESSOA W.R.L.S. Doenças fúngicas pós-colheita em mamões e laranjas comercializados na Central de Abastecimento do Recife. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 528-533, 2003.
- DURIGAN, M.F.B.; MATTIUZ, B.H.; DURIGAN J.F. Injúrias mecânicas na qualidade pós-colheita de lima ácida 'Tahiti' armazenada sob condição ambiente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, p. 369-372, 2005.
- ECKERT, J.W. Post-harvest diseases of citrus fruits. **Agriculture Outlook**, Paris, v. 54, p. 225-232, 1993.
- ECKERT, J.W.; BROWN, G.E. Post-harvest citrus diseases and their control. In: WARDOWSKI, W.F.; NAGY, S.; GRIERSON, W. (Ed.). **Fresh citrus fruits**. Westport: Van Nostrand Reinhold, 1986. p. 315-353.
- ECKERT, J.W.; EAKS, I.L. Postharvest disorders and diseases of citrus fruits. In: REUTER, W.; CALAVAN, E.C.; CARMAN, G.E. (Ed.). **The citrus industry**. Berkeley: University of California Press, 1989. v. 5, p. 179-260.
- FAWCETT, H.S. A spotting of citrus fruits due to the action of oil liberated from the rind. **California Agricultural Experiment Station Bulletin**, California, v. 266, p. 259-270, 1916.

FEICHTENBERGER, E.; BASSANEZI, R.B.; SPÓSITO, M.B.; BELASQUE JUNIOR, J. Doenças dos citros (*Citrus* spp.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 4.ed. São Paulo. Ceres, 2005. v. 2, p. 239-269.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. **Agrianual 2007: anuário estatístico da agricultura brasileira**. São Paulo, 277-313: citros. 2007.

GOLOMB, A.; BEN-YEROSHUA, S.; SARIG, Y. High-density polyethylene wrap improves wound healing and lengthens shelf-life of mechanically harvested grapefruit. **Journal of American Society Horticultural Society**, Scottsdale, v. 2, p. 155-159, 1984.

GRAVENA, S. **Manual do pragueiro para manejo ecológico de pragas dos citros**. 5.ed. Jaboticabal: Gravena-ManEcol, 1995. 40 p.

GUARDIOLA, J.L. Componentes nutritivos de la naranja. In: Conselleria d'Agricultura, Pesca i Alimentación (ed.). **Naranja y salud**. Valencia: Fundación Valenciana de Estudios Avanzados, 1999. p.143-162.

GULLINO, M.L. Lotta 'biologica a funghi agenti de arciumi della frutta in post-raccolta. **Informatore Fitopatogico**, Bologna, v. 4, p. 5-13, 1994.

GUTIERREZ, A.S.D.; ALMEIDA, G.V.B. Beneficiamento e comercialização de frutos *in natura*. In: MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag, 2005. cap. 27, p. 823-836.

ISMAIL, M.; ZHANG, J. Post-harvest citrus disease control. **Outlooks on Pest Management**, Buckinghamshire, v. 15, p. 29-35, 2004.

KAPLAN, H.J. Washing, waxing, and color-adding. In: WARDOWSKI, W.F.; NAGY; GRIERSON, W. (Ed.). **Fresh citrus fruit**. New York: AVI, 1986. p. 379-395.

LARANJEIRA, F.F.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; AGUILAR-VILDOSO, C.I.; DELLA COLLETA FILHO, H. Fungos, procariotos e doenças abióticas. In: MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag, 2005. cap. 18, p. 511-558.

MARI, M.; CASALINI, L.; BARALDI, E.; BERTOLINI, P.; PRATELLA, G. C. Susceptibility of apricot and peach fruit to *Monilinia laxa* during phonological stages. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 30, p. 105-109, 2003.

MEDINA, C.L.; RENA, A.B.; SIQUEIRA, D.L.; MACHADO, E.C. Fisiologia dos citros. In: MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag, 2005. cap. 7, p. 147-195.

- MILLER, W.M.; WAGNER, C. Florida citrus packing line studies with an instrumented sphere. **Applied Engineering in Agriculture**, St. Joseph, v. 7, p. 577-581, 1991.
- NEVES, M.F.; LOPES, F.F. **Estratégias para a laranja no Brasil**. São Paulo: Atlas, 2005. 225 p.
- NEVES, M.F.; LOPES, F.F. Mapeamento e quantificação do sistema agroindustrial citrícola. In: WORKSHOP DO SISTEMA AGROINDUSTRIAL CITRÍCOLA, 2004, Ribeirão Preto: Pensa/Fearp-USP, **Relatório...** Ribeirão Preto, 2004. 10 p.
- NEVES, M.F.; LOPES, F.F.; ROSSI, R.M.; MELO, P.A.O. Metodologias de análise de cadeias agroindustriais: uma aplicação para citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, p. 468-473, 2004.
- NORTHOVER, J.; BIGGS, A.R. Susceptibility of immature and mature sweet and sour cherries to *Monilinia fructicola*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 74, p. 280-284, 1990.
- OEPP/EPPO. Diagnostic protocols for regulated pests. *Guignardia citricarpa*. **Bulletin of the OEPP/EPPO**, Paris, v. 33, p. 271-280, 2003.
- OEPP/EPPO. Diagnostics: *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. **Bulletin of the OEPP/EPPO**, Paris, v. 35, p. 289-294, 2005.
- OHR, H.D.; ECKERT, J.W. **Post-harvest diseases of citrus fruits in California**. Riverside: University of California, Cooperative Extension Service, 1985. 6 p.
- ORLANDO, A.; SAMPAIO, A.S. Moscas-das-frutas - notas sobre o reconhecimento e controle. **O Biológico**, São Paulo, v. 39, p. 143-150, 1973.
- PAIVA, P.E.B. **Moscas-das-frutas em citros: densidade de armadilhas para monitoramento, efeito de pH na atração e determinação do nível de controle**. 2004. 48 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.
- PARRA, J.R.P.; OLIVEIRA, H.N.; PINTO S.N. **Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos dos citros**. Piracicaba: A. S. Pinto, 2003. 140 p.
- PARRA, J.R.P.; LOPES, J.R.S.; ZUCCHI, R.A.; GUEDES, J.V.C. Biologia de insetos-praga e vetores. In: MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag, 2005. cap. 22, p. 657-683.
- PEREIRA, M.E.C.; CANTILLANO, F.F.; GUTIEREZ, A.S.D.; ALMEIDA, G.V.B. **Procedimentos pós-colheita na produção integrada de citros**. Cruz das Almas: Embrapa mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. 40 p.

PETRACEK, P.D.; DOU, H.; PAO, S. The influence of applied waxes on postharvest physiological behavior and pitting of grapefruit. **Postharvest Biology and Technology**, Wageningen, v. 14, p. 99-106, 1998.

PIO, R.M.; FIGUEIREDO, J.O.; STUCHI, E.S.; CARDOSO, S.A.B. Variedades copas. In: MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico e Fundag, 2005. cap. 3, p. 37-60.

POZZAN, M.; TRIBONI, H.R. Colheita e qualidade do fruto. In: MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico e Fundag, 2005. cap. 26, p. 799-822.

RITENOUR, M.A.; PELOSI, R.R.; BURTON, M.S.; STOVER, E.W.; DOU, H.; MCCOLLUM, T.G. Assessing the efficacy of preharvest fungicide applications to control postharvest diseases of Florida citrus. **Hortechology**, Scottsdale, v. 14, n. 1, p. 58-63, 2004.

SARDI, P.T. **Horticulture: Mechanical Injury**. Disponível em: <http://www.sardi.sa.gov.au/pages/horticulture/citrus/hort_citp_postinjury.htm:sectID=306&tempID=99>. Acesso em: 15 fev. 2005.

SARGENT, S.A.; BRECHT, J.K.; ZOELLNER, J.J. Sensitivity of tomatoes at mature -green and breaker ripeness stages to internal bruising. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 117, p. 119-123, 1992.

SHARMA, R.L.; KAUL, J.L. Susceptibility of apples to brown rot in relation to quantitative characters. **Indian Phytopathology**, Nova Delhi, v. 43, p. 113-115, 1988.

SINGH, G.; RIPPON, L.E.; GILBERT, W.S. 2,4-D residues in stored lemons from post-harvest treatments. **Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry**, Melbourne, v. 17, p. 167-170, 1977.

SKARIA, M.; EAYRE, C.G.; MIAO, H.; SOLIS-GRACIA, N.; MACKEY, B. Effect of packing on rot and fruit damage in Rio Red Grapefruit. **Subtropical Plant Science**, Edinburg, v. 55, p. 75-78, 2003.

SOUZA, D.C. **Progresso temporal e padrão espacial de epidemias da podridão parda do pessegueiro**. 2007. 63 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

SPÓSITO, M.B.; BASSANEZI, R.B. Problemas sanitários na pós-colheita para a exportação de frutas cítricas e métodos de controle. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS: PATOLOGIA PÓS-COLHEITA DE FRUTOS E HORTALIÇAS, 2., 2002, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA/FAEPE, 2002. p. 79-83.

TIMM, E.J.; BROWN, G.K. Impacts recorded on avocado, papaya, and pineapple packing lines. **Applied Engineering in Agriculture**, St. Joseph, v. 7, p. 418-422, 1991.

TUSET, J.J. **Podredumbres de los frutos cítricos**. Valência: Generalitat Valenciana, 1987. 206 p.

WAKS, J.; SCHIFFMANN-NADEL, M.; LOMANIEC, E.; CHALUTZ, E. Relation between fruit waxing and development of rots in citrus fruit during storage. **Plant Disease Reporter**, Saint Paul, v.69, p. 869-870, 1985.

ZADOKS, J.C. On the conceptual basis of crop loss assessment: the threshold theory. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 23, p. 455-473, 1985.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice-Hall, 1999. 663 p.

3 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO FÚNGICA DE *PACKINGHOUSES* CITRÍCOLAS E DA CEAGESP-SP

Resumo

A quantidade e a qualidade de esporos fúngicos influem decisivamente nos níveis de doenças pós-colheita dos citros. Este trabalho visou caracterizar a micoflora ambiental e da superfície de equipamentos e instalações de dois *packinghouses* cítricos paulistas, em 2004 e 2005, um com frutos destinados a exportação (Matão, SP) e outro ao mercado interno (Engenheiro Coelho, SP), e a micoflora ambiental de atacadistas cítricos da Ceagesp-SP, em 2006, assim como a presença de isolados de *Penicillium* spp. resistentes a fungicidas nos *packinghouses*. A micoflora ambiental foi amostrada mediante o método gravimétrico, com placas de Petri, contendo meio batata-dextrose-ágar + pentabiótico, abertas por dois minutos. A superfície de equipamentos e instalações foi amostrada mediante placas Rodac. A população fúngica no ambiente e na superfície do *packinghouse* de Matão foi de 12,3 e 52,3 ufc/placa, respectivamente, enquanto a população fúngica no *packinghouse* de Engenheiro Coelho foi de 46,3 e 68,2 ufc/placa, respectivamente. Posição intermediária aos *packinghouses* foi observada nos atacadistas que comercializavam frutos cítricos na Ceagesp, com uma população fúngica ambiental de 25,3 ufc/placa. *Cladosporium* e *Penicillium* foram os gêneros fúngicos mais abundantes nos *packinghouses* e na Ceagesp. A contaminação de “zonas limpas” nos *packinghouses* (lavagem dos frutos, banca, caixa e contêiner) não foi substancialmente menor que nas “zonas sujas” (recepção dos frutos, primeira seleção). A porcentagem de isolados de *P. digitatum* resistentes a tiabendazol, em Matão, foi de 25,9 no ambiente e de 30,1 na superfície, enquanto que para imazalil foi de 1,5 no ambiente e de 16,0 na superfície. Em Engenheiro Coelho, a porcentagem de isolados de *P. digitatum* resistente a tiabendazol foi de 51,9 no ambiente e de 39,2 na superfície, enquanto que para imazalil foi de 0,1 no ambiente e de 0,9 na superfície. As frequências de *P. digitatum* resistentes aos fungicidas não diferiram entre as zonas e superfícies amostradas dos *packinghouses*. Isolados de *P. digitatum* resistentes ao tiabendazol apresentaram uma menor inibição do crescimento micelial, nas concentrações 1, 10, 100 e 1000 mg/L do fungicida, comparado aos isolados não resistentes. Mediante os altos níveis de contaminação fúngica e a presença de isolados de *Penicillium* resistentes aos fungicidas, recomenda-se a adequação e a intensificação da higienização das linhas de confecção dos *packinghouses* cítricos.

Palavras chaves: *Penicillium digitatum*; *Citrus*; Resistência a fungicidas

CHARACTERIZATION OF THE FUNGAL POPULATION IN CITRUS PACKINGHOUSES AND AT CEAGESP-SP

Abstract

The quantity and quality of fungal spores definitely influence the level of postharvest diseases in citrus. The purposes of this work were a) to characterize the environmental mycoflora and the superficial mycoflora of equipment and facilities of two citrus packinghouses of São Paulo State in 2004 and 2005, one aimed to attend the external market (Matão, SP) and the other the internal market (Engenheiro Coelho, SP); b) to characterize the environmental mycoflora of citrus retailers at Ceagesp-SP in 2006; c) to characterize the presence of isolated *Penicillium* spp. resistant to fungicides in packinghouses. The environmental mycoflora was sampled according to the gravimetric method, using Petri dishes containing potato-dextrose-agar medium + pentabiotic opened for two minutes. The superficial mycoflora on equipment and facilities was sampled with Rodac plates. The environmental and the packinghouse superficial fungal population in Matão were 12.3 and 52.3 cfu/plate, respectively, while these populations for the Engenheiro Coelho packinghouse were 46.3 and 68.2 cfu/plate, respectively. Intermediate values in relation to packinghouses were observed at Ceagesp retailers, where the environmental fungal population was 25.3cfu/plate. *Cladosporium* and *Penicillium* were the most prevailing genera of fungi in packinghouses and at Ceagesp. The contamination of “clean zones” in the packinghouses (washing of fruits, packing table, boxes and containers) was not substantially lower than contamination in “dirty zones” (reception of fruits and first selection). The percentage of *P. digitatum* isolates resistant to thiabendazole in the environment was 25.9 in Matão and 30.1 on the packinghouse surfaces, while the corresponding data concerning isolates resistant to imazalil were 1.5 and 16.0, respectively. In Engenheiro Coelho, the percentage of isolates of *P. digitatum* resistant to thiabendazole was 51.9 in the environment and 39.2 on the packinghouse surfaces, while the corresponding data concerning isolates resistant to imazalil were 0.1 and 0.9, respectively. The frequencies of *P. digitatum* resistant to the studied fungicides did not differ between the zones and sampled surfaces of packinghouses. Isolates of *P. digitatum* resistant to thiabendazole showed lower mycelial growth inhibition at 1, 10, 100 and 1000 mg/L concentrations of fungicide, when compared to non-resistant isolates. In view of the high fungal contamination levels and the presence of *Penicillium* isolates resistant to fungicides, it is recommended adjustments and intensification of hygienic procedures in the processing lines of citrus packinghouses.

Keywords: *Penicillium digitatum*; Citrus; Fungicide resistance

3.1 Introdução

Doenças fúngicas constituem uma das principais causas de danos pós-colheita em frutos cítricos. Em nível mundial, as podridões causadas por *Penicillium* spp. são as mais importantes, sendo as espécies *P. digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc. e *P. italicum* Wehmer, causadoras do bolor verde e bolor azul, respectivamente, as mais comuns (FOGLIATA; LEAL; PLOPER, 1998; AQUINO; SCHIRRA; PALMA, 2006).

As infecções em pós-colheita ocorrem principalmente através de ferimentos causados durante a colheita e o posterior manejo dos frutos, podendo também se originar no campo por distintos agentes bióticos (insetos, pássaros, etc.) ou abióticos (vento, chuva, granizo, etc.) (ECKERT; EAKS, 1989). O clima, especialmente a temperatura e a umidade, influe decisivamente na magnitude da incidência destas doenças, pois determina a quantidade de inóculo disponível, o grau de disseminação e em consequência, o nível da população fúngica presente nos frutos no momento de sua chegada ao *packinghouse* (ECKERT; BROWN, 1986). Entre os patógenos de pós-colheita com importância econômica em citros, os gêneros *Penicillium* e *Alternaria* foram os isolados com maior frequência em pomares e *packinghouses* espanhóis (PALOU et al., 2001a, 2001b). Estudar a população fúngica de uma região citrícola é importante para se determinar a presença de fitopatógenos e sua distribuição, visando estabelecer riscos potenciais de danos aos frutos e planejar adequadamente os métodos de controle. O extensivo uso de fungicidas para o controle das podridões tem favorecido o desenvolvimento de isolados de *Penicillium* spp. resistentes (BUS; BONGERS; RISSE, 1991; HOLMES; ECKERT, 1999), comprometendo a eficácia do tratamento.

Os objetivos deste trabalho foram identificar e quantificar a população fúngica presente no ambiente e na superfície dos equipamentos e instalações de *packinghouses* de citros do Estado de São Paulo e no ambiente de atacadistas que comercializam frutos cítricos da Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo (Ceagesp), assim como detectar e quantificar isolados de *Penicillium* spp. resistentes aos fungicidas tiabendazol e imazalil comumente empregados em pós-colheita, nos *packinghouses*.

3.2 Desenvolvimento

3.2.1 Revisão Bibliográfica

As perdas econômicas ocasionadas por doenças pós-colheita representam um dos principais problemas da citricultura brasileira e mundial (TUSET, 1987; ECKERT; EAKS, 1989; DANTAS et al., 2003). Vários fatores relacionados com o fruto, o patógeno, o clima e as condições em pós-colheita determinam a incidência e a severidade das doenças (ECKERT; EAKS, 1989). Entre estes, a quantidade e a qualidade do inóculo fúngico ocupam um lugar de destaque. A probabilidade de infecção depende da quantidade de inóculo presente em um ponto do fruto suscetível. Esta relação foi demonstrada para patógenos importantes como *Penicillium digitatum* (WILD; ECKERT, 1982), *Geotrichum candidum* Link: Pers. (BAUDOIN; ECKERT, 1982) e *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. (BROWN, 1975), segundo a qual, a quantidade de esporos presentes nos *packinghouses* de citros influi decisivamente nos níveis de podridão, especialmente nas provocadas por patógenos que penetram por ferimento, como *P. digitatum* e *P. italicum*, causadores das doenças de pós-colheita de cítricos de maior impacto econômico em todo o mundo (TUSET, 1987; ECKERT; EAKS, 1989, ZHU; XIE; LI, 2006). Estes dois patógenos apresentam um ciclo de doença relativamente rápido (3 a 5 dias a 25°C) e um único fruto doente pode produzir de um a dois bilhões de conídios que são eficientemente dispersos pelas correntes de ar (HOLMES; ECKERT, 1995).

Levantamentos da micoflora em *packinghouses* espanhóis, durante a safra de tangerinas, indicaram o predomínio dos gêneros *Cladosporium* e *Penicillium*. Enquanto *Cladosporium* foi o gênero mais abundante no início da safra, com 55-60% das colônias isoladas, a população de *Penicillium* spp. aumentou no decorrer da safra, especialmente nas superfícies das linhas de beneficiamento dos *packinghouses* e nas câmaras frigoríficas, onde chegou a superar a população de *Cladosporium* spp., com 40-65% das colônias fúngicas isoladas (PALOU et al., 2001b). A composição e frequência da micoflora em *packinghouses* citrícolas dependem das condições locais de cada zona produtora (BROWN, 1990).

Os problemas derivados dos altos níveis de população fúngica nos *packinghouses* de citros são significativamente aumentados quando existem isolados dos patógenos resistentes aos

fungicidas empregados. Estudos desenvolvidos, principalmente a partir dos anos setenta, têm constatado que o fenômeno de resistência é uma das principais causas do fracasso de muitos tratamentos com fungicidas em pós-colheita (HOUCK, 1977). A grande maioria dos estudos se refere, por sua importância econômica, a *P. digitatum* e *P. italicum* frente aos fungicidas do grupo dos benzimidazóis, ortofenilfenato de sódio e imazalil, e descrevem casos tanto de resistência simples como de resistência cruzada e múltipla (BROWN, 1982; ECKERT, 1990; BUS; BONGERS; RISSE, 1991, SCHMIDT et al., 2006; ZHU; XIE; LI, 2006). Estes fungicidas são empregados de modo altamente condutivo à seleção e proliferação de biótipos resistentes de *P. digitatum* e *P. italicum*. A superfície do fruto é completamente coberta pelos fungicidas e o resíduo é persistente com a vida do fruto. Muitos *packinghouses* processam frutos ininterruptamente durante o ano, resultando em contínua pressão de seleção na população do patógeno (HOLMES; ECKERT, 1995).

Em levantamento da frequência de isolados de *P. digitatum* resistentes a tiabendazol em frutos que chegavam a Rotterdam, na Holanda, constatou-se a presença de isolados resistentes em frutos doentes provenientes de 18 países, inclusive do Brasil com 33% de isolados resistentes (MACDONALD; RISSE; HILLEBRAND, 1979). A proporção de isolados de *P. digitatum* resistentes simultaneamente aos fungicidas tiabendazol, ortofenilfenato de sódio e imazalil aumentou de 43% em 1988 para 77% em 1990 e 74% em 1994, em *packinghouses* californianos. Entretanto, diferenças na sensibilidade dos isolados resistentes aos fungicidas não foram verificadas, em seis anos de estudo, uma vez que as concentrações comerciais empregadas foram as mesmas (HOLMES; ECKERT, 1999). Amostragens do ambiente de cinco *packinghouses* espanhóis constataram que 33% dos isolados de *Penicillium* spp. apresentavam resistência ao fungicida tiabendazol e 5% ao imazalil (PALOU et al., 2001b). Dos isolamentos feitos nas superfícies dos equipamentos e instalações dos *packinghouses* a resistência aos dois fungicidas foi de 35% e 20%, respectivamente. Foram encontrados isolados resistentes tanto de *P. digitatum* como de *P. italicum* a ambos os fungicidas, embora a frequência tenha sido baixa comparada com as outras espécies de *Penicillium* resistentes.

O modo de ação de tiabendazol, assim como de outros benzimidazóis, caracteriza-se pela inibição da biosíntese da β -tubulina, uma proteína do fuso mitótico, interferindo com a divisão celular durante a mitose. Mutação pontual no códon 198 ou 200 do gene da β -tubulina,

desencadeia a resistência de *P. digitatum* e *P. italicum* aos benzimidazóis (KOENRADT; SOMERVILLE; JONES, 1992; SCHMIDT et al., 2006). Imazalil é um fungicida inibidor da biosíntese de ergosterol, atuando como inibidor de reações de demetilação do C¹⁴. A resistência de alguns fungos (KALAMARAKIS et al., 1991; VAN TUYL, 1977) aos inibidores da demetilação é controlada por um sistema poligênico e o desenvolvimento de isolados de *P. italicum* resistentes a imazalil provavelmente é controlado por vários genes de efeito secundário (DE WAARD; VAN NISTELROOY, 1990). A inserção de uma sequência repetitiva de nucleotídeos, com quatro cópias de 126 pares de base, na região promotora do gene da enzima 14 α -demetilase está associada a menor sensibilidade de *P. digitatum* ao fungicida imidazol (ZHU; XIE; LI, 2006). Evidências apontam que o custo adaptativo associado à resistência a fungicidas aumenta com o número de genes mutados necessários para que ocorra o surgimento da resistência (GEORGOPOULOS; SKYLAKAKIS, 1986; SKYLAKAKIS, 1987).

Em geral, isolados de *P. digitatum* e *P. italicum* resistentes aos benzimidazóis e a imazalil apresentam a mesma virulência comparados aos isolados sensíveis da mesma espécie em testes de inoculação em laboratório (WILD; 1980; MUIRHEAD; 1974; WILD; RIPPON, 1975; ZHU; XIE; LI, 2006). Na maioria dos casos, níveis de resistência são reportados (HARDING, 1972; KURAMOTO, 1976; WILD, 1980; ZHU; XIE; LI, 2006). Entretanto, o desenvolvimento de isolados de *P. digitatum* resistentes a tiabendazol ou imazalil é suprimido pelos isolados sensíveis quando ambos são inoculados juntos no mesmo fruto não tratado com o fungicida. Esta menor adaptabilidade competitiva dos isolados resistentes, pode ser responsável pela baixa frequência de isolados resistentes de *Penicillium* no meio ambiente (WILD, 1980; ECKERT; WILD, 1983; HOLMES; ECKERT, 1995).

À medida que se tem questionado a aplicação de fungicidas sintéticos para o controle de doenças em pós-colheita, pela problemática dos efeitos à saúde e ao meio ambiente, tem-se desenvolvido o conceito de produção integrada e aumentado a importância dos métodos de controle preventivos, como as aplicações de fungicidas no campo, os tratamentos para a manutenção ou a melhora da resistência intrínseca dos frutos à infecção e a correta higienização dos *packinghouses* de citros (BROWN, 1980; ECKERT; EAKS, 1989). Identificar e quantificar a contaminação fúngica presente nas distintas partes do *packinghouse*, assim como estudar a presença de isolados resistentes é importante para estabelecer riscos potenciais de danos e

desenhar sistemas adequados de controle. O conhecimento das áreas onde ocorrem os maiores níveis de contaminação permite adequar os programas de limpeza e desinfestação e otimizar os recursos, e também pode resultar de grande interesse no desenho de novos *packinghouses* ou em ampliações de infra-estruturas já existentes (GARDNER et al., 1986).

3.2.2 Material e Métodos

As amostragens da micoflora e dos isolados de *Penicillium* spp. resistentes aos fungicidas foram feitas em intervalos de 14 dias em dois *packinghouses* citrícolas, de julho a novembro de 2004 e 2005 em *packinghouse* localizado em Matão, SP, com frutos destinados ao mercado externo e de setembro a janeiro de 2004/05 e 2005/06 em *packinghouse* localizado em Engenheiro Coelho, SP, com frutos destinados ao mercado interno. Enquanto no *packinghouse* de Matão o processamento dos frutos cítricos (laranja ‘Valência’ e ‘Westin’ e tangor ‘Murcott’) ocorreu basicamente nos meses amostrados, em Engenheiro Coelho o processamento de frutos cítricos (laranja ‘Pêra’, ‘Lima’, ‘Natal’, tangor ‘Murcott’, entre outros) ocorreu ininterruptamente durante os dois anos.

Amostragens da micoflora ambiental na Ceagesp foram realizadas mensalmente, de maio a outubro de 2006, em atacadistas que comercializavam frutos cítricos.

Os ensaios de incubação, identificação e quantificação da micoflora e de isolados de *Penicillium* spp. resistentes aos fungicidas tiabendazol e imazalil foram realizados no Laboratório de Epidemiologia, do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Campus de Piracicaba, SP.

3.2.2.1 Caracterização da micoflora de *packinghouses* e da Ceagesp

Foi amostrada a micoflora ambiental das seguintes zonas dos *packinghouses*: recepção ou chegada da fruta procedente do campo, primeira seleção manual das frutas, após a lavagem das frutas, câmaras de desverdecimento, após a aplicação de cera, bancas de embalagem das frutas e contêineres. Foram amostradas as seguintes superfícies das linhas de beneficiamento: esteiras de recepção das frutas, esteiras após lavagem, câmaras de desverdecimento, bins de

desverdecimento, esteiras após aplicação de cera, bancas de embalagem, luvas dos embaladores e contêineres. Amostragens na primeira seleção manual das frutas, nos bins e nas câmaras de desverdecimento, assim como nos contêineres foram realizadas apenas no *packinghouse* de Matão, uma vez que tais etapas não estavam presentes no *packinghouse* de Engenheiro Coelho, enquanto que amostragem da superfície da caixa de madeira tipo M retornável foi realizada apenas no *packinghouse* de Engenheiro Coelho, uma vez que os frutos destinados ao mercado externo são embalados em caixas de papelão não retornáveis.

A micoflora ambiental de cada zona foi amostrada mediante o método gravimétrico. Cinco placas de Petri de 9 cm de diâmetro (repetições) com meio batata-dextrose-água (BDA) acrescido, ao meio fundente, de 0,4 g/L de pentabiótico veterinário (Fort Dodge®) foram distribuídas equidistantemente pela zona e abertas por dois minutos para que os esporos fúngicos depositassem por gravidade sobre o meio de cultivo. Na câmara de desverdecimento e no contêiner, sempre que possível, foram colocadas uma placa em cada extremidade e uma no centro. As superfícies foram amostradas mediante placas Rodac (*Replicant Organism Direct Agar Contact*) de 5,5 cm de diâmetro com meio BDA, também acrescido de pentabiótico veterinário (0,4 g/L), através do contato do meio de cultura com a superfície, realizando uma ligeira pressão para que os esporos ficassem aderidos ao mesmo. Foram utilizadas cinco placas Rodac (repetições) nos bins de desverdecimento, na câmara de desverdecimento e no contêiner e três nas demais etapas da linha de beneficiamento (PALOU et al., 2001b).

Na Ceagesp, a micoflora ambiental foi amostrada em quatro atacadistas que comercializavam frutos cítricos, escolhidos aleatoriamente. As cinco placas de Petri com meio BDA + pentabiótico (0,4 g/L) foram distribuídas em dois pontos do interior do box, próximo à entrada e ao fundo, e abertas por dois minutos.

As placas foram incubadas a 20°C e fotoperíodo de 12 h, durante cinco a sete dias, transcorridos os quais procedeu-se a contagem e identificação das colônias fúngicas. A identificação foi feita em nível de gênero, exceto para a espécie *P. digitatum*, e quando necessário, realizou-se mediante observação microscópica (WEBSTER, 1980; ELLIS, 1993a, 1993b; SAMSON et al., 1995). A frequência de cada gênero fúngico foi expressa como número de unidades formadoras de colônias por placa (ufc/placa).

Para a análise estatística, as frequências dos gêneros fúngicos mais comuns e da população fúngica total foram transformados em $(x+0,5)^{1/2}$ e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P<0,05$) em relação às diferentes zonas e superfícies dos *packinghouses* amostradas, tomando-se as médias de cada amostragem como repetição. As frequências dos gêneros fúngicos na Ceagesp foram comparadas em relação às diferentes amostragens realizadas, tomando-se as médias das populações fúngicas de cada atacadista como repetição.

3.2.2.2 Determinação de isolados de *Penicillium* spp. resistentes a fungicidas

A presença de isolados de *Penicillium* spp. resistentes aos fungicidas tiabendazol e imazalil foi determinada em ambiente e na superfície de instalações e infra-estuturas dos já referidos *packinghouses*, concomitante a amostragem da micoflora. Para a tomada de amostras, placas de Petri e placas Rodac foram preparadas com quatro meios de cultura distintos, acrescidos de pentabiótico (0,4 g/L): BDA, BDA com 10 mg/L de ingrediente ativo (i.a.) de tiabendazol, BDA com 1 mg/L de i.a. de imazalil e BDA com os dois fungicidas (10 mg/L de i.a. de tiabendazol + 1 mg/L de i.a. de imazalil). Estas doses de fungicidas correspondem às chamadas doses de resistência, obtidas experimentalmente, e nas quais se considera que unicamente os isolados resistentes são capazes de crescer (BROWN, 1990, HOLMES; ECKERT, 1999; ZHU; XIE; LI, 2006). O tiabendazol (Tecto SC) e o imazalil (Magnate 500 CE), assim como o pentabiótico, foram adicionados ao meio de cultura BDA fundente, no interior de uma câmara de ar de fluxo laminar. A amostragem e incubação das placas foram realizadas da mesma forma descrita no item anterior, só que neste caso cada meio de cultura foi constituído por três placas de Petri e as placas permaneceram abertas por quatro minutos. A amostragem do ambiente e da superfície foi realizada na recepção dos frutos, na câmara de desverdecimento e na banca de embalagem. No processo de contagem foram diferenciados três grupos, identificando as colônias visualmente pela coloração e por patogenicidade em frutos cítricos: *P. digitatum*, *P. italicum*, e outros *Penicillium* spp. As frequências de isolados resistentes aos fungicidas foram transformadas $(x+0,5)^{1/2}$ e submetidas à análise de variância (Tukey, $P<0,05$), visando estudar possíveis diferenças entre as zonas ou superfícies amostradas.

Isolados de *P. digitatum* crescidos em meio BDA contendo 10 mg/L de i.a. de tiabendazol (oito isolados de Matão e dez isolados de Engenheiro Coelho) e em meio BDA sem

fungicidas (oito isolados de Matão e seis isolados de Engenheiro Coelho) foram repicados e purificados em placas contendo meio BDA. Placas de Petri contendo 0, 1, 10, 100 e 1000 mg/L de i.a. de tiabendazol foram preparadas em meio BDA e receberam, após resfriamento do meio, um disco de 0,5 cm de diâmetro de ágar-água (AA), contendo em sua superfície próximo de 10^4 conídios de *P. digitatum*. Para o preparo do disco de conídios, 100 µl de uma suspensão contendo $3,2 \cdot 10^7$ conídios/mL de *P. digitatum*, crescido em BDA por sete dias, foi espalhada na superfície de uma placa de Petri contendo meio AA, com auxílio de uma alça de Drigalsky. As placas com diferentes concentrações de tiabendazol permaneceram a 25°C e fotoperíodo de 12 h, durante sete dias, transcorridos os quais procedeu-se a medição perpendicular dos diâmetros das colônias, determinando-se a porcentagem de inibição dos tratamentos em relação à testemunha. Regressão linear da porcentagem de inibição *versus* concentração de fungicida foi calculada e por interpolação calculou-se a concentração do fungicida que inibe 50% do crescimento micelial (ED_{50}) (HOLMES; ECKERT, 1999). Para cada meio de cultura e isolado de *P. digitatum* foram utilizadas três placas de Petri. Diferenças no crescimento micelial entre isolados de *P. digitatum*, nas diferentes concentrações de tiabendazol, foram verificadas pela análise de variância (Tukey, $P < 0,05$), com os dados de porcentagem de inibição transformados em $\arcsin(x/100)^{1/2}$.

Para detectar a resistência *in vivo*, dezoito isolados de *P. digitatum* com crescimento diferenciado em função da dose de tiabendazol foram inoculados em frutos de laranja ‘Pêra’, previamente desinfestados com álcool 70% e pulverizados com uma suspensão de tiabendazol (1 mL/L) + espalhante adesivo copolímero de poliéter e silicone (Silwet[®] L-77 Ag) (1 mL/L). A inoculação foi feita com ferimento, penetrando no fruto 0,3 mm de um conjunto de três agulhas histológicas esterilizadas, logo abaixo de 40 µl de suspensão de conídios de *P. digitatum* (10^6 conídios/mL), previamente depositada sobre a porção mediana do fruto a ser inoculada (FISCHER et al., 2004). Foram utilizados 20 frutos para cada isolado de *P. digitatum*, sendo a metade (10 frutos) não tratada com fungicida. Os frutos foram individualizados em bandejas plásticas e submetidos à câmara úmida por 24 horas, permanecendo por mais cinco dias a 25°C e 85% de umidade relativa. Avaliou-se o número de frutos doentes e o diâmetro perpendicular da lesão aos seis dias da inoculação.

3.2.3 Resultados

3.2.3.1 População fúngica em ambiente e superfície de *packinghouse* de Matão

O número médio de colônias fúngicas, por placa de Petri, isoladas do ambiente do *packinghouse* de Matão, em 2004 e 2005, foi de 11,9 e 12,8, respectivamente. Dentre as colônias fúngicas isoladas, 39,3% corresponderam ao gênero *Cladosporium*, 38,1% ao gênero *Penicillium*, sendo 11,6% da espécie *P. digitatum*, 4,5% ao gênero *Fusarium*, 3,5% ao gênero *Epicoccum*, 2,2% ao gênero *Aureobasidium*, 1,7% ao gênero *Aspergillus*, 1,4% ao gênero *Alternaria* e os 9,3% restantes aos gêneros *Rhizopus*, *Mucor*, *Geotrichum*, *Trichoderma*, *Humicola*, *Neurospora* e outros (dados não apresentados).

A micoflora total do ambiente (ufc/placa de Petri) foi significativamente maior na zona de seleção dos frutos (22,4), em comparação às zonas cera (7,1), chegada (8,6), banca (8,7) e câmara (10,3), enquanto as zonas lavagem (11,9) e contêiner (17,0) ocuparam posição intermediária (Tabela 3.1). *Cladosporium* foi mais freqüente (ufc/placa Petri) na zona de seleção (12,7) e no contêiner (4,5). Embora a freqüência de *P. digitatum* tenha sido estatisticamente similar nas diferentes zonas amostradas, numericamente foi maior na zona de lavagem (3,8), ao contrário das outras espécies de *Penicillium* que foram mais freqüentes no contêiner (9,0) e menos freqüentes na lavagem (1,4).

Tabela 3.1 – Colônias (ufc/placa) de gêneros fúngicos presentes no ambiente de diferentes zonas do *packinghouse*, localizado em Matão, SP

Zonas	População fúngica ¹							Total
	<i>Cladosporium</i>	<i>Penicillium</i> spp. ²	<i>Penicillium digitatum</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Aureobasidium</i>	<i>Epicoccum</i>	Outros	
Chegada	3,0 b ³	1,9 ab	0,7 a	0,6 a	0,2 a	0,8 a	1,4 a	8,6 b
Seleção	12,7 a	2,6 ab	2,7 a	0,8 a	1,1 a	0,6 a	1,9 a	22,4 a
Lavagem	4,0 b	1,4 b	3,8 a	0,5 a	0,2 a	0,5 a	1,5 a	11,9 ab
Cera	2,5 b	2,2 ab	0,7 a	0,2 a	0,1 a	0,2 a	1,2 a	7,1 b
Banca	3,0 b	3,2 ab	0,5 a	0,3 a	0,1 a	0,5 a	1,1 a	8,7 b
Câmara	4,1 b	2,5 ab	1,0 a	1,3 a	0,1 a	0,2 a	1,1 a	10,3 b
Contêiner	4,5 ab	9,0 a	0,6 a	0,2 a	0,1 a	0,2 a	2,4 a	17,0 ab
Médias	4,8	3,3	1,4	0,6	0,3	0,4	1,5	12,3

¹ Médias de 2004 (dez amostragens) e 2005 (quatro amostragens).

² Espécies de *Penicillium* spp., exceto *P. digitatum*.

³ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey, $P < 0,05$).

Na amostragem das superfícies, o número médio de colônias fúngicas, por placa Rodac, no conjunto das zonas amostradas, em 2004 e 2005, foi de 54,5 e 50,1, respectivamente. Na média, 64,9% das colônias isoladas corresponderam ao gênero *Cladosporium*, 14,4% ao gênero *Penicillium*, sendo 2,1% da espécie *P. digitatum*, 4,5% ao gênero *Fusarium*, 2,9% ao gênero *Aureobasidium*, 2,8% ao gênero *Epicoccum*, 1,5% ao gênero *Trichoderma*, 1,2% ao gênero *Geotrichum* e os 7,8% restantes aos gêneros *Aspergillus*, *Alternaria*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Humicola*, *Neurospora* e outros (dados não apresentados).

Maior população fúngica (ufc/placa Rodac) foi isolada nos bins (116,1), na câmara (70,2) e na recepção (70,0), sendo as amostragens de superfícies da luva (15,8), e das zonas de lavagem (23,3) e cera (25,0) as com menores populações (Tabela 3.2). *Cladosporium* foi mais freqüente nos bins (92,4), seguido pela recepção (50,4), câmara (49,6) e banca (47,4) e *P. digitatum*, assim como na amostragem do ambiente, não diferiu entre as diferentes zonas amostradas, enquanto as outras espécies de *Penicillium* foram mais freqüentes no contêiner (23,1), onde superou a população de *Cladosporium* e na câmara (9,7).

Tabela 3.2 - Colônias (ufc/placa) de gêneros fúngicos isoladas da superfície em diferentes zonas de *packinghouse*, localizado em Matão, SP

Zonas	População fúngica ¹							Total
	<i>Cladosporium</i>	<i>Penicillium</i> spp. ²	<i>Penicillium digitatum</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Aureobasidium</i>	<i>Epicoccum</i>	Outros	
Recepção	50,4 ab ³	4,2 ab	1,4 a	3,4 a	3,4 a	1,3 ab	5,9 a	70,0 ab
Lavagem	10,2 bc	2,5 b	1,7 a	1,2 a	1,3 a	0,4 b	6,0 a	23,3 bc
Cera	13,7 bc	2,6 b	0,5 a	2,1 a	0,2 a	1,4 ab	4,5 a	25,0 bc
Banca	47,4 ab	3,9 ab	1,2 a	2,6 a	1,1 a	2,6 ab	5,1 a	63,9 abc
Câmara	49,6 ab	9,7 ab	1,3 a	2,1 a	0,3 a	0,7 b	6,5 a	70,2 ab
Contêiner	4,8 c	23,1 a	0,9 a	2,9 a	0,1 a	0,2 b	1,8 a	33,8 bc
Bin	92,4 a	3,2 b	1,4 a	3,7 a	5,6 a	4,8 a	5,0 a	116,1 a
Luva	3,0 c	2,4 b	0,3 a	0,9 a	0,3 a	0,1 b	8,8 a	15,8 c
Médias	33,9	6,5	1,1	2,4	1,5	1,4	5,5	52,3

¹ Médias de 2004 (dez amostragens) e 2005 (quatro amostragens).

² Espécies de *Penicillium* spp., exceto *P. digitatum*.

³ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey, $P < 0,05$).

Redução de 30% da população fúngica nos bins foi observada no segundo ano de amostragem, quando passou-se a lavar os mesmos com cloreto de benzalcônio (0,5 g/L) antes do desverdecimento, considerando que os bins utilizados para a colheita dos frutos são posteriormente reutilizados para o desverdecimento dos frutos.

Análise de correlação entre a frequência de *P. digitatum* encontrada no *packinghouse* de Matão e a incidência do bolor verde em frutos ali coletados não foi possível em função dos baixos níveis de doença observados (<2,0%).

3.2.3.2 População fúngica em ambiente e superfície de *packinghouse* de Engenheiro Coelho

O número médio de colônias fúngicas, por placa de Petri, isoladas do ambiente do *packinghouse* de Engenheiro Coelho, em 2004 e 2005, foi de 50,9 e 41,7, respectivamente. Dentre as colônias fúngicas isoladas, 37,3% corresponderam ao gênero *Cladosporium*, 50,2% ao gênero *Penicillium*, sendo 13,6% da espécie *P. digitatum*, 2,8% ao gênero *Fusarium*, 1,5% ao gênero *Trichoderma*, 1,3% ao gênero *Epicoccum*, 1,2% ao gênero *Geotrichum*, 0,7% ao gênero *Aureobasidium* e os 5,1% restantes aos gêneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Neurospora* e outros (dados não apresentados).

A micoflora total do ambiente, assim como a população de *Cladosporium* e *Penicillium* não diferiu significativamente entre as zonas amostradas do *packinghouse* (Tabela 3.3). *Penicillium* (*P. digitatum* e outros *Penicillium*) predominou em relação aos demais gêneros fúngicos nas zonas amostradas (19,6-26,3 ufc/placa de Petri), com exceção da banca em que *Cladosporium* foi o mais frequente (21,3 ufc/placa de Petri).

Tabela 3.3 - Colônias (ufc/placa) de gêneros fúngicos presentes no ambiente em diferentes zonas de *packinghouse*, localizado em Engenheiro Coelho, SP

Zonas	População fúngica ¹							Total
	<i>Cladosporium</i>	<i>Penicillium</i> spp. ²	<i>Penicillium digitatum</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Epicoccum</i>	Outros	
Chegada	17,7 a ³	14,3 a	8,6 a	0,9 a	0,3 a	0,8 a	2,7 a	45,3 a
Lavagem	22,2 a	16,6 a	7,6 a	0,8 a	0,3 a	0,8 a	4,9 a	53,2 a
Cera	7,9 a	20,2 a	6,1 a	0,7 a	0,9 a	0,5 a	2,3 a	38,6 a
Banca	21,3 a	16,7 a	2,9 a	2,8 a	1,2 a	0,3 a	2,9 a	48,1 a
Médias	17,3	17,0	6,3	1,3	0,7	0,6	3,2	46,3

¹ Médias de 2004 (cinco amostragens) e 2005 (seis amostragens).

² Espécies de *Penicillium* spp., exceto *P. digitatum*.

³ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey, $P < 0,05$).

Nas superfícies, o número médio de colônias fúngicas por placa Rodac, no conjunto das zonas amostradas, nos dois anos, foi de 76,1 e 60,3, respectivamente. Na média, 55,4% das colônias isoladas corresponderam ao gênero *Cladosporium*, 15,9% ao gênero *Geotrichum*, 13,9%

ao gênero *Penicillium*, sendo 6,8% da espécie *P. digitatum*, 4,0% ao gênero *Aureobasidium*, 3,1% ao gênero *Fusarium*, 2,3% ao gênero *Epicoccum*, 1,2% ao gênero *Trichoderma* e os 4,2% restantes aos gêneros *Rhizopus*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Neurospora* e outros (dados não apresentados).

Maior população fúngica (ufc/placa Rodac) foi isolada nas caixas de madeira tipo M (115,6), seguido da recepção (102,3), sendo as superfícies cera (26,3) e luva (46,9) as com menores frequências (Tabela 3.4). *Cladosporium* foi mais frequente nas caixas (82,4), seguido pela recepção (61,9), banca (41,7) e lavagem (26,4). *Geotrichum* foi mais frequente nas luvas (23,5) e após a lavagem (17,8). *P. digitatum*, assim como na amostragem do ambiente, não diferiu entre as diferentes zonas amostradas (2,8-7,3), enquanto as outras espécies de *Penicillium* foram mais frequentes nas caixas (14,6).

Tabela 3.4 - Colônias (ufc/placa) de gêneros fúngicos isoladas de superfície em diferentes zonas de *packinghouse*, localizado em Engenheiro Coelho, SP

Zonas	População fúngica ¹							Total
	<i>Cladosporium</i>	<i>Penicillium</i> spp. ²	<i>Penicillium digitatum</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Geotrichum</i>	<i>Aureobasidium</i>	Outros	
Recepção	61,9 ab ³	5,3 ab	7,3 a	3,2 a	9,9 ab	9,1 a	5,6 a	102,3 ab
Lavagem	26,4 bc	2,0 b	5,1 a	1,6 a	17,8 a	3,3 ab	2,4 a	58,6 bc
Cera	4,9 c	4,2 ab	4,0 a	1,2 a	9,4 ab	0,3 ab	2,3 a	26,3 c
Banca	41,7 bc	2,5 ab	3,9 a	1,2 a	4,2 ab	0,7 ab	5,5 a	59,7 bc
Caixa	82,4 a	14,6 a	2,8 a	1,6 a	0,3 b	2,8 ab	11,1 a	115,6 a
Luva	9,5 c	0,3 c	4,8 a	4,0 a	23,5 a	0,0 b	4,8 a	46,9 c
Médias	37,8	4,8	4,7	2,1	10,9	2,7	5,3	68,2

¹ Médias de 2004 (cinco amostragens) e 2005 (seis amostragens).

² Espécies de *Penicillium* spp., exceto *P. digitatum*.

³ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey, $P < 0,05$).

3.2.3.3 População fúngica em ambiente da Ceagesp

O número médio de colônias fúngicas, por placa de Petri, isoladas do ambiente dos atacadistas que comercializavam frutos cítricos na Ceagesp foi de 25,3. *Penicillium* foi o gênero mais frequente com 64,1% das colônias isoladas, sendo 13,4% da espécie *P. digitatum*, seguido por *Cladosporium* (15,7%), *Trichoderma* (4,7%), *Fusarium* (3,9%), *Rhizopus* (2,0%), *Epicoccum* (1,3%), *Alternaria* (0,9%) e os 7,3% restantes pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Mucor*, *Aureobasidium*, *Geotrichum*, *Neurospora* e outros (dados não apresentados).

A micoflora total do ambiente variou significativamente entre os meses amostrados ($P=0,0001$), com médias entre 4,4 (agosto) e 38,7 ufc/placa de Petri (setembro). Não foi observada tendência de crescimento ou redução da população fúngica total no período de seis meses, observação esta, seguida pela maioria dos gêneros fúngicos encontrados (Figura 3.1).

Figura 3.1 – Frequência de gêneros fúngicos isolados de ambiente de atacadistas citrícolas na Ceagesp

Correlação positiva ($r=0,96$ e $P<0,05$) entre a frequência de *P. digitatum* encontrada no ambiente dos atacadistas da Ceagesp e o bolor verde em frutos de laranja ‘Pêra’ ali comercializados, foi observada, entretanto, para laranja ‘Lima’ e tangor ‘Murcott’ tal correlação não foi verificada ($r=0,25$, $P=0,63$ e $r=0,44$, $P=0,56$, respectivamente) (dados não apresentados).

3.2.3.4 Isolados de *Penicillium* spp. resistentes

A porcentagem média de isolados de *P. digitatum* resistentes a tiabendazol, no *packinghouse* de Matão, foi de 25,9 no ambiente e de 30,1 na superfície, sendo a frequência média de 0,71 e 0,49 ufc/placa, respectivamente (Tabela 3.5). A porcentagem média de *P. digitatum* resistente a imazalil foi de 1,5 no ambiente e 16,0 na superfície, com frequência média

de 0,04 e 0,26 ufc/placa, respectivamente. Não foram observados isolados de *P. digitatum* resistentes aos dois fungicidas simultaneamente. A porcentagem média de outros *Penicillium* spp. resistentes a tiabendazol foi de 5,8 no ambiente e de 11,3 na superfície, sendo a frequência média de 0,30 e 0,53 ufc/placa, respectivamente. A porcentagem de outros *Penicillium* spp. resistentes a imazalil foi de 56,9 no ambiente e 68,2 na superfície, com frequência média de 2,91 e 3,17 ufc/placa, respectivamente. A frequência de isolados de *Penicillium* spp. resistentes aos fungicidas não deferiram entre as zonas e superfícies amostradas no *packinghouse* de Matão (Tabela 3.5).

Tabela 3.5 - Frequência de *Penicillium* spp. resistente aos fungicidas tiabendazol (TBZ) e imazalil (IZ) em ambiente e superfície do *packinghouse* de Matão

Isolados de <i>Penicillium</i>	Tratamento (ambiente)	Frequência (Placa Petri)	Etapas do beneficiamento*			
			Recepção	Banca	Câmara	Média
<i>Penicillium digitatum</i>	BDA	ufc/placa	5,81 a**	1,37 ab	1,04 b	2,74
	BDA+TBZ	ufc/placa	1,41 a	0,65 a	0,08 a	0,71
		%	24,3	47,4	7,7	25,9
	BDA+IZ	ufc/placa	0,08 a	0,04 a	0,00 a	0,04
		%	1,4	2,9	0,0	1,5
	BDA+TBZ+IZ	ufc/placa	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00
		%	0,0	0,0	0,0	0,0
Outros <i>Penicillium</i> spp.	BDA	ufc/placa	4,93 a	5,10 a	5,29 a	5,11
	BDA+TBZ	ufc/placa	0,26 a	0,33 a	0,30 a	0,30
		%	5,3	6,5	5,7	5,8
	BDA+IZ	ufc/placa	4,80 a	2,40 a	1,52 a	2,91
		%	97,4	47,1	28,7	56,9
	BDA+TBZ+IZ	ufc/placa	0,08 a	0,0 a	0,03 a	0,04
		%	1,6	0,0	0,6	0,7
	(superfície)	Placa Rodac				
<i>Penicillium digitatum</i>	BDA	ufc/placa	1,62 a	1,57 a	1,71 a	1,63
	BDA+TBZ	ufc/placa	0,58 a	0,86 a	0,04 a	0,49
		%	35,8	54,8	2,3	30,1
	BDA+IZ	ufc/placa	0,13 a	0,33 a	0,33 a	0,26
		%	8,0	21,0	19,3	16,0
	BDA+TBZ+IZ	ufc/placa	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,0
		%	0,0	0,0	0,0	0,0
Outros <i>Penicillium</i> spp.	BDA	ufc/placa	4,04 a	5,10 a	4,79 a	4,64
	BDA+TBZ	ufc/placa	0,56 a	0,90a	0,12 a	0,53
		%	13,9	17,6	2,5	11,3
	BDA+IZ	ufc/placa	3,70 a	2,31 a	3,49 a	3,17
		%	91,6	45,3	72,9	68,2
	BDA+TBZ+IZ	ufc/placa	0,10 a	0,08 a	0,04 a	0,07
		%	2,5	1,6	0,8	1,6

* Médias de 2004 (cinco amostragens) e 2005 (quatro amostragens).

**Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si (Tukey, $P<0,05$).

No *packinghouse* de Engenheiro Coelho, a porcentagem média de isolados de *P. digitatum* resistentes a tiabendazol foi de 51,9 no ambiente e de 39,2 na superfície, sendo a frequência média de 4,72 e 2,56 ufc/placa, respectivamente (Tabela 3.6). A porcentagem de *P. digitatum* resistente a imazalil foi de 0,1 no ambiente e 0,9 na superfície, com frequência média de 0,02 e 0,06 ufc/placa, respectivamente. Não foram observados isolados de *P. digitatum* resistentes aos dois fungicidas simultaneamente. A porcentagem média de outros *Penicillium* spp. resistentes a tiabendazol foi de 15,4 no ambiente e de 58,4 na superfície, sendo a frequência média de 3,30 e 3,26 ufc/placa, respectivamente. A porcentagem de outros *Penicillium* spp. resistentes a imazalil foi de 75,2 no ambiente e 47,9 na superfície, com frequência média de 16,06 e 2,68 ufc/placa, respectivamente. A frequência de outros *Penicillium* spp. resistentes a tiabendazol foi maior no ambiente e na superfície das bancas em comparação à recepção. Maior frequência de outros *Penicillium* spp. resistentes a imazalil foi encontrada na superfície das esteiras de recepção dos frutos em comparação à superfície das bancas.

P. italicum resistente aos fungicidas foi raro, sendo encontrados apenas dois isolados nos *packinghouses* de Matão e de Engenheiro Coelho resistentes a tiabendazol e um isolado resistente a imazalil em Engenheiro Coelho.

Tabela 3.6 - Frequência de *Penicillium* spp. resistente aos fungicidas tiabendazol (TBZ) e imazalil (IZ) em ambiente e superfície do *packinghouse* de Engenheiro Coelho

Isolados de <i>Penicillium</i>	Tratamento (ambiente)	Frequência (Placa Petri)	Etapas do beneficiamento*		
			Recepção	Banca	Média
<i>Penicillium digitatum</i>	BDA	ufc/placa	12,28 a**	5,92 a	9,10
	BDA+TBZ	ufc/placa	5,65 a	3,78 a	4,72
		%	46,0	63,9	51,9
	BDA+IZ	ufc/placa	0,03 a	0,00 a	0,02
		%	0,2	0,0	0,1
	BDA+TBZ+IZ	ufc/placa	0,00 a	0,00 a	0,0
Outros <i>Penicillium</i> spp.		%	0,0	0,0	0,0
	BDA	ufc/placa	20,8 a	21,9 a	21,35
	BDA+TBZ	ufc/placa	1,67 b	4,92 a	3,30
		%	8,0	22,5	15,4
	BDA+IZ	ufc/placa	16,0 a	16,12 a	16,06
		%	76,9	73,6	75,2
	BDA+TBZ+IZ	ufc/placa	0,06 a	0,02 a	0,04
		%	0,3	0,1	0,2
<i>Penicillium digitatum</i>	(superfície)	Placa Rodac			
	BDA	ufc/placa	8,29 a	4,72 a	6,51
	BDA+TBZ	ufc/placa	3,03 a	2,08 a	2,56
		%	36,6	44,1	39,2
	BDA+IZ	ufc/placa	0,08 a	0,04 a	0,06
		%	1,0	0,8	0,9
Outros <i>Penicillium</i> spp.	BDA+TBZ+IZ	ufc/placa	0,00 a	0,00 a	0,00
		%	0,0	0,0	0,0
	BDA	ufc/placa	4,90 a	6,26 a	5,58
	BDA+TBZ	ufc/placa	1,44 b	5,08 a	3,26
		%	29,4	81,2	58,4
	BDA+IZ	ufc/placa	4,55 a	0,80 b	2,68
		%	92,9	12,8	47,9
	BDA+TBZ+IZ	ufc/placa	0,13 a	0,06 a	0,10
		%	2,7	1,0	1,7

* Médias de 2004 (quatro amostragens) e 2005 (cinco amostragens).

**Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si (Tukey, $P < 0,05$).

Os isolados de *P. digitatum* classificados como resistentes e submetidos a diferentes doses de tiabendazol apresentaram uma inibição do crescimento micelial inferior a 70% na dose de 10 mg/L do fungicida ($ED_{50} = 30,3 \pm 28,4$) (Tabela 3.7). Dentre os isolados coletados em meio sem fungicida, os seis isolados mais sensíveis apresentaram mais de 70% de inibição já a partir de 1 mg/L (Tabela 3.8). Os demais isolados de *P. digitatum*, embora oriundos de meio sem fungicida, apresentaram comportamento semelhante aos isolados resistentes, com inibição inferior a 50% a 10 mg/L ($ED_{50} = 38,7 \pm 16,0$).

Tabela 3.7 - Porcentagem de inibição do crescimento micelial de estirpes de *Penicillium digitatum* a tiabendazol, isoladas a partir de meio batata-dextrose-ágar (BDA) + tiabendazol (10 mg/L)

Isolados ¹	Doses de tiabendazol (mg/L) em BDA				ED ₅₀
	1	10	100	1000	
M-1	47,9 a ²	68,1 a	93,2 ab	96,0 ab	1,9
EC-1	26,3 ab	53,8 ab	87,1 ab	84,2 abc	25,5
EC-2	22,8 ab	40,6 bcd	80,5 ab	74,2 c	40,7
EC-3	22,2 ab	42,4 abcd	79,3 b	80,8 bc	40,7
EC-4	19,5 ab	45,7 abcd	83,4 ab	84,3 abc	37,7
M-2	14,5 abc	46,3 abcd	100,0 a	100,0 a	28,1
EC-5	12,1 abc	45,3 abcd	82,7 ab	85,5 abc	41,7
EC-6	11,0 bcd	41,1 abcd	83,5 ab	86,6 abc	43,7
EC-7	10,9 bcd	50,7 abc	85,3 ab	83,4 abc	38,3
EC-8	10,9 bcd	45,8 abcd	80,2 ab	82,5 abc	43,2
EC-9	10,5 bcd	43,1 abcd	83,9 ab	83,9 abc	42,7
EC-10	6,3 bcd	41,9 abcd	82,9 ab	89,7 abc	38,9
M-3	5,1 cd	34,9 bcd	96,9 ab	85,3 abc	49,0
M-4	4,5 cd	31,3 bcd	92,2 ab	94,0 ab	45,7
M-5	-7,3 cd	22,3 d	90,2 ab	96,8 ab	53,0
M-6	-10,8 d	46,3 abcd	100,0 a	94,6 ab	41,3
M-7	-11,2 d	24,3 cd	89,5 ab	87,0 abc	53,3
M-8	-12,2 d	24,7 cd	79,4 b	92,2 abc	58,7
Médias	10,2	41,6	87,2	87,8	40,2
C.V. (%)	32,7	15,3	4,5	4,3	

¹ Isolados de *P. digitatum* procedentes de *packinghouse* de Matão (M) e Engenheiro Coelho-SP (EC).² Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey, $P < 0,05$).Tabela 3.8 - Porcentagem de inibição do crescimento micelial de estirpes de *Penicillium digitatum* a tiabendazol, isoladas a partir de meio batata-dextrose-ágar (BDA)

Isolados ¹	Doses de tiabendazol (mg/L) em BDA				ED 50
	1	10	100	1000	
M-1	100,0 a ²	100,0 a	100,0 a	100,0 a	<1
M-2	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a	<1
M-3	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a	<1
M-4	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a	<1
EC-1	83,3 ab	100,0 a	100,0 a	100,0 a	0,6
EC-2	71,5 ab	71,4 b	98,7 a	100,0 a	0,7
EC-3	41,4 bc	43,4 cd	84,2 b	81,8 b	22,7
EC-4	17,5 cd	48,3 c	86,0 b	87,7 b	36,1
EC-5	15,2 cde	44,4 cd	82,4 b	88,4 b	41,1
EC-6	13,6 cde	35,6 cd	81,1 b	83,5 b	47,2
M-5	10,1 cde	35,0 cd	99,2 a	100,0 a	39,2
M-6	3,4 de	32,9 cd	91,2 ab	97,5 a	45,9
M-7	-4,1 de	40,1 cd	88,0 ab	87,1 b	46,7
M-8	-5,9 e	28,6 d	82,0 b	84,8 b	54,7
Média	46,2	62,8	92,4	93,6	41,7 ³
C.V. (%)	20,39	5,6	2,3	1,4	

¹ Isolados de *P. digitatum* procedentes de *packinghouse* de Matão (M) e Engenheiro Coelho-SP (EC).² Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey, $P < 0,05$).³ Média de EC-3 a M-8.

Os seis isolados de *P. digitatum* mais sensíveis ao tiabendazol (Tabela 3.8) apresentaram uma incidência média de 26,7% de frutos doentes e 5,6 cm de diâmetro de lesão, quando inoculados em frutos de laranja ‘Pêra’ previamente tratados com o fungicida, enquanto os outros 12 isolados considerados resistentes proporcionaram uma incidência média de 94,2% de frutos doentes e 8,1 cm de diâmetro de lesão. Nos frutos não tratados com tiabendazol, todos os isolados de *P. digitatum* provocaram 100% de incidência de bolor verde, com médias de diâmetro de lesão acima de 8,0 cm após seis dias da inoculação.

3.2.4 Discussão

Os resultados obtidos devem ser analisados levando-se em consideração os métodos de amostragem utilizados. Diferenças de velocidade e características de crescimento entre os esporos coletados podem mascarar a presença de alguns gêneros fúngicos. O meio de cultivo empregado também pode favorecer o crescimento de alguns fungos em detrimento de outros (PALOU et al., 2001b). Embora a quantidade de inóculo fúngico influa decisivamente na incidência de doenças, outros fatores como a suscetibilidade intrínseca dos frutos à infecção e as condições ambientais antes e durante o período de colheita também apresentam importância, impossibilitando o estabelecimento de uma relação quantitativa entre os níveis de população fúngica nos *packinghouses* e na Ceagesp e os danos por podridões. Níveis de inóculo ambiental de *Penicillium* spp. e *Botrytis cinerea* em pomares e *packinghouses* de Pêra também não permitiram uma correlação significativa com os índices de podridões (LENNOX; SPOTTS; CERVANTES, 2003). Não existe para tanto, um critério geral que permita discernir quais os limites críticos de contaminação fúngica a partir dos quais existe um alto risco de ocorrer uma incidência de podridões inadmissível. Não obstante, procura-se definir, mediante os níveis fúngicos populacionais, zonas sujas e zonas limpas e também estabelecer limites críticos que permitam determinar a eficácia das operações de higienização dos *packinghouses* (GARDNER et al., 1986; SUS; VIÑAS, 1990; ORIHUEL; CANET; BERTÓ, 1996; PALOU et al., 2001b).

O nível da população fúngica presente tanto no ambiente como na superfície dos equipamentos e instalações dos dois *packinghouses* foi em geral elevado na maioria das zonas estudadas. Enquanto a frequência média da população fúngica total nas superfícies dos

packinghouses não foi inferior a 50 ufc/placa (valor equivalente a 2,1 ufc/cm², considerando a utilização de placas Rodac de 5,5 cm de diâmetro), o valor proposto por Orihuel, Canet e Bertó (1996) como limite crítico superior que não deve ser superado para considerar aceitável a higienização de superfícies é de 0,7 ufc/cm². Valores superiores a 40 ufc/placa Rodac foram encontrados nos três levantamentos da micoflora nas superfícies de *packinghouses* espanhóis, no decorrer da safra de tangerinas (PALOU et al., 2001b). A contaminação fúngica total no ambiente da Ceagesp foi comparativamente maior que a do *packinghouse* de Matão e inferior a de Engenheiro Coelho.

Com relação à higienização dos *packinghouses*, em Matão, a lavagem das esteiras da linha de beneficiamento e das zonas de recepção e descarregamento dos frutos foi diária, enquanto no *packinghouse* de Engenheiro Coelho ocorreu apenas uma vez por semana, sendo eventualmente observados frutos podres sob a linha de beneficiamento. Na Ceagesp, a higienização foi por meio de varrições diárias e coleta dos resíduos orgânicos.

Cladosporium foi o gênero mais abundante no *packinghouse* de Matão e na superfície do *packinghouse* de Engenheiro Coelho e o gênero *Penicillium* o mais abundante no ambiente do *packinghouse* de Engenheiro Coelho e na Ceagesp, resultados que corroboram os encontrados por Palou et al. (2001a; 2001b) em que *Cladosporium* e *Penicillium* foram os gêneros mais frequentes nos pomares de tangerinas e *packinghouses* espanhóis, com *Penicillium* aumentando no decorrer da safra, sugerindo segundo os autores, que a origem da contaminação fúngica nos *packinghouses* seja proveniente da fruta do campo. A população de *Penicillium*, assim como de toda a população fúngica, foi irregular nos meses amostrados, tanto nos *packinghouses* (dados não apresentados) como na Ceagesp. A não constatação de aumento ou redução da população de *Penicillium* nos meses amostrados deve-se provavelmente à ocorrência de frutos cítricos nos locais ou próximos deles praticamente o ano todo. Na Espanha, a micoflora total e a de *Penicillium* também apresentaram uma variabilidade elevada, com interações significativas entre épocas, *packinghouses* e pomares, e havendo uma correlação positiva entre a micoflora total e a temperatura ambiente ($r > 0,9$) (PALOU et al., 2001a, 2001b). Difícil afirmar o papel da temperatura em função do curto período de amostragem nos *packinghouses* de Matão e Engenheiro Coelho. Levantamentos comparativos entre verão e inverno paulista, em que os valores de temperatura e umidade relativa do ar são mais discrepantes, possivelmente permitiriam

obter resultados mais conclusivos acerca do clima. Na Turquia, maior micoflora ambiental foi observada no verão, seguida pelo outono, inverno e primavera (SIMSEKLI; GÜCİN; ASAN, 1999).

A contaminação de zonas consideradas limpas (após lavagem, banca, caixa e contêiner) não foi substancialmente menor que de zonas consideradas sujas (chegada ou recepção, primeira seleção manual). Tais resultados, similares aos encontrados por Palou et al. (2001b), se devem, provavelmente, ao ambiente aberto da linha de beneficiamento.

Visando reduzir a ocorrência de podridões em *packinghouses* de citros, especialmente se o intuito for trabalhar em sistema de produção integrada, deve-se considerar a separação física efetiva entre a fruta que chega do campo daquela beneficiada, otimizar o processo de seleção de frutos injuriados e a higienização da linha de beneficiamento, com a desinfestação de caixas de colheita e das instalações (máquinas, câmaras, piso, etc.) com produtos a base de cloro e amônia quaternária, e proteger os frutos com pulverizações preventivas de fungicidas. Segundo Gardner et al. (1986), uma correta higienização é eficaz em reduzir a incidência de podridões e evitar a proliferação de isolados resistentes a fungicidas, sendo mais eficiente economicamente que o incremento do uso de fungicidas.

A espécie *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link é descrita como um patógeno pós-colheita de pouca importância em citros (TUSET, 1987). Sua presença predominante nas superfícies das câmaras de desverdecimento e refrigeração de *packinghouses* citrícolas valencianas foi constatada por Díaz e Vila (1987, 1988). Em função da enorme variabilidade de colônias de *Cladosporium* encontrada neste trabalho e da baixa importância do mesmo como patógeno em citros, optou-se por não caracterizar as espécies.

Outro resultado destacável foram os elevados níveis populacionais de *Geotrichum*, com média de 10,9 ufc/placa Rodac no *packinghouse* de Engenheiro Coelho, particularmente nas luvas e após lavagem. A podridão azeda, causada por *G. candidum* foi relatada por Eckert e Brow (1986) e Eckert (1993) como a segunda doença pós-colheita dos citros em importância, após os bolores, com infecção por fermentos, e um dos mais sérios problemas para a indústria de limão na Califórnia, devido ao longo período de conservação do fruto (ECKERT; BROWN, 1986). Um controle efetivo requer intensa profilaxia em relação à higiene e desinfestação de toda a linha de beneficiamento e luvas de embaladores.

As amostragens indicaram a presença generalizada nos dois *packinghouses* citrícolas de isolados de espécies de *Penicillium* resistentes a tiabendazol e imazalil, com uma maior frequência observada no *packinghouse* de Engenheiro Coelho, possivelmente em razão da menor higienização da linha de beneficiamento. Os isolados de *P. digitatum* resistentes ao imazalil foram, em geral, menos frequentes que os resistentes ao tiabendazol, provavelmente porque benzimidazóis (tiofanato metílico e carbendazim) com modo de ação similar a este fungicida são empregados em pomares citrícolas paulistas há bastante tempo e porque imazalil é considerado de baixo a mediano risco de desenvolver resistência por parte dos patógenos (ECKERT, 1987). Isolados de *P. digitatum* resistentes se tornaram comuns em pomares japoneses onde benzimidazóis foram empregados por vários anos em pré-colheita (KURAMOTO, 1976). Interessante é que alguns isolados resistentes a tiabendazol foram encontrados em pomares e *packinghouses* onde não se aplicaram quaisquer benzimidazóis (HARDING, 1972; KURAMOTO, 1976; WILD, 1980), indicando a possibilidade de uma elevada variabilidade genética (SCHMIDT et al., 2006). Segundo Brown (1990), em uma população natural de *P. digitatum*, esporos resistentes a tiabendazol são produzidos na razão de 1 a 10 para cada 100 milhões de esporos produzidos, potencialmente, em um único fruto com bolor verde. A maioria dos isolados de *Penicillium* resistentes a imazalil não foi das espécies *P. digitatum* e *P. italicum*, resultados que se assemelham aos encontrados por Palou et al. (2001b). Díaz e Vila (1989) descreveram isolados de *P. variable*, *P. steckii* e *P. velutinum*, e em menor escala de *P. digitatum* e *P. italicum*, com resistência cruzada a imazalil e procloraz. A baixa ocorrência de isolados de *P. italicum* resistentes aos fungicidas pode ser atribuída à baixa população de *P. italicum* nos *packinghouses*, à alta sensibilidade aos fungicidas e à menor adaptabilidade parasítica e capacidade reprodutiva desta espécie comparada a *P. digitatum* (HOLMES; ECKERT, 1999). A frequência encontrada de isolados de *P. digitatum* resistentes aos fungicidas, principalmente ao tiabendazol, é preocupante, pois populações resistentes poderiam proliferar facilmente e também desenvolver resistência múltipla. Como pode ser observada, a eficácia no controle de bolor verde, causado por isolados resistentes a tiabendazol, foi menor comparada aos isolados não resistentes, quando inoculados em frutos previamente tratados com o fungicida em sua dosagem comercial (1000 mg/L). Não foram verificadas diferenças adaptativas no crescimento micelial *in vitro* e na patogenicidade em frutos entre os isolados resistentes e não

resistentes na ausência de tiabendazol, concordando com os resultados relatados na Califórnia (HOLMES; ECKERT, 1999). Ao menos nos próximos anos não se prevê uma diminuição da pressão de seleção existente já que presumivelmente estes fungicidas continuarão a ser empregados de forma continuada. A combinação de fungicidas com diferentes modos de ação previne ou atrasa o desenvolvimento de populações resistentes (DELP, 1988). Entretanto, Holmes e Eckert (1999) verificaram que a proporção de isolados de *P. digitatum* e *P. italicum* com resistência tripla aos fungicidas imazalil, tiabendazol e ortofenilfenol praticamente duplicou-se em seis anos em *packinghouses* californianos devido à utilização intensiva destes fungicidas, tanto seqüencialmente como em combinação. O aquecimento da calda fungicida reduz a possibilidade do surgimento de populações de bolores resistentes aos fungicidas atualmente em uso por aumentar a eficácia do tratamento (AQUINO; SCHIRRA; PALMA, 2006; SMILANICK; MANSOUR; SORENSON, 2006). Produtos alternativos, com diferentes modos de ação, como pirimetanil, devem remediar os problemas de populações de *Penicillium* spp. resistentes ao tiabendazol e imazalil (AQUINO; SCHIRRA; PALMA, 2006).

3.3 Conclusões

Com base nos resultados obtidos pode-se concluir:

- Os níveis de contaminação fúngica nos *packinghouses* citrícolas e na Ceagesp estão em geral elevados, sendo *Penicillium* e *Cladosporium* os gêneros fúngicos predominantes;
- A contaminação nos *packinghouses* de zonas consideradas limpas não está menor que nas zonas consideradas sujas, evidenciando a necessidade de separação física entre a fruta que chega do campo daquela beneficiada e otimizar a higienização da linha de beneficiamento;
- Isolados de *P. digitatum* resistentes a tiabendazol são encontrados de forma generalizada nos *packinghouses*, mesmo quando não emprega-se o fungicida em pós-colheita, como é o caso do *packinghouse* de Engenheiro Coelho. Isolados de *P. digitatum* resistentes a imazalil são menos freqüentes.

Referências

- AQUINO, S.D.; SCHIRRA, M.; PALMA, A. Residue levels and effectiveness of Pyrimethanil vs imazalil when using heated postharvest dip treatments for control of *Penicillium* decay on citrus fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, p. 4721-4726, 2006.
- BAUDOIN, A.B.A.M.; ECKERT, J.W. Factors influencing the susceptibility of lemons to infection by *Geotrichum candidum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 72, p. 1592-1597. 1982.
- BROWN, G.E. Factors affecting postharvest development of *Colletotrichum gloesporioides* in citrus fruits. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 65, p. 404-409, 1975.
- BROWN, G.E. Fruit handling and decay control techniques affecting quality. In: NAGY, S.; ATTAWAY, J.A. (Ed.). **Citrus Nutrition and Quality**. Washington: ACS Symposium, 1980. p. 193-224.
- BROWN, G.E. Resistance of decay fungi to benzimidazole fungicides used in Florida citrus packinghouses. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Florida, v. 95, p. 239-242, 1982.
- BROWN, G.E. **Quality control assessment methodology related to citrus decay control**. Lake Alfred: Florida Department of Citrus, Citrus Research and Education Center, 1990. 26 p.
- BUS, V.G.; BONGERS, A.J.; RISSE, L.A. Occurrence of *Penicillium italicum* resistant to benomyl, thiabendazole, and imazalil on citrus fruit from different geographic origins. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 75, p. 1098-1100. 1991.
- DANTAS, S.A.F.; OLIVEIRA, S.M.A.; MICHEREFF, S.J.; NASCIMENTO, L.C.; GURGEL, L.M.S.; PESSOA W.R.L.S. Doenças fúngicas pós-colheita em mamões e laranjas comercializados na Central de Abastecimento do Recife. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 528-533, 2003.
- DE WAARD, M.A.; VAN NISTELROOY, J.G.M. Stepwise development of laboratory resistance to DMI-fungicides in *Penicillium italicum*. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v. 96, p. 321-329, 1990.
- DELP, C.J. Resistance management strategies for benzimidazoles. In: DELP, C.J. (Ed.). **Fungicide resistance in North America**. Saint Paul: APS Press, 1988. p. 41-43.
- DÍAZ, M.A.; VILA, R. Estudio de flora fúngica presente en cámaras frigoríficas de conservación de frutos cítricos. **Alimentaria**, Madrid, v. 183, p. 77-82, 1987.

DÍAZ, M.A.; VILA, R. Evolución de la flora fúngica durante la desverdización en almacenes españoles de comercialización de cítricos. II. Flora presente en las cámaras de desverdización. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, Valencia, v. 28, p. 501-508. 1988.

DÍAZ, M.A.; VILA, R. Imazalil resistant *Penicillium* isolates from Spanish citrus packinghouses. **Microbiologie Aliments Nutrition**, Chatenay Malabry, v. 7, p. 191-192, 1989.

ECKERT, J.W. *Penicillium digitatum* biotypes with reduced sensitivity to imazalil. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 77, p. 1728. 1987.

ECKERT, J.W. Impact of fungicide resistance on citrus fruit decay control. In: GREEN, M.B.; BARON, H.M.; MOBERG, W.K. (Ed.). **Managing resistance to agrochemicals**. Washington: American Chemical Society, 1990. p. 286-302.

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

ECKERT, J.W.; WILD, B.L. Problems of fungicide resistance in *Penicillium* rot of citrus fruits. In: GEORGHIOU, G.P.; SAITO, T. (Ed.). **Pest resistance to pesticides**. New York: Plenum Publishing, 1983. p. 525-556.

ECKERT, J.W.; BROWN, G.E. Postharvest citrus disease and their control. In: WARDOWSKI, W.F.; NAGY, S.; GRIERSON, W. (Ed.). **Fresh citrus fruits**. Westport: AVI Publishing, 1986. p. 315-360.

ECKERT, J.W.; EAKS, I.L. Postharvest disorders and diseases of citrus fruits. In: REUTER, W.; CALAVAN, E.C.; CARMAN, G.E. (Ed.). **The citrus industry**. Berkeley: University of California Press, 1989. v. 5, p. 179-260.

ELLIS, M.B. **Dematiaceous hyphomycetes**. 6th ed. Wallingford: CAB International. 1993a.

ELLIS, M.B. **More dematiaceous hyphomycetes**. 4th ed. Wallingford: CAB International. 1993b.

FISCHER, I.H.; SPÓSITO, M.B.; LOURENCO, S.A.; AMORIM, L. Eficiência dos fungicidas thiabendazole+imazalil, aplicados previamente ou em mistura à cera, no controle do bolor verde em citros. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Campinas, v. 16. p. 22, 2004. Resumo.

FOGLIATA, G.M.; LEAL, G.T.; PLOPER, L.D. Detección de cepas resistentes de *Penicillium digitatum* a los fungicidas de uso corriente en plantas de empaque de Tucumán. **Avance Agroindustrial**, Tucumán, v. 73, p. 19-22, 1998.

GARDNER, P.D.; ECKERT, J.W.; BARITELLE, J.L.; BANCROFT, M.N. Management strategies for control of *Penicillium* decay in lemon packinghouses: economic benefits. **Crop Protection**, Guildford, v. 5, p. 26-32, 1986.

GEORGOPOULOS, S.G.; SKYLAKAKIS, G. Genetic variability in the fungi and the problem of fungicide resistance. **Crop Protection**, Guildford, v. 5, p. 299-305, 1986.

HARDING, P.R., Jr. Differential sensitivity to thiabendazole by strains of *Penicillium italicum* and *P. digitatum*. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 56, p. 256-260, 1972.

HOLMES, G. J.; ECKERT, J. W. Relative fitness of imazalil-resistant and -sensitive biotypes of *Penicillium digitatum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 79, p. 1068-1073, 1995.

HOLMES, G.J.; ECKERT, J.W. Sensitivity of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* to postharvest citrus fungicides in California. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 89, p. 716-721, 1999.

HOUCK, L.G. Problems of resistance to citrus fungicides. **Proceedings of the International Society of Citriculture**, Orlando, v. 1, p. 263-269, 1977.

KALAMARAKIS, A.E.; DE WAARD, M.A.; ZIOGAS, B.N.; GEORGOPOULOS, S.G. Resistance to fenarimol in *Nectria haematococca* var. *cucurbitae*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Athens, v. 40, p. 212-220, 1991.

KOENRADT, H.; SOMERVILLE, S.C.; JONES, A.L. Characterization of mutations in the betatubulin gene of benomyl-resistant field strains of *Venturia inaequalis* and other plant pathogenic fungi. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 82 p. 1348-1354, 1992.

KUMAROTO, T. Resistance to benomyl and thiophanate-methyl in strains of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* in Japan. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 60, p. 168-172, 1976.

LENNOX, C.L.; SPOTTS, R.A.; CERVANTES, L.A. Populations of *Botrytis cinerea* and *Penicillium* spp. on pear fruit, and in orchards and packinghouses, and their relationship to postharvest decay. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 87, p. 679-644, 2003.

MACDONALD, D.E.; RISSE, L.A.; HILLEBRAND, B.M. Resistance to thiabendazole and benomyl of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* isolated from citrus fruit from several countries. **Journal America Society HortScience**, Alexandria, v. 194, p. 333-335. 1979.

MUIRHEAD, I.F. Resistance to benzimidazole fungicides in blue mould of citrus in Queensland, Australian. **Journal of Experimental Agriculture Animal Husbandry**, Victoria, v. 14, p. 698-701, 1974.

ORIHUEL, B.; CANET, J.J.; BERTÓ, R. Límites críticos e contaminación fúngica de superficies en una central hortofrutícola. **Fruticultura Profesional**, Barcelona, v. 83, p. 114-118, 1996.

- PALOU, L.; USALL, J.; PONS, J.; VIÑAS, I. Micoflora epífita de los frutos y ambiental en campos de mandarina 'Clemenules' en Tarragona. **Revista Investigación Agraria: Production Protección Vegetal**, Madrid, v. 16, p. 257-272, 2001a.
- PALOU, L.; USALL, J.; PONS, J.; CERDÀ, M.C.; VIÑAS, I. Micoflora em centrales citrícolas de Tarragona. **Revista Investigación Agraria: Production Protección Vegetal**, Madrid, v. 16, p. 447-462, 2001b.
- SAMSON, R.A.; HOEKSTRA, E.S.; FRISVAD, J.C.; FILTENBORG, O. **Introduction to food-borne fungi**. 4th ed. Baar: Centralalbureau voor Schimmelcultures, 1995. 235 p.
- SCHMIDT, L.S.; GHOSOPH, J.M.; MARGOSAN, D.A.; SMILANICK, J.L. Mutation at β -tubulin codon 200 indicated thiabendazole resistance in *Penicillium digitatum* collected from California citrus packinghouses. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 90, p. 765-770, 2006.
- SIMSEKLI, Y.; GÜCIN, F.; ASAN, A. Isolation and identification of indoor airborne fungal contaminants of food production facilities and warehouses in Bursa, Turkey. **Aerobiologia**, Dordrecht, v. 15, p. 225-231, 1999.
- SKYLAKAKIS, G. Changes in the composition of pathogen populations caused by resistance to fungicides. In: WOLFE, M.S.; CATEN, C.E. (Ed.). **Populations of plant pathogens, their dynamics and genetics**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1987. p 227-237.
- SMILANICK, J.L.; MANSOUR, M.F.; SORENSON, D. Pre-and postharvest treatments to control green mold of citrus fruit during ethylene degreening. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 90, p. 89-96, 2006.
- SUS, V.; VIÑAS, I. Efecto de la desinfección sobre la contaminación fungica de cámaras frigoríficas de fruta de pepita: evaluación de desinfectantes en el control del *Penicillium expansum*. **Microbiologie Aliments Nutrition**, Chatenay Malabry, v. 8, n. 1, p. 95-102, 1990.
- TUSET J.J. **Podredumbres de los frutos cítricos**. València: Generalitat Valenciana, 1987. 206 p.
- VAN TUYL, J.M. Genetic aspects of resistance to imazalil in *Aspergillus nidulans*. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v. 83, p. 169-176, 1977.
- WEBSTER, J. **Introduction to fungi**. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1980. 669 p.
- WILD, B.L. **Resistance to citrus green mold *Penicillium digitatum* Sacc. to benzimidazole fungicides**. 1980. 89p. (Doctoral Thesis) - University of California, Riverside, 1980.
- WILD, B.L.; RIPPON, L.E. Response of *Penicillium digitatum* strains to benomyl, thiabendazole and sodium *o*-phenylphenate. **Phytopathology**, Saint Paul, v.65, p. 1176-1177, 1975.

WILD, B.L.; ECKERT, J.W. Synergy between a benzimidazole-sensitive isolate and benzimidazole-resistant isolates of *Penicillium digitatum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 72, p. 1329-1332, 1982.

ZHU, J.W.; XIE, Q.Y.; LI, H.Y. Occurrence of imazalil-resistance biotype of *Penicillium digitatum* in China and the resistance molecular mechanism. **Journal of Zhejiang University SCIENCE**, Hangzhou, v. 7, p. 362-365, 2006.