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

**Doenças quiescentes em goiabas: quantificação e controle pós-
colheita**

Ana Raquel Soares-Colletti

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

**Piracicaba
2012**

Ana Raquel Soares-Colletti
Engenheiro Agrônomo

Doenças quiescentes em goiabas: quantificação e controle pós-colheita

Orientadora:
Profª Drª **LILIAN AMORIM**

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

Piracicaba
2012

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Soares-Colletti, Ana Raquel

Doenças quiescentes em goiabas: quantificação e controle pós-colheita / Ana Raquel Soares-Colletti.- - Piracicaba, 2012.
143 p: il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Armazenagem em atmosfera controlada 2. Antracnose - Incidência
3. Fungos fitopatogênicos 4. Goiaba 5. Pós-colheita - Controle I. Título

CDD 634.421
S676d

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

*Ao meu marido Júnior,
Pelo apoio, incentivo e amor incondicional e
Por estar sempre ao meu lado, mesmo nos momentos difíceis*

*A minha filha Júlia,
por ser minha alegria de viver e minha fonte de inspiração*

*A minha mãe Célia,
Pela educação e formação que me deu, por me apoiar em todos os
momentos e por torcer por mim*

*A minha irmã Vivian,
Pela amizade e carinho*

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP e ao Departamento de Fitopatologia e Nematologia pela oportunidade de realização do Doutorado.

À Professora Dra. Lilian Amorim, pelos nove anos de aprendizado, por tudo que me ensinou, pela paciência e confiança em mim depositada;

À Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de doutorado;

A todos os professores do Setor de Fitopatologia pelo grande aprendizado proporcionado durante o curso de Doutorado, em especial ao prof. Nelson Sidnei Massola Júnior por disponibilizar o Laboratório de Micologia para a realização das reações de PCR e ao prof. Luis Eduardo Aranha Camargo pelas sugestões no trabalho;

Ao prof. Angelo Pedro Jacomino, por disponibilizar o Laboratório de Pós- Colheita do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP.

Ao prof. Paulo César Sentelhas pelo auxílio nas análises dos dados meteorológicos e interpretação dos resultados.

Ao Ivan Herman Fischer, pelo auxílio durante todo o trabalho, apoio nos momentos difíceis e pela amizade.

À Marise Cagnin Martins, pelo auxílio durante o trabalho, amizade, e por tudo que me ensinou desde o início da minha trajetória na Fitopatologia;

À Silvia de Afonseca Lourenço, por toda a ajuda nos experimentos práticos, pelo apoio nos momentos difíceis e pela amizade.

Ao Wagner, ao Carlos, Débora, Thaís e à Máisa pelo auxílio na execução da PCR para identificação das espécies de *Colletotrichum*;

Ao Thales, pelo auxílio na execução dos experimentos com atmosfera controlada.

Ao Prof. Marcelo Schineider pelo auxílio na correção dos Abstracts.

Ao Matheus Funis pela correção e auxílio durante a execução da Tese.

Ao Sr. Ricardo Kumagai e Sr. Odair do Nascimento pela atenção e fornecimento de goiabas da variedade Kumagai.

Ao Ednilson (Casa da Uva) e Cláudio (Notria), pelo fornecimento de goiabas;

Aos amigos da Epidemiologia Maria Cândida, Fabrício, Júlio, Thais, Geraldo, Carol, Guilherme, Juliana, Renata e Paula pelos bons momentos, pela ajuda nos trabalhos

e pela amizade, em especial ao Alécio e ao Antonio pelas contribuições na correção da Tese.

Aos estagiários Aricélis, Pedro Assis, Pedro Favero e André pelo auxílio nas atividades de laboratório.

Aos demais colegas do Departamento de Fitopatologia Dalilla, Simone, Silvia, Daniela, Ana Carolina, Débora, Juliana Ramiro, Ananias, Carla, Pedro, Davi, pela amizade e pela convivência agradável no Departamento;

A todos os funcionários do setor de Fitopatologia por oferecerem boas condições de trabalho, pela amizade, em especial à Fabiana da secretaria da pós-graduação;

Aos funcionários da biblioteca, em especial à Eliana pela disposição em ajudar, pelo bom humor e pela rapidez e eficiência na correção da Tese;

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

Muito obrigada!

“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende”.

Leonardo da Vinci

SUMÁRIO

RESUMO.....	13
ABSTRACT	15
1 INTRODUÇÃO	17
Referências	21
2 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO PERÍODO DE MOLHAMENTO NA COLONIZAÇÃO DE <i>Guignardia psidii</i> EM GOIABAS ‘KUMAGAI’	25
Resumo	25
Abstract	25
2.1 Introdução	26
2.2 Revisão Bibliográfica.....	27
2.2.1 A cultura da goiabeira.....	27
2.2.2 A Pinta preta da goiaba.....	29
2.2.3 Influência das variáveis ambientais no desenvolvimento da doença	30
2.3 Material e Métodos.....	31
2.4 Resultados	33
2.5 Discussão.....	41
2.6 Conclusões.....	42
Referências	43
3 INCIDÊNCIAS DE DOENÇAS PÓS-COLHEITA EM GOIABAS ‘Kumagai’ NOS MERCADOS ATACADISTAS: CEASA (CAMPINAS, SP) E CEAGESP (SÃO PAULO, SP)	47
Resumo	47
Abstract	47
3.1 Introdução	48
3.2 Revisão Bibliográfica.....	50
3.2.1 Principais doenças da goiabeira.....	50
3.2.2 Mercados atacadistas do Estado de São Paulo.....	51
3.2.3 Importância da qualidade na comercialização.....	52
3.3 Material e Métodos.....	54
3.4 Resultados	55
3.5 Discussão.....	61
3.6 Conclusões.....	64

Referências.....	64
4 DINÂMICA TEMPORAL DE DOENÇAS QUIESCENTES EM POMARES DE GOIABEIRA DE CAMPINAS, SP E VALINHOS, SP.....	69
Resumo	69
Abstract.....	70
4.1 Introdução.....	70
4.2 Revisão Bibliográfica	72
4.2.1 A importância da goiaba no Estado de São Paulo.....	72
4.2.2 Doenças quiescentes em frutos.....	74
4.2.3 Epidemiologia das principais doenças pós-colheita da goiaba	75
4.2.4 Influência das variáveis ambientais	77
4.2.5 Detecção de infecções quiescentes.....	79
4.3 Material e Métodos	80
4.3.1 Dados climáticos.....	80
4.3.2 Descrição das áreas experimentais	80
4.3.3 Avaliações e delineamento experimental.....	82
4.3.4 Dinâmica temporal das doenças quiescentes nos pomares de goiabeiras de Campinas, SP e Valinhos, SP	83
4.3.4.1 Correlação entre as variáveis ambientais e a incidência das doenças	84
4.3.4.2 Preservação dos isolados.....	84
4.3.4.3 Identificação das espécies de <i>Colletotrichum</i> presentes nos frutos.....	85
4.3.4.3.1 Extração de DNA	85
4.3.4.3.2 Análise por PCR	86
4.3.4.4 Coleta e avaliação de armadilhas caça-esporos.....	87
4.4 Resultados	88
4.4.1 Progresso temporal das doenças quiescentes nos pomares de goiabeiras de Campinas/SP e Valinhos/SP	88
4.4.1.1 Correlações entre as variáveis meteorológicas e a incidência da antracnose nos campos de produção de goiaba ‘Kumagai’	96
4.4.1.2 Identificação das espécies de <i>Colletotrichum</i> presentes nos frutos.....	97
4.4.1.3 Coleta e avaliação de armadilhas caça-esporos.....	98
4.5 Discussão	99
4.6 Conclusões	110
Referências.....	110

5 EFEITO DA ATMOSFERA CONTROLADA COM ALTAS CONCENTRAÇÕES DE O ₂ ASSOCIADAS A DIFERENTES DOSES DE CO ₂ E N ₂ O NO CONTROLE <i>IN VITRO</i> E <i>IN VIVO</i> DE <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>C. acutatum</i> e <i>Guignardia psidii</i> EM GOIABAS 'KUMAGAI'	119
Resumo	119
Abstract	120
5.1 Introdução	120
5.2 Revisão Bibliográfica	122
5.2.1 Métodos de controle de doenças pós-colheita de goiabeira.....	122
5.2.2 Atmosfera Controlada.....	124
5.3 Material e Métodos	126
5.3.1 Efeito da atmosfera controlada com altas concentrações de O ₂ associadas a diferentes doses de N ₂ , CO ₂ e N ₂ O no controle <i>in vitro</i> de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>C. acutatum</i> e <i>Guignardia psidii</i> , isolados de goiaba.....	126
5.3.2 Efeito da atmosfera controlada com altas concentrações de O ₂ associadas a diferentes doses de CO ₂ e N ₂ O no controle <i>in vivo</i> de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>C. acutatum</i> e <i>Guignardia psidii</i> , em goiabas 'Kumagai'	128
5.3.2.1 Análises físico-químicas dos frutos pré e pós-tratamento	130
5.4 Resultados	131
5.4.1 Efeito da atmosfera controlada com altas concentrações de O ₂ associadas a diferentes doses de CO ₂ e N ₂ O no controle <i>in vitro</i> de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>C. acutatum</i> e <i>Guignardia psidii</i> , isolados de goiaba.....	131
5.4.2 Efeito da atmosfera controlada com altas concentrações de O ₂ associadas a diferentes doses de CO ₂ e N ₂ O no controle <i>in vivo</i> de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>C. acutatum</i> e <i>Guignardia psidii</i> em goiabas 'Kumagai'	133
5.5 Discussão.....	136
5.6 Conclusões.....	139
Referências	139

RESUMO

Doenças quiescentes em goiabas: quantificação e controle pós-colheita

As doenças pós-colheita em goiabas podem representar danos entre 20 e 40%, em função de condições ambientais e manejo integrado de doenças tanto antes quanto após a colheita. A adequação dos produtores às normas do Programa Integrado de Frutas (PIF) garante a obtenção de frutos com qualidade, produzidos de forma sustentável. Porém, exige o uso racional de agroquímicos durante as fases de produção da fruta. Neste contexto, utilizando a variedade Kumagai de polpa branca, os objetivos deste trabalho foram: (i) determinar as condições ambientais favoráveis à colonização natural de *Guignardia psidii* em goiabas; (ii) quantificar a incidência das doenças pós-colheita em goiabas nos dois principais mercados atacadistas do Estado de São Paulo; (iii) detectar e quantificar as doenças quiescentes desde a flor até em frutos no ponto de colheita; (iv) verificar o efeito da atmosfera controlada utilizando altas concentrações de O₂ no controle das principais doenças pós-colheita da goiaba. Experimentos em condições controladas foram conduzidos para determinar o efeito de condições ambientais na colonização de *G. psidii* em goiabas. Na CEASA e na CEAGESP foram realizados levantamentos para quantificar as doenças pós-colheita em goiabas. Em duas áreas de produção de goiabas quantificaram-se as doenças quiescentes da goiaba em duas áreas de produção pelo método de detecção precoce de infecções quiescentes. Armadilhas caça-esporos foram colocadas em plantas para quantificar esporos carregados pela chuva. Talhões com e sem restos de cultura ao redor das plantas foram avaliados. Experimentos *in vitro* e *in vivo* foram realizados com diferentes tratamentos de atmosfera controlada para o controle de antracnose e pinta preta da goiaba. A temperatura ótima para a colonização de *G. psidii* foi de 30 °C, atingindo incidência de 100% com 24 horas de molhamento, 10 dias após incubação. As principais doenças observadas nos mercados atacadistas e nas duas áreas de produção de goiabas foram antracnose, pinta preta e podridão de *Fusicocum*, com incidências máximas de 56,6%, 46,1% e 41,9%, respectivamente nos mercados atacadistas e máximas de 86,4%, 62,0% e 44,0%, respectivamente, nas áreas de produção de goiabas, 10 dias após incubação a 25 °C. A antracnose foi a única doença observada desde a flor até em frutos maduros. Houve correlação direta entre a temperatura máxima combinada ou não com a precipitação acumulada e a incidência de antracnose nos frutos. Todos os isolados de *Colletotrichum* obtidos de frutos doentes foram identificados como *C. gloeosporioides*. Não houve diferença significativa nas incidências das principais doenças quiescentes da goiaba para as áreas com e sem restos culturais. A ocorrência de chuva no florescimento e nos estádios iniciais de desenvolvimento do fruto associada a temperaturas elevadas resultaram em incidências elevadas das principais doenças quiescentes da goiaba 'Kumagai' em pós-colheita. O tratamento 30% CO₂ + 70% O₂ proporcionou maiores reduções no crescimento micelial dos fungos avaliados e na incidência de frutos doentes, após 4 dias sob atmosfera controlada. Frutos armazenados em atmosferas contendo 60% N₂O + 20% O₂ + 20% N₂ e 30% CO₂ + 70% O₂ apresentaram menores severidade da antracnose e pinta preta, respectivamente em goiabas.

Palavras-chave: Antracnose; *Guignardia psidii*; Sobrevivência; Atmosfera controlada

ABSTRACT

Quiescent diseases in guava: quantification and post-harvest control

Post-harvest diseases in guavas may represent damages from 20 to 40%. Environmental conditions and disease management, before or after harvesting, are among their major causes. Standards proposed by the Integrated Production Fruit (IPF) ensure fruit quality and sustainable production with rational use of agrochemicals. Using the white-fleshed variety Kumagai, the objectives were: (i) to determine the environmental conditions favorable to the natural colonization of *Guignardia psidii* in guava (ii) to quantify the incidence of major post-harvest diseases of guava at the main wholesale markets of São Paulo state, (iii) to detect and quantify the quiescent diseases from flower to fruit in the harvest point (iv) to evaluate the effect of controlled atmosphere using high concentrations of O₂ to control the main post-harvest diseases of guava. Experiments were conducted under controlled conditions to determine the effect of environmental conditions on the colonization of *G. psidii* on guavas. Surveys were carried out to quantify the post-harvest diseases in guavas in CEASA and CEAGESP. The quiescent diseases of guava were quantified in two production areas by the method of early detection of quiescent infection. Inverted-bottle samplers were placed on plants to quantify spores carried by rain. Plots with and without crop residues around the plants were evaluated. Experiments *in vitro* and *in vivo* experiments were performed with different controlled atmosphere treatments for control of anthracnose and black spot of guava. The optimum temperature for *G. psidii* colonization was 30 °C, reaching 100% incidence with 24 hours of wetness, 10 days after incubation. The main diseases observed in the wholesale markets and in the two production areas were guava anthracnose, black spot and *Fusicocum* rot. The highest incidences were 56.6%, 46.1% and 41.9%, for anthracnose, black spot and *Fusicocum* rot, respectively, stored at 25 °C. In the field, fruits presented maximum incidences of 86.4% for anthracnose, 62.0% for black spot and 44.0% for *Fusicocum* rot. Anthracnose was the only post-harvest quiescent disease that was observed from the flower to the mature fruit. There was direct correlation between the maximum temperature and the incidence of anthracnose regardless of rainfall. *Colletotrichum* sp. strains obtained from diseased fruit were identified as *C. gloeosporioides*. There was no significant difference in the incidence of major diseases of guava quiescent in areas with and without crop residues around the plants. The occurrence of rain during flowering and early stages of fruit development associated with high temperatures resulted in high diseases incidences of major diseases quiescent guava 'Kumagai' in post-harvest. The treatment 30% CO₂ + 70% provided greater reductions in mycelial growth of fungi and incidence of diseased fruits, after 4 days under controlled atmosphere. Fruit stored with 60% N₂O + 20% O₂ + 20% N₂ and 30% CO₂ + 70% O₂ showed lower severity of anthracnose and black spot, respectively.

Keywords: Anthracnose; *Guignardia psidii*; Pathogen Survival; Controlled atmosphere

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor de goiabas vermelhas e o segundo maior produtor de goiabas brancas (MENDONÇA et al., 2007), com uma produção de 288.299 toneladas obtidas em 2009 em uma área de 15 mil hectares aproximadamente. A participação das regiões brasileiras em 2009 foi distribuída da seguinte maneira: o nordeste e o sudeste produziram 45,4 e 41,8%, respectivamente, seguido do centro-oeste, sul e norte com 6,9, 4,0 e 1,9%, respectivamente (FNP, 2012).

Entre as variedades de goiaba, destaca-se a 'Kumagai' de polpa branca, tanto pelo aroma e sabor mais suaves em relação à goiaba de polpa vermelha quanto pela textura da polpa, poucas sementes e pela crocância da casca (MANICA et al., 2001). Por ser considerado um fruto altamente perecível, os danos pós-colheita, representados pela redução na qualidade e quantidade produzida, são fatores limitantes na produção de goiaba. Estima-se que os danos em goiabas podem atingir 40% do total produzido, sendo as doenças pós-colheita uma das principais causas (SIGRIST, 1983).

As doenças pós-colheita podem ser ocasionadas por patógenos que infectam os frutos após a colheita (típicas) ou ocasionadas por patógenos que infectam a fruta antes da colheita, permanecendo quiescentes até a maturação, quando ocorrem fenômenos físicos e fisiológicos que propiciam a infecção (quiescentes). No entanto, essa resistência pode ser rompida por danos mecânicos ou fisiológicos, tornando os frutos susceptíveis aos patógenos.

As principais doenças pós-colheita da goiaba são do tipo quiescente, causadas pelos patógenos *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Penz & Sacc. (teleomorfo: *Glomerella cingulata*) e *Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds (teleomorfo: *Glomerella acutata*), agentes causais da antracnose, *Guignardia psidii* Ullasa e Rawal, agente causal da pinta preta e *Fusicoccum* sp., agente causal da podridão de Fusicocum (BARKAI-GOLAN, 2001; MARTINS et al., 2007; FISCHER et al., 2011).

Para identificar as fases do desenvolvimento do fruto em que ocorre a infecção, bem como quantificar as doenças quiescentes no campo existem algumas metodologias para detecção precoce de infecções quiescentes, já realizadas em rosáceas de caroço (NORTHOVER; CERKAUSKAS, 1994) e macieira (VALDEBENITO-SANHUEZA, 2005). Uma das metodologias consiste na imersão de frutos verdes em solução do herbicida paraquat e posterior incubação em

temperatura ambiente com luz. A atividade do herbicida, mediada pela luz, gera radicais livres, os quais induzem a peroxidação de lipídeos e perda da integridade da membrana após a sua aplicação (BURDEN; COOKE; HARGREAVES, 1990; DODGE, 1971). Dessa forma, os frutos tratados são induzidos à senescência e os patógenos passam a expressar seus sintomas.

Os estudos sobre a epidemiologia das doenças quiescentes da goiaba no campo são escassos. Sobre as condições ambientais que as favorecem existem alguns estudos para antracnose e pinta preta (SOARES, 2008; MORAES, 2009; ESCANFERLA, 2007), todos realizados em condições controladas. Porém, levantamentos de doenças no mercado atacadista relatam a elevada incidência que essas doenças podem atingir em pós-colheita (MARTINS et al., 2007; FISCHER et al., 2011).

Em um levantamento de doenças realizado em duas áreas produtoras de goiaba em Campinas-SP, a incidência média de *G. psidii* foi de 18,6%, superior à de antracnose (5,9%), atingindo valores próximos a 60%, dependendo da época do ano (AMARAL et al., 2006). Já na Central de Abastecimento S.A. (CEASA) em Bauru, São Paulo, Fischer e colaboradores (2011) relataram a antracnose como a doença observada em maiores incidências em goiabas “Pedro Sato” e “Paluma” com médias de 35,5% e 30,3% dos frutos, respectivamente, 9 dias após armazenamento a 25°C. Na cultivar “Pedro Sato” as incidências de pinta preta e podridão de *Fusicocum* foram estatisticamente iguais e inferiores à incidência de antracnose. Na cultivar “Paluma” a incidência de pinta preta foi estatisticamente igual à incidência de antracnose. A incidência da podridão de *Fusicocum* diferiu das incidências de antracnose e pinta preta causando sintomas em 8% dos frutos.

O controle das doenças da goiaba normalmente é realizado com produtos químicos durante o desenvolvimento da cultura. Os produtores que realizam o ensacamento dos frutos fazem a aplicações de fungicidas até os frutos atingirem 3,0 cm de diâmetro e os produtores que não realizam o ensacamento dos frutos pulverizam durante todo o ciclo com intervalos de 15 dias, em média, entre uma aplicação e outra (NASCIMENTO¹ comunicação pessoal). Em pós-colheita, algumas tentativas de controle químico de doenças pós-colheita da goiaba já foram

¹ NASCIMENTO, O. Produtor rural – Valinhos, SP

realizadas, sendo comprovada a eficiência apenas do fungicida Prochloraz, que não é registrado para a cultura.

A adequação da propriedade às normas da Produção Integrada de Frutas (PIF) e à produção de frutos para exportação garante a qualidade do fruto bem como eleva o preço de venda dos mesmos. Em contrapartida, os programas de certificação restringem o uso de fungicidas. Por isso, alternativas para o controle de doenças da goiaba vem sendo estudadas. Os métodos alternativos mais estudados envolvem o uso de ceras (OJEDA, 2001; COMBRINK; KOCK; VAN EEDEN, 1990), de absorvedores de etileno (AHLAWAT; YAMDAGNI; JINDAL, 1980), aplicações de cálcio (BOTELHO et al., 2000), reguladores de crescimento (SAHA, 1971), termoterapia (YUSOF; HASHIM, 1992) e atmosfera modificada (JACOMINO, 1999; GASPAR, 1997). Estas técnicas visam, principalmente, aumentar o tempo de conservação e retardar o amadurecimento permitindo ampliar o tempo de comercialização.

Entre os métodos que apresentam potencial para o controle de patógenos pós-colheita, o armazenamento de frutos em câmaras com atmosfera controlada tem mostrado bons resultados. Este método de controle consiste em promover uma concentração de gases na atmosfera ao redor do fruto a níveis constantes e diferentes daqueles encontrados na atmosfera normal (KADER; ZAGORY; KERBEL, 1989). Com o amadurecimento normal, os tecidos dos frutos se tornam mais vulneráveis aos patógenos. O armazenamento em atmosfera controlada atrasa o amadurecimento e promove a redução da taxa respiratória dos frutos (SMOCK, 1979). Como consequência, reduz a susceptibilidade dos mesmos à infecção por microorganismos. Redução nas taxas de produção de etileno, prolongamento da firmeza dos frutos, retardamento nas mudanças de cor e manutenção das características organolépticas também são outros benefícios da atmosfera controlada.

Inicialmente, as atmosferas com concentrações de O_2 inferiores a 8% e de CO_2 superiores a 5% eram as mais estudadas e utilizadas comercialmente (WELLS; UOTA, 1970; SOMMER, 1985; KADER, 1992). Porém, o armazenamento em atmosferas com alto CO_2 ou baixo O_2 por um longo período pode levar ao acúmulo de acetaldeído e etanol, o qual além de prejudicar o amadurecimento normal pode resultar em sabor e odor desagradáveis e favorecer a ocorrência de desordens

fisiológicas mesmo após a remoção dos frutos do tratamento (FIDLER; NORTH, 1971).

Na tentativa de reduzir os riscos causados pelo uso de atmosferas com altos teores de dióxido de carbono e baixos teores de oxigênio, diversos gases com potencial para conservação de frutas têm sido testados, como é o caso do óxido nitroso (N_2O) (QADIR; HASHIMAGA, 2001) e a super-atmosfera de oxigênio que utiliza elevadas concentrações de oxigênio (ALLENDE et al., 2007).

O N_2O (óxido nitroso) é um gás presente em concentrações mínimas na composição atmosférica do ar e apresenta algumas propriedades semelhantes ao CO_2 como, por exemplo, a solubilidade na célula. Porém, difere do CO_2 por não ser tóxico e por atuar sobre a síntese e ação do etileno (FATH; SOUDAIN; BORDES, 1990). Os efeitos do N_2O sobre produtos hortícolas têm sido estudados em frutas climatéricas como banana (PALOMER et al., 2005), abacate (GOUBLE; FATH; SOUDAIN, 1995), maçã, caqui, tomate (QADIR; HASHIMAGA, 2001), como também em frutas não climatéricas como morangos e tangerinas (QADIR; HASHIMAGA, 2001), demonstraram resultados promissores na manutenção da qualidade e na redução de podridões pós-colheita.

O O_2 (oxigênio) é o segundo gás mais abundante da composição atmosférica do ar (21%), é insípido, inodoro e pouco solúvel em água, podendo ser tóxico a elevadas pressões parciais. Considerando que os organismos anaeróbios crescem melhor em níveis muito baixos de O_2 e aeróbios crescem melhor em condições atmosféricas normais, Day (1996) constatou que qualquer nível de O_2 acima da concentração ambiente poderia reduzir podridões. A partir desses resultados atmosferas utilizando altos níveis de oxigênio vem sendo testadas para fruteiras tropicais e subtropicais. Em um estudo com morangos verificou-se que frutos armazenados em atmosferas com alto O_2 permaneceram firmes por mais tempo e apresentaram menor incidência de podridões quando comparados aos tratamentos com baixo O_2 (ALLENDE et al., 2007).

Neste contexto, este trabalho objetivou determinar as condições ambientais favoráveis à colonização natural de *Guignardia psidii* em goiabas, quantificar a incidência das principais doenças pós-colheita em goiabas na CEASA (Campinas, SP) e na CEAGESP (São Paulo, SP), detectar as doenças quiescentes e quantificar a incidência das mesmas desde a flor até em frutos no ponto de colheita e verificar o efeito da atmosfera controlada utilizando altas concentrações de O_2 no crescimento

de *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum* e *G. psidii* *in vitro*, bem como no controle das principais doenças pós-colheita da goiaba.

Referências

AHLAWAT, V.P.; YAMDAGNI, R.; JINDAL, D.C. Studies on the effect of post-harvest treatments on storage behavior of guava (*Psidium guajava* L.) cv. Sardar (L49). **Haryana Agricultural University Journal of Research**, Hissar, v. 10, n. 2, p. 244-247, 1980.

ALLENDE, A.; MARÍN, A.; BUENDÍA, B.; TOMÁS-BARBERÁN, F.; GIL, M.I. Impact of combined postharvest treatments (UV-C light, gaseous O₃, super atmospheric O₂ and high CO₂) on health promoting compounds and shelf-life of strawberries. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 46, n. 3, p. 201-211, 2007.

AMARAL, C.S.; SALVAIA, A.; ANGELI, S.S.; MARTINS, M.C.; LOURENÇO, S.A.; AMORIM, L. Incidência de patógenos pós-colheita em goiabas Kumagai. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, p. 57-58, 2006. Suplemento. Apresentado no CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 29., 2006, Botucatu.

BARKAI-GOLAN, R. **Postharvest diseases of fruits and vegetables**: development and control. Amsterdam: Elsevier Science, 2001. 418 p.

BOTELHO, R.V.; SOUZA, N.L.; PERES, N.A. Efeito do tratamento pós-colheita com cloreto de cálcio, pelo método da temperatura diferenciada, no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em goiabas 'Branca de Kumagai'. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 26, p.268-271, 2000.

BURDEN, R.S.; COOKE, D.T.; HARGREAVES, J.A. Review – mechanism of action of herbicidal and fungicidal compounds on cell membranes. **Pesticide Science**, Oxford, v. 30, p. 125-140, 1990.

COMBRINK, J.C.; KOCK, S.L.; VAN EEDEN, C. Effect of postharvest treatment and packaging on the keeping quality of fresh guava fruit. **Acta Horticulturae**, Den Haag, n. 275, p. 639-645, 1990.

DAY, B.P.F. High oxygen MAP for fresh prepared produce. **Postharvest News and Information**, Wallingford, v. 7, n. 3, p. 31-34, 1996.

DODGE, A.D. The mode of action of bipyridylium herbicides, paraquat and diquat. **Endeavour**, Oxford, v. 30, p. 130-135, 1971.

ESCANFERLA, M.E. **Pré-penetração de *Guignardia psidii* em goiaba: influência da temperatura, duração do molhamento, idade dos frutos e concentração de etileno e dióxido de carbono**. 2007. 85 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

FATH, D.; SOUDAIN, P.; BORDES, M. **Procédé de traitement de conservation de produits alimentaires végétaux frais**. The Hague, 1990. European Patent Office Netherlands, n°. 90402748.9.

FIDLER, J.C. The metabolism of acetaldehyde by plant tissues. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 19, p. 1-51, 1968.

FISCHER, I.H.; ALMEIDA, A.M.; ARRUDA, M.C.; BERTANI, R.M.A.; GARCIA, M.J.M.; AMORIM, L. Danos em pós-colheita de goiabas na Região do Centro-Oeste Paulista. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 3, p. 570-576, 2011.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO Goiaba. In: _____. **Agrianual 2012: anuário da agricultura brasileira**. São Paulo, 2012. p. 310.

GASPAR, J.W.; COUTO, F.A.A.; SALOMÃO, L.C. Effect of low temperature and plastic films on post-harvest life of guava (*Psidium guajava* L). **Acta Horticulturae**, The Hague, n. 452, p. 107-114, 1997.

GOUBLE, H.; FATH, D.; PIERRE, S. Nitrous oxide inhibition of ethylene production in ripening and senescing climacteric fruits. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 5, p. 311-321, 1995.

JACOMINO, A.P. **Conservação de goiabas “Kumagai” em diferentes temperaturas e materiais de embalagem**. 1999. 90 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

KADER, A.A. **Postharvest technology of horticultural crops**. 2nd ed. Oakland: University of California, Division of Agricultural and Natural Resources, 1992. 296 p.

KADER, A.A.; ZAGORY, D.; KERBEL, E.L. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Davis, v. 28, n. 1, p. 1-33, 1989.

MANICA, I.; ICUMA, I. M.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SALVADOR, J. O.; MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E. **Fruticultura tropical 6. Goiaba**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2000. 374 p.

MARTINS, M.C.; AMORIM, L.; LOURENÇO, S.A.; GUTIERREZ, A.S.D.; WATANABE, H.S. Incidência de danos pós-colheita em goiabas no mercado atacadista de São Paulo e sua relação com a prática de ensacamento de frutos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, p. 245-248, 2007.

MENDONÇA, R.D.; FERREIRA, K.S.; SOUZA, L.M.; MARINHO, C.S.; TEIXEIRA, S.L. Características físicas e químicas de goiabas 'Cortibel 1' e 'Cortibel 4' armazenadas em condições ambientais. **Bragantia**, Brasília, v. 66, p. 685-692, 2007.

MENEZEZ, M.; HANLIN, R.T. Apressoria of Brazilian isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. causal agent of anthracnoses diseases. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 27, p. 247-251, 1996.

MORAES, S.R.G. **Infecção e colonização de *Colletotrichum gloeosporioides* em goiaba e infecção de *Colletotrichum acutatum* em folhas de citros**. 2009. 115 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2009.

NORTHOVER, J. CERKAUSKAS, R.F. Detection and significance of symptomless latente infections of *Monilinia fructicola* in plums. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ontario, v. 16, p. 30-36, 1994.

OJEDA, R.M. **Utilização de ceras, fungicidas e sanitizantes na conservação de goiabas “Pedro Sato” sob condição ambiente**. 2001. 57 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

PALOMER, X.; ROIG-VILLANOVA, I.; GRIMA-CALVO, D.; VENDRELL, M. Effects of nitrous oxide (N₂O) treatments on the postharvest ripening of banana fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 36, n. 2, p. 167-175, 2005.

PANDEY, R.R. Effect of foliar applications of fungicides on the phylloplane mycoflora and fungal pathogens of guava. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 123, p. 52-62, 1988.

PEREIRA, F.M.; MARTINEZ JÚNIOR, M. **Goiabas para a industrialização**. Jaboticabal: Legis Summa, 1986. 142 p.

PERES, N.A.R.; KURAMAE, E.E.; DIAS, M.S.C.; SOUZA, N.L. Identification and characterization of *Colletotrichum* spp. affecting fruit after harvest in Brazil. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 150, p. 128-134, 2002.

PICCININ, E.; PASCHOLATI, S.F.; DI PIERO, R.M. Doenças da goiabeira (*Psidium guajava* L.). 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. 401-405.

QADIR, A.; HASHINAGA, F. Nitrous oxide inhibits *in vitro* growth of multiple postharvest fungi. **HortScience**, Alexandria, v. 36, p. 1302-1304, 2001

SAHA, A.K. Effect of post-harvest treatment with growth regulators on the ripening and chemical composition of guava (*Psidium guajava* L) fruits. **Indian Journal of Horticulture**, Lucknow, v. 28, n. 1, p. 11-15, 1971.

SIGRIST, J.M.M. Perdas pós-colheita de frutas e hortaliças. In: CEREDA, M.P.; SANCHES, L. **Manual de armazenamento e embalagem-produtos agropecuários**. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1983. p. 1-12.

SINGH, R.S. **Diseases of fruit crops**. Enfield: Science Publishers, 2000. 310 p.

SMOCK, R. Controlled atmosphere storage of fruits. **Horticultural Reviews**, New York, v. 1, p. 301–336, 1979.

SOARES, A.R. **Infecção e colonização de goiabas por *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento**. 2008. 85 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

SOMMER, N.F. Role of controlled environments in suppression of postharvest diseases. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ontario, v. 7, p. 331-339, 1985.

TEIXEIRA, G.H.A.; DURIGAN, J.F. **Controle da atmosfera durante o armazenamento refrigerado de frutas tropicais: relatório FAPESP 2006-07**. Jaboticabal: UNESP, FCAV, 2007. 137 p.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; DUARTE, V.; AMORIM, L.; PORTO, M.D.M. Detecção e epidemiologia da podridão branca da maçã. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 3, p.217-223, 2005.

VAN DER STEEN, C.; DEVLIEGHERE, F.; DEBEVERE, J. High oxygen concentration in combination with elevated carbon dioxide to affect growth of fresh-cut produce micro-organisms. **Acta Horticulturae**, Den Haag, n. 599, p. 141-148, 2003.

WELLS, J.M.; UOTA, M. Germination and growth of five fungi in low-oxygen and high carbon dioxide atmospheres. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 60, p.50-53, 1970.

YUSOF, S.; HASHIM, H. Hot water versus vapour heat treatment and their effects on guava (*Psidium guajava* L.) fruits. **Acta Horticulturae**, Den Haag, n. 292, p. 217-221, 1992.

ZHENG, Y.; YANG, Z.; CHEN, X. Effect of high oxygen atmospheres on fruit decay and quality in Chinese bayberries, strawberries and blueberries. **Food Control**, London, v. 19, p. 470-474, 2008.

2 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO PERÍODO DE MOLHAMENTO NA COLONIZAÇÃO DE *Guignardia psidii* EM GOIABAS 'KUMAGAI'

Resumo

Um levantamento de doenças realizado em duas áreas produtoras de goiaba em Campinas, SP e outro realizado no mercado atacadista de São Paulo, SP revelaram que a incidência da pinta preta (*Guignardia psidii*) foi elevada atingindo valores de até 58%. Existem poucos estudos sobre a influência das variáveis ambientais no desenvolvimento desta doença. Experimentos foram conduzidos em condições controladas para determinar o efeito da temperatura e do período de molhamento nas variáveis: incidência, severidade, taxa de progresso e período de incubação da pinta preta, em goiabas 'Kumagai'. Frutos provenientes de uma área de produção de goiabas com histórico de ocorrência da doença foram submetidos a diferentes temperaturas (10, 15, 20, 25, 30 e 35 °C) com períodos de molhamento de 6 e 24 horas. A incidência e a severidade foram avaliadas a cada dois dias, durante 10 dias. O período de incubação e a taxa de progresso da severidade da doença foram obtidos ao final das avaliações. Análise de variância e regressão não-linear foram utilizadas para determinar a relação entre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), a severidade final e a taxa de progresso da doença e a temperatura, bem como para determinar a relação entre a incidência da doença e o tempo. Os dados da severidade final para cada temperatura e período de molhamento foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, constituído de 20 repetições (frutos) e 12 tratamentos. O experimento foi repetido uma vez. Dez dias após a incubação, sintomas de pinta preta não foram observados em frutos mantidos a 10 e 35 °C. A temperatura ótima para a colonização dos frutos foi próxima de 30 °C para todas as variáveis. Frutos armazenados à 30 °C com período de molhamento de 24 horas, apresentaram 100% de incidência da pinta preta, severidade máxima de 3,02 cm, a taxa de progresso foi de 6,9 mm/dia e o período de incubação foi de 6 dias. A severidade nas temperaturas de 25 e 30 °C foi superior à severidade nas demais temperaturas e estatisticamente iguais entre si. As variáveis não foram influenciadas pelos períodos de molhamento testados.

Palavras-chave: Pinta preta; Severidade; Taxa de progresso da doença; Incidência

Abstract

A survey conducted in two guava producing areas in Campinas, SP, and another in the wholesale market in São Paulo, SP, showed that the incidence of black spot (*Guignardia psidii*) reached 58%. There are few studies on the influence of environmental factors in the development of this disease. Experiments were conducted under controlled conditions to determine the effect of temperature and wetness period on the variables: incidence, severity, progress rate and incubation period of black spot in 'Kumagai' guava. Fruit from a production field with a history of occurrence of the disease were submitted to different temperatures (10, 15, 20, 25, 30

and 35 °C) with wetting periods of 6 and 24 hours. The disease incidence and severity were evaluated every two days for 10 days. The disease incubation period and the rate of progression of disease severity were obtained at the end of the evaluations. Analysis of variance and nonlinear regression were used to determine the relationship between the area under disease progress curve (AUDPC), final disease severity, rate of disease progression and temperature, and to determine the relationship between the disease incidence and time. The data from final black spot severity were submitted to analysis of variance and averages compared by Tukey test ($p \leq 0,05$). The experimental design was completely randomized, consisting of 20 repetitions (fruit) and 12 treatments. The experiment was repeated once. Ten days after incubation, black spot symptoms were not observed in fruit maintained at 10 and 35 °C. The optimum temperature for fruit colonization was close to 30 °C for all variables. Fruit stored at 30 °C with wetting period of 24 hours 10 days after incubation, had 100% incidence of black spot, with mean severity of 3.02 cm, rate of progress of 6.9 mm/day and the incubation period of 6 days. The severity at temperatures of 25 and 30 °C was statistically equal and superior to other temperatures. The variables were not affected by the wet periods tested.

Keywords: Black spot; Disease severity; Disease progression rate; Disease Incidence

2.1 Introdução

A goiaba apresenta excelente qualidade nutricional e características organolépticas (sabor e aroma) agradáveis, apresentando teores elevados de vitamina C e outras vitaminas, além de ferro, potássio e fósforo na polpa. Além disso, contém fibras de elevada digestibilidade e é considerada um excelente alimento para a saúde humana (CARVALHO, 1994).

O fruto da goiabeira é altamente perecível devido ao intenso metabolismo durante o amadurecimento. Nesse período o fruto fica mais sujeito a ocorrência de doenças pós-colheita. As doenças pós-colheita estão entre as principais causas da antecipação da colheita de frutos, pois frutos imaturos não apresentam sintomas. Porém, à medida que o fruto amadurece, os sintomas de doenças pós-colheita aparecem em diferentes graus de severidade, impossibilitando o consumo (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 2007).

As doenças pós-colheita estão entre as principais causas da antecipação da colheita dos frutos, tanto em pomares onde se pratica o ensacamento dos frutos quanto nos pomares onde não o fazem. (BARKAI-GOLAN, 2001). A pinta preta da goiaba, que tem o fungo *Guignardia psidii* como agente causal é uma das principais doenças quiescentes na pós-colheita, podendo infectar o frutos em diferentes

estádios de desenvolvimento do fruto, sem apresentar sintomas até que o fruto se torne maduro.

Estudos relacionados à quantificação de doenças de goiaba relataram incidências de até 58,0% na região de Campinas, SP (AMARAL et al., 2006) e entre 25,5 e 30,3, dependendo da cultivar na região de Bauru, SP (FISCHER et al., 2011). Além disso, pouco se conhece sobre as condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento da doença.

Dada a importância da qualidade da goiaba para o consumo *in natura*, a significativa incidência da pinta preta e os escassos estudos sobre o patossistema goiaba-*Guignardia psidii*, o objetivo deste estudo foi verificar condições ambientais (temperatura e período de molhamento) favoráveis à colonização de *G. psidii* em frutos de goiaba 'Kumagai' naturalmente infectados visando propor métodos de controle que possam reduzir a incidência da doença na pós-colheita.

2.2 Revisão Bibliográfica

2.2.1 A cultura da goiabeira

A goiabeira (*Psidium guajava* L.) pertence à família Myrtaceae, composta por, aproximadamente, 102 gêneros e 3024 espécies conhecidas, distribuídas e cultivadas, principalmente em países de clima tropical e subtropical, apresentando porte variando de arbusto a grandes árvores (MANICA et al., 2001).

A espécie é nativa da América Tropical e amplamente cultivada em todas as regiões do Brasil. Sua produção em grande escala no País teve início na década de 70, quando grandes áreas tecnificadas foram implantadas, com produção direcionada para os mercados interno e externo, nas formas *in natura*, industrializada (doces e sucos) e desidratada (CHOUDHURY et al., 2001).

Nesse contexto, o Brasil é o maior produtor de goiabas de polpa vermelha e o segundo maior produtor de goiabas de polpa branca, seguido da Índia (MENDONÇA et al., 2007). São Paulo e Pernambuco são os maiores Estados brasileiros produtores e juntos perfazem aproximadamente 62,0% da produção (FNP, 2012).

Os frutos da goiabeira são bagas de tamanho, forma e coloração de polpa variável em função da variedade. As goiabas de polpa branca são destinadas exclusivamente ao mercado *in natura* (interno e externo), e as de polpa vermelha podem ser destinadas tanto para o mercado *in natura*, quanto para a indústria (GONGATTI NETTO; GARCIA; ARDITO, 1996).

Dentre as variedades de polpa branca destaca-se a Kumagai, desenvolvida através de seleção massal, pela família Kumagai, no município de Campinas, no fim da década de 1970 (WATANABE; TOTH, 2005). A variedade caracteriza-se por apresentar porte e vigor médios, com ramos longos, esparramados e de boa produtividade. Os frutos são grandes, com 280 a 480 gramas, arredondados a oblongos, com a casca lisa, de consistência firme e resistente, de coloração verde-amarelada quando maduros, apresentando polpa firme, consistente, saborosa, levemente ácida, com a cavidade cheia e com poucas sementes (MANICA et al., 2001). Atualmente é cultivada na região de Campinas e Valinhos e sempre atendeu a um mercado mais exigente, sendo produzida, na maioria das vezes, utilizando-se a poda drástica e o ensacamento dos frutos (GUTIERREZ; WATANABE; SCHMIDT, 2002).

Estudos mostrando os benefícios das frutas frescas à saúde vêm contribuindo para o aumento do consumo desse grupo de alimentos (CHOUDHURY, 2001). Assim, consumidores e importadores pertencentes a esse segmento de mercado exigem cada vez mais qualidade, segurança dos alimentos e preservação do meio ambiente. Para elevar os padrões de qualidade e a competitividade da fruticultura brasileira ao patamar de excelência exigido pelo mercado externo, a Produção Integrada de Frutas (PIF) foi criada, em 1970, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Porém, o programa teve início de suas atividades em 1997, por iniciativa dos produtores de maçã do Rio Grande do Sul e da Embrapa Uva e Vinho. A partir de 1999, já como programa oficial do MAPA, foi estendido para outras frutas (GUEDES; SENA; TOLEDO, 2007).

O principal objetivo da PIF é substituir as práticas convencionais onerosas por um manejo da cultura que possibilite a diminuição dos custos de produção, a melhoria da qualidade, a redução dos danos ambientais e o aumento do grau de credibilidade e confiabilidade do consumidor em relação às frutas brasileiras. O PIF da goiaba foi validado no início de 2005 e conta com 27 produtores, totalizando uma área de 75 ha e uma produção média anual de 300 toneladas (ANDRIGUETO; NASSER; TEIXEIRA, 2006).

Apesar dos esforços em aumentar a exportação da goiaba, a qualidade do fruto é afetada de maneira significativa por danos mecânicos e doenças pós-colheita. Para contornar este problema, foi adotada uma estratégia: a colheita de frutos verdes. Neste estágio, os frutos aparentam estar sadios, mas na realidade, a

infecção por patógenos quiescentes pode ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento do fruto, sem apresentar sintomas em frutos imaturos e somente se desenvolver quando os frutos amadurecerem (ADIKARAM; BROWN; SWINBURNE, 1982).

2.2.2 A Pinta preta da goiaba

A pinta preta da goiaba tem como agente causal o fungo *Guignardia psidii* Ullasa e Rawal [anamorfo: *Phyllosticta psidiicola* (Petrak) van der AA]. O gênero *Guignardia* pertence ao reino Fungi, filo Ascomycota, classe Dothideomycetes, ordem Botryosphaeriales e família Botryosphaeriaceae (INDEXFUNGORUM, 2012). Entre as espécies de *Guignardia*, aproximadamente 40 delas compreendem importantes fungos fitopatogênicos (HAWKSWORTH; DAVID, 1989).

A fase anamórfica do fungo (*Phyllostictina psidiicola*) foi relatada pela primeira vez em 1953, quando foi detectada em frutos de goiabeira provenientes do Havaí (MYCOBANK, 2012). No Brasil, as formas anamórfica e teleomórfica foram inicialmente relatadas por Tozetto e Ribeiro (1993) causando podridão em frutos de goiabeira em pós-colheita no Distrito Federal.

Em meio de cultura, este fungo apresenta micélio denso, de coloração verde acinzentado a marrom-escuro ou preto. Na forma anamórfica o picnídio apresenta forma variável, de coloração marrom a preto, encontrando-se solitário ou em grupos, com paredes espessas compostas de diversas camadas marrom-escuras. Os conídios são hialinos, unicelulares, com pequenos grânulos esverdeados, formato elipsoidal, providos de bainha gelatinosa e presença de apêndice apical (ULLASA; RAWAL, 1984; GONZÁLES; RONDÓN, 2005).

A infecção por *G. psidii* pode ocorrer desde frutos jovens permanecendo em estado quiescente até a maturidade dos mesmos (MANICA et al., 2001; TOZETTO; RIBEIRO, 1998). Os sintomas da doença nos frutos se iniciam com pontos deprimidos na superfície dos frutos que evoluem rapidamente para lesões concêntricas de coloração preto-esverdeadas a marrom-escuras, podendo apresentar frutificações escuras do fungo, do tipo conidiomas picnidiais. As lesões apresentam diâmetro de 1 a 2,5 cm e ocorrem em qualquer parte do fruto. Nos estádios mais avançados pode coalescer com outras lesões (JUNQUEIRA et al., 2001; TOZETTO; RIBEIRO, 1998).

O controle da pinta preta da goiaba no campo tem sido realizado por meio de poda de ramos infectados, a qual, além de reduzir o inóculo, promove uma maior aeração da copa, desfavorecendo a infecção. Além disso, alguns produtores fazem uso do controle químico, utilizando fungicidas cúpricos até oito vezes antes do ensacamento, que ocorre quando os frutos estão com aproximadamente três centímetros de diâmetro (JUNQUEIRA et al., 2001).

2.2.3. Influência das variáveis ambientais no desenvolvimento da doença

Os fatores do ambiente que podem interferir nos diferentes sub processos do ciclo de relações patógeno-hospedeiro são: umidade, temperatura, vento e pH, sendo os dois primeiros, os mais importantes (BEDENDO; AMORIM, 2011).

A temperatura apresenta influência em praticamente todas as etapas do ciclo de vida de um patógeno fúngico: da germinação à sobrevivência. Porém, para cada patossistema existe uma temperatura mínima, máxima e ótima para o desenvolvimento dos fitopatógenos. Temperaturas abaixo da ótima reduzem o progresso de epidemias pela redução de novos ciclos de infecção (aumento dos períodos de latência e incubação) (COLHOUN, 1973). Porém, à medida que a temperatura se eleva a esporulação aumenta até atingir um ponto ótimo, a partir do qual ocorrerá um declínio na esporulação, pois altas temperaturas começam a prejudicar o fungo (MIZUBUTI; MAFFIA; COSTA, 2006). Valores aquém ou além da faixa de temperatura favorável podem permitir que o fungo sobreviva, porém este não será capaz de completar seu ciclo de vida (VALE; ZAMBOLIM, 1996).

A água na forma de vapor (umidade relativa), chuva, irrigação, neblina, contribui para a ocorrência de molhamento foliar, o que pode influenciar as diferentes fases de desenvolvimento da doença, principalmente a germinação e infecção. Nesse sentido, a duração do molhamento é bastante importante. Quando a duração do período de molhamento (DPM) aumenta, ocorre independentemente da temperatura, um aumento na porcentagem de infecção bem sucedida no hospedeiro (SUTTON, 1988).

Segundo Escanferla (2007), as condições ambientais para germinação e formação de apressórios de *G. psidii* ocorrem em uma faixa restrita e os valores são relativamente baixos. A faixa de temperatura favorável à germinação de conídios em frutos de goiaba 'Kumagai' foi entre 20 °C e 30 °C, com máxima germinação (45,6%) a 25 °C e 24 horas de molhamento. A formação de apressórios foi favorecida na

temperatura de 25 °C, apresentando média superior a 11,0% de apressórios formados com 24 horas de molhamento.

2.3 Material e Métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Pós-colheita do Departamento de Fitopatologia e Nematologia da ESALQ/USP.

Frutos de goiaba de polpa branca 'Kumagai' foram adquiridos na Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais do Estado de São Paulo (CEAGESP), provenientes de uma área com histórico de elevada incidência de pinta preta.

Inicialmente, os frutos foram submetidos a uma desinfestação superficial com hipoclorito de sódio 0,5 % durante 3 minutos, enxaguados em água corrente durante 3 minutos e, em seguida, permaneceram em temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) para secagem. Após a secagem, os frutos foram colocados em potes plásticos individuais com uma porção de algodão umedecido durante 6 e 24 horas e mantidos em câmaras de crescimento (Incubadora B.O.D, modelo EL 202) nas temperaturas ajustadas para 10, 15, 20, 25, 30 e 35 °C, $\pm 2^{\circ}\text{C}$, sob fotoperíodo de 12 horas (Figura 1).

Figura 1 - Goiabas 'Kumagai' submetidas à câmara úmida por diferentes períodos de molhamento, armazenadas no interior de câmaras de crescimento sob diferentes temperaturas

A partir do aparecimento de sintomas da doença nos frutos, a cada dois dias durante 10 dias, avaliaram-se os seguintes parâmetros: a incidência (porcentagem de frutos doentes), a severidade (diâmetro médio da lesão, em cm), a taxa de progresso (incremento da severidade, em mm/dia) e o período de incubação da

doença, definido como o período, em dias, necessário para o aparecimento de sintomas em 50% dos frutos do tratamento.

Os modelos exponencial e logístico foram ajustados aos dados de incidência em função do tempo (dias) por meio de regressões não lineares descritos pelas equações:

Exponencial:

$$y = b_1 \exp(b_2 \cdot x) \quad (1)$$

Logístico:

$$y = 1/(1+b_1 \cdot \exp(-b_2 \cdot x)) \quad (2)$$

Em que:

Y = incidência da pinta preta (proporção);

x = tempo (dias);

b_1 e b_2 = parâmetros do modelo.

A escolha do melhor modelo foi feita com base no coeficiente de determinação (R^2), obtido da regressão não linear entre os valores previstos (variável dependente) e observados (variável independente) (BERGAMIM FILHO, 2011).

As áreas abaixo das curvas de progresso da doença (AACPD) para cada temperatura foram calculadas por integração trapezoidal (BERGER, 1988). As curvas das áreas abaixo da curva da incidência, as severidades finais (diâmetro da lesão, em cm, 10 dias após o armazenamento) e as taxas de progresso da severidade da doença (mm/dia) em função das temperaturas foram analisadas por meio de um modelo beta generalizado descrito pela equação:

$$Y = (Y_{ot})[(T - T_{min})/(T_{ot} - T_{min})]^{b_1} (T_{ot} - T_{min}) / (T_{max} - T_{ot}) * [(T_{max} - T) / (T_{max} - T_{ot})]^{b_1}$$

Em que:

Y corresponde AACPD, severidade final (diâmetro da lesão, em cm) ou taxa de progresso da doença (mm/dia);

Y_{ot} corresponde à AACPD, severidade final e taxa de progresso na temperatura ótima;

T_{min} corresponde à temperatura mínima (°C);

T_{max} corresponde à temperatura máxima (°C);

T_{ot} corresponde à temperatura ótima (°C);

b_1 é parâmetro do modelo.

Os dados da severidade final em cada temperatura e período de molhamento avaliados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, constituído de 20 repetições (frutos), com doze tratamentos, totalizando 240 frutos por experimento. O experimento foi repetido uma vez.

2.4 Resultados

Os primeiros sintomas da pinta preta em goiabas foram observados dois dias após a incubação nas temperaturas de 25 e 30 °C e período de molhamento de 6 horas. O modelo logístico foi o que melhor se ajustou aos dados de incidência da pinta preta para a maioria das temperaturas, exceto para frutos armazenados a 20 °C e 6 horas de molhamento, cujo modelo que melhor se ajustou aos dados foi o exponencial (Figura 2 e Tabela 1). Para as temperaturas de 10, 15 e 35 °C nos dois períodos de molhamentos avaliados nenhum modelo se ajustou aos dados pela ausência ou baixa incidência da doença. A incidência de frutos doentes foi crescente com o aumento da temperatura alcançando 100% em frutos armazenados a 30 °C e 24 horas de molhamento, 10 dias após a incubação (Figura 2). Com 6 horas de molhamento, a incidência de frutos doentes alcançou 80,0% na temperatura de 30 °C. Após 10 dias de incubação a 15 °C, os frutos apresentaram incidências da doença de 0 e 6,3%, com 6 e 24 horas de molhamento, respectivamente.

As áreas abaixo das curvas de progresso da incidência da doença também foram crescentes com o aumento da temperatura até 30 °C e reduziu a 35 °C (Figura 3). De acordo com o modelo beta generalizado, a temperatura ótima de desenvolvimento da doença com período de molhamento de 6 horas foi de 31,8 °C, a mínima 9,99 °C e a máxima 35,0 °C; e para 24 horas de molhamento a temperatura ótima foi de 31,3 °C, a mínima 9,55 °C e a máxima 35,0 °C. Nas temperaturas ótimas para cada período de molhamento, as maiores áreas abaixo das curvas de progresso da doença estimadas pelo modelo, para 6 e 24 horas, foram de 461,00 e 661,83, respectivamente. Demais parâmetros do modelo beta generalizado podem ser observados na Tabela 2.

O período de incubação foi determinado somente para as temperaturas de 25 e 30 °C, sendo 7 e 6 dias, respectivamente, para ambos períodos de molhamento. Nas demais temperaturas, ao final do experimento, a incidência foi inferior a cinquenta por cento dos frutos com lesão característica da doença.

Figura 2 - Incidência de pinta preta (proporção) em goiabas 'Kumagai' armazenadas em diferentes temperaturas (◆- 10 °C, ▼- 15 °C, ● - 20 °C, ■ - 25 °C, ▲ - 30 °C e x - 35 °C) e períodos de molhamentos [6 horas (A) e 24 horas (B)], 10 dias após a incubação dos frutos nas diferentes temperaturas. Pontos representam a média de dois experimentos

Figura 3 - Área abaixo da curva de incidência de pinta preta (*Guignardia psidii*) em goiabas 'Kumagai' sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A; 24 horas – B), 10 dias após a incubação. Círculos preenchidos correspondem ao primeiro experimento e círculos vazios correspondem ao segundo experimento

Tabela 1 – Parâmetros, erros padrão, e coeficientes de determinação (R^2) das funções logística $y = 1/(1+b_1 \cdot \exp(-b_2 \cdot x))$ e exponencial $y = b_1 \exp(b_2 \cdot x)$, onde b_1 e b_2 são parâmetros do modelo e x é o tempo (dias), ajustadas aos dados de incidência de pinta preta em frutos de goiaba 'Kumagai' para as diferentes temperaturas em função do tempo de armazenamento. Dados referem-se à média de dois experimentos

Temperatura / Molhamento	Modelos	Parâmetros				
		b_1	Erro b_1	b_2	Erro b_2	R^2
20 °C / 6 horas	Exponencial	0,034	0,016	0,28	0,05	0,97
25 °C / 6 horas	Logístico	13,10	4,24	0,40	0,05	0,98
30 °C / 6 horas	Logístico	10,07	2,76	0,54	0,05	0,99
20 °C / 24 horas	Logístico	18,38	6,59	0,32	0,04	0,98
25 °C / 24 horas	Logístico	13,04	4,00	0,31	0,04	0,98
30 °C / 24 horas	Logístico	16,11	6,31	0,67	0,08	0,99

Tabela 2 – Parâmetros, erros padrão e coeficientes de determinação (R^2) da função beta generalizada $Y = (Y_{ot})[(T-T_{min})/(T_{ot}-T_{min})]^{b_1}[(T_{ot}-T_{min})/(T_{max}-T_{ot})]^{b_1}[(T_{max}-T)/(T_{max}-T_{ot})]^{b_1}$, onde Y corresponde à área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), Y_{ot} corresponde à AACPD na temperatura ótima, T_{min} corresponde à temperatura mínima (°C), T_{max} corresponde à temperatura máxima (°C), T_{ot} corresponde à temperatura ótima (°C) e b_1 é parâmetro do modelo, ajustada aos dados para as diferentes temperaturas e períodos de molhamento. Dados referem-se à média de dois experimentos

AACPD	Y_{ot}	T_{min}	T_{max}	T_{ot}	b_1	R^2
	(erro)	(erro)	(erro)	(erro)	(erro)	(erro)
6 horas de molhamento	441,0	9,9	35,0	31,9	0,37	0,99
	(-)	(2,45)	(0,47)	(8,6)	(1,25)	
24 horas de molhamento	661,8	9,5	35,0	31,3	0,33	0,97
	(-)	(1,3)	(0,49)	(1,68)	(0,69)	

Os frutos apresentaram sintomas característicos da doença em todas as temperaturas, exceto a 10 °C e a 35 °C. Diferentemente das estimativas do modelo, entre as temperaturas testadas, a mínima necessária para o desenvolvimento da doença foi de 15 °C e a máxima foi de 30 °C.

Entre as temperaturas avaliadas, a mais favorável à colonização de *Guignardia psidii* em goiabas 'Kumagai' foi de 30 °C, independentemente do período de molhamento (Figuras 4 e 5). De acordo com o modelo beta generalizado, para molhamento de 6 horas a temperatura ótima foi de 27,6 °C, a mínima 9,99 °C e a máxima 35,0 °C; e para 24 horas de molhamento a temperatura ótima foi de 28,9 °C, a mínima 9,99 °C e a máxima 35,0 °C. Nas temperaturas ótimas, as severidades máximas, representadas pelo diâmetro da lesão (cm), estimadas pelo modelo foram de 2,82 cm e 3,02 cm para 6 e 24 horas, respectivamente (Figura 4). Os demais parâmetros do modelo podem ser visualizados na Tabela 3.

Figura 4 - Severidade da pinta preta (diâmetro da lesão, em cm), em goiabas 'Kumagai' sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A; 24 horas – B), 10 dias após a incubação. Círculos preenchidos correspondem ao primeiro experimento e círculos vazios correspondem ao segundo experimento

Figura 5 - Goiabas 'Kumagai', naturalmente infectadas por *G. psidii*, 10 dias após a incubação, sob diferentes temperaturas (10 °C – A e G, 15 °C - B e H, 20 °C - C e I, 25 °C - D e J, 30 °C - E e K e 35 ° - F e L) e períodos de molhamento (6 horas de molhamento: A, B, C, D, E e F e 24 horas: G, H, I, J, K e L)

Tabela 3 – Parâmetros, erros padrão e coeficientes de determinação (R^2) da função beta generalizada $Y = (Y_{ot})[(T-T_{min})/(T_{ot}-T_{min})]^{b_1}(T_{ot}-T_{min})/(T_{max}-T_{ot}) * [(T_{max}-T)/(T_{max}-T_{ot})]^{b_1}$, onde Y corresponde à severidade final (diâmetro da lesão em cm), Y_{ot} corresponde à severidade na temperatura ótima, T_{min} corresponde à temperatura mínima (°C), T_{max} corresponde à temperatura máxima (°C), T_{ot} corresponde à temperatura ótima (°C) e b_1 é parâmetro do modelo, ajustada aos dados para as diferentes temperaturas e períodos de molhamento

Diâmetro (cm)	Y_{ot} (erro)	T_{min} (erro)	T_{max} (erro)	T_{ot} (erro)	b_1 (erro)	R^2 (erro)
6 horas de molhamento	2,82	9,9	35,0	27,6	0,93	0,94
	(-)	(0,71)	(0,47)	(5,86)	(1,67)	
24 horas de molhamento	3,02	9,9	35,0	28,9	0,75	0,97
	(-)	(3,2)	(0,99)	(2,68)	(0,89)	

O aumento da duração do período de molhamento não influenciou significativamente o tamanho das lesões. Com 6 e 24 horas de molhamento, as severidades a 25 e 30 °C foram máximas e estatisticamente iguais; a 20 °C a severidade foi significativamente menor que a 25 e 30 °C. Frutos armazenados a 15 °C apresentaram diâmetros de lesões significativamente menores em relação a frutos armazenados a 20, 25 e 30 °C pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4 - Severidade (cm) da pinta preta em função da temperatura e da duração do molhamento, em goiabas 'Kumagai', após 10 dias de incubação. Média de dois experimentos

Molhamento (horas)	Temperatura (°C)					
	10	15	20	25	30	35
6	0 aA*	0,6 bB	1,56 cC	2,50 dD	2,66 dD	0 aA
24	0 aA	0,6 bB	1,95 cC	2,60 dD	2,68 dD	0 aA

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e de mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si segundo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Em geral, a taxa de progresso da doença, em mm/dia, representada pelo coeficiente de regressão linear obtido a partir dos dados de progresso da severidade em função do tempo, foi crescente com o aumento da temperatura até 30 °C, independentemente do período de molhamento utilizado (Figura 6). A taxa de progresso máxima foi de 6,9 e 7,0 mm para períodos de molhamento de 6 e 24 horas, respectivamente observadas em frutos armazenados a 30 °C.

Figura 6 - Taxas de progresso das lesões (mm/dia) de pinta preta em goiabas 'Kumagai' armazenadas sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A; 24 horas – B). Círculos preenchidos correspondem ao primeiro experimento e círculos vazios correspondem ao segundo experimento

De acordo com o modelo beta generalizado, para molhamento de 6 horas a temperatura ótima para o desenvolvimento da doença foi de 29,8 °C, a mínima foi de 9,94 °C e a máxima foi de 35,0 °C; e para 24 horas de molhamento a temperatura

ótima foi de 29,5 °C, a mínima foi de 9,99 °C e a máxima foi de 35,0 °C. Nas temperaturas ótimas para cada período de molhamento, as taxas de progresso da doença máximas estimadas pelo modelo foram de 6,5 mm/dia e 6,9 mm/dia para 6 e 24 horas, respectivamente. Os demais parâmetros do modelo beta generalizado podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5 – Parâmetros, erros padrão e coeficientes de determinação (R^2) da função beta generalizada $Y = (Y_{ot})[(T-T_{min})/(T_{ot}-T_{min})]^{b_1}(T_{ot}-T_{min})/(T_{max}-T_{ot})*[(T_{max}-T)/(T_{max}-T_{ot})]^{b_1}$, onde Y corresponde à taxa de progresso da doença (mm/dia), Y_{ot} corresponde à taxa de progresso na temperatura ótima, T_{min} corresponde à temperatura mínima (°C), T_{max} corresponde à temperatura máxima (°C), T_{ot} corresponde à temperatura ótima (°C) e b_1 é parâmetro do modelo, ajustada aos dados para as diferentes temperaturas e períodos de molhamento

Diâmetro (cm)	Y_{ot} (erro)	T_{min} (erro)	T_{max} (erro)	T_{ot} (erro)	b_1 (erro)	R^2 (erro)
6 horas de molhamento	0,65	9,94	35,0	29,8	0,30	0,97
	(-)	(0,21)	(0,87)	(4,73)	(1,23)	
24 horas de molhamento	0,69	9,99	35,0	29,5	0,38	0,96
	(-)	(0,26)	(0,89)	(4,58)	(1,69)	

2.5 Discussão

A temperatura influenciou significativamente as variáveis analisadas no patossistema goiaba-*Guignardia psidii*, sendo a temperatura de 30°C a mais favorável entre as temperaturas testadas. Estudos sobre a pré-penetração e infecção em goiaba, em condições controladas utilizando a microscopia eletrônica mostraram que a faixa de temperatura mais favorável à germinação de *Guignardia psidii* in vivo foi de 25°C a 30°C e 24 horas de molhamento (ESCANFERLA, 2007).

Após três dias de armazenamento, Amaral e colaboradores (2006) relataram que a máxima incidência de frutos de goiaba 'Kumagai' com pinta preta ocorreu no mês de abril de 2005, em Campinas, SP. Nessa região, o mês de abril é um mês de temperaturas relativamente altas variando entre 17,6 e 28,5 °C, com máximas de 34,1 °C e precipitação média de 58,6 mm, condições ambientais favoráveis à doença (CEPAGRI, 2012).

Ainda relatando a influência da temperatura no patossistema, para Rotem (1978), os limites máximo e mínimo de temperaturas favoráveis não erradicam o patógeno, mas apenas inibem o desenvolvimento das epidemias, a menos que esses valores persistam por períodos prolongados.

No presente estudo observou-se uma grande variabilidade nos dados de severidade para cada temperatura avaliada. Isso provavelmente ocorreu devido ao fruto ter sido infectado naturalmente no campo. Com isso, o tempo necessário para a expressão dos sintomas foi diferente para cada fruto. Ao mesmo tempo em que frutos apresentavam lesões há alguns dias, em outros as lesões estavam se iniciando.

Considerando o período de molhamento, o maior requisito pode ser devido à necessidade do patógeno de debilitar o tecido invadido, por meio de agentes tóxicos ou enzimáticos e é possível que essa exigência seja mais comum em espécies patogênicas fracas, como é o caso de espécies do gênero *Alternaria* (ROTEM, 1994). Um estudo realizado por Spotts (1977), envolvendo o patossistema uva-*G. bidwellii* mostrou que dependendo da temperatura, o patógeno requer um período de molhamento diferente para infecção: a 10,0 °C foram necessárias 24 horas de molhamento, a 32,0 °C foram necessárias 12 horas e a 26,5 °C, 6 horas apenas.

Os frutos utilizados neste estudo já estavam previamente infectados, alguns ainda na forma de apressório outros em fase de pré-penetração. Portanto, uma vez que o patógeno já estava em contato com a epiderme do fruto, não se fez necessário o molhamento para continuação do processo de infecção.

O entendimento dessas interações envolvendo o patógeno, o hospedeiro e o ambiente é muito importante para estabelecer medidas de controle adequadas levando-se em consideração o local e a época do ano que a planta está exposta a condições favoráveis. A partir desse experimento foi possível observar a ausência de sintomas na temperatura de 10 °C por um período de 10 dias, podendo ser considerada uma medida de controle da doença em pós-colheita. A refrigeração associada a outros métodos de controle pode estender ainda mais a vida útil do fruto. Além disso, esse método de armazenamento pode ser utilizado no transporte de frutos para exportação garantindo a qualidade do fruto até chegar ao seu destino.

2.6 Conclusões

A temperatura ótima para o desenvolvimento da pinta preta goiabas 'Kumagai' é de 30 °C.

Temperaturas de 10 °C e 35 °C inibem o desenvolvimento de *Guignardia psidii* em goiabas "Kumagai" durante pelo menos dez dias de armazenamento.

Referências

- ADIKARAM, N.K.B.; BROWN, A.E.; SWINBURNE, T.R. Phytoalexin involvement in latente infection of *Capsicum annuum* L. fruit by *Glomerella cingulata* (Stoenem.). **Physiological Plant Pathology**, London, v. 21, p. 161-170, 1982.
- AMARAL, C.S.; SALVAIA, A.; ANGELI, S.S.; MARTINS, M.C.; LOURENÇO, S.A.; AMORIM, L. Incidência de patógenos pós-colheita em goiabas Kumagai. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, p. 57-58, 2006. Suplemento. Apresentado no CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 2006, Botucatu.
- ANDRIGUETO, J.R.; NASSER LCB; TEIXEIRA JMA. Avanços da produção integrada no Brasil. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PRODUÇÃO INTEGRADA DE FRUTAS, 2006, Vitória. **Anais...** Vitória: INCAPER, 2006. p. 13-17.
- BARKAI-GOLAN, R. **Postharvest diseases of fruits and vegetables**: development and control. Amsterdam: Elsevier Science, 2001. 418 p.
- BEDENDO, I; AMORIM, L. Ambiente e doença. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.). **Manual de fitopatologia**: princípios e conceitos. 4. ed. São Paulo: Ceres, 2011. v. 1, p. 133-147.
- BERGAMIN FILHO, A. Curvas de progresso da doença. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. (Eds.). **Manual de fitopatologia**: princípios e conceitos. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011. v. 1, p. 647-666.
- BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Doenças pós-colheita em goiaba. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PÓS-COLHEITA DE FRUTAS, HORTALIÇAS E FLORES, 2., 2007, Viçosa. **Palestras e resumos...** Viçosa: Editora UFV, 2007. v. 1, p. 203.
- BERGER, R.D. The analysis of the effects of control measures on the development of epidemics. In: KRANZ, J.; ROTEM, J. (Ed.). **Experimental techniques in plant disease epidemiology**. Heidelberg. Springer-Verlag, 1988. p. 137-151.
- CARVALHO, V.D. Qualidade e conservação pós-colheita de goiabas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 179, p. 48-54, 1994.
- CENTRO DE PESQUISAS METEOROLÓGICAS E CLIMÁTICAS APLICADAS À AGRICULTURA. **Clima de Campinas**. Disponível em: <<http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima-de-campinas.html>>. Acesso em: 03 abr. 2012.
- CHOUDHRY, M.M.; COSTA, T.S. da; ARAÚJO, J.L.P. Agronegócio da goiaba. In: CHOUDHRY, M.M. (Ed.). **Goiaba**: pós-colheita. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2001. cap. 1, p. 9-15. (Frutas do Brasil, 19).
- COLHOUN, J. Effects of environment factors on plant disease. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 11, p. 343-364, 1973.

ESCANFERLA, M.E. **Pré-penetração de *Guignardia psidii* em goiaba: influência da temperatura, duração do molhamento, idade dos frutos e concentração de etileno e dióxido de carbono**. 2007. 85 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

FISCHER, I.H.; ALMEIDA, A.M.; ARRUDA, M.C.; BERTANI, R.M.A.; GARCIA, M.J.M.; AMORIM, L. Danos em pós-colheita de goiabas na Região do Centro-Oeste Paulista. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 3, p. 570-576, 2011.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO Goiaba. In: _____. **Agrianual 2012**: anuário da agricultura brasileira. São Paulo, 2012. p. 310.

GONGATTI NETTO, A.; GARCIA, A.E.; ARDITO, E.F.G. **Goiaba para exportação**: procedimentos de colheita e pós-colheita. Brasília: EMBRAPA, SPI, 1996. 35 p.

GONZÁLEZ, M.S.; RONDÓN, A. First report of *Guignardia psidii*, an ascigerous state of *Phyllosticta psidiicola*, causing fruit rot on guava in Venezuela. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 89, p. 773, 2005.

GUEDES, M.S.B.; SENA, M.; TOLEDO, S. **Certificação como estratégia competitiva internacional dos produtores de frutas no Brasil. VII Encontro da Sociedade Brasileira de Economia Ecológica (ECO-ECO)**, nov. 2007. Fortaleza, Ceará. Disponível em: http://www.ecoeco.org.br/conteudo/publicacoes/encontros/vii_en/mesa3/trabalhos/certificacao_como_estrategia_competitiva.pdf. Acesso em: 21 mar. 2012.

GUTIERREZ, A.S.D.; WATANABE, H.; SCHMIDT, M. A goiaba em números. **Frutas e Legumes**, v. 2, p. 18-21, 2002. Disponível em: <http://www.hortibrasil.org.br/goiaba.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2007.

HAWKSWORTH, D.L.; DAVID, J.C. Proposals in fungi *Guignardia* Viala & Ravaz with *G. bidwellii* (Ellis) Viala & Ravaz as conserved type (fungi). **Taxon**, Utrecht, v. 38, p. 494-495, 1989.

INDEXFUNGORUM. Disponível em: <http://www.indexfungorum.org/Names/genusrecord.asp?recordid=2147>. Acesso em: 11 mar. 2012.

JUNQUEIRA, N.T.V.; ANDRADE, L.R.M.; PEREIRA, M.; LIMA, M.M.; CHAVES, R.C. **Doenças da goiabeira no cerrado**. Planaltina: Embrapa, SPI, 2001. 31 p. (Circular Técnica, 15). Disponível em: http://www.acagea.org/emanuelmaia2/frut2/goiaba/cirtec_15.pdf. Acesso em: 09 abr. 2012.

LIN, C.C.; LAI, C.S.; TSAI, S.F. Ecological survey of guava new fruit rot – *Phyllosticta* rot (black spot) and other fruit rots. **Plant Protection Bulletin**, Rome, v. 45, p. 263-270, 2003.

MANICA, I.; ICUMA, I.M.; JUNQUEIRA, N.T.V.; SALVADOR, J.O.; MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E. **Fruticultura tropical 6. Goiaba**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2000. 374 p.

_____. **Goiaba do plantio ao consumidor**: tecnologia de produção, pós-colheita, comercialização. Porto Alegre: Cinco Continentes. 2001. 124 p.

MENDONÇA, R.D.; FERREIRA, K.S.; SOUZA, L.M.; MARINHO, C.S.; TEIXEIRA, S.L. Características físicas e químicas de goiabas 'Cortibel 1' e 'Cortibel 4' armazenadas em condições ambientais. **Bragantia**, Campinas, v. 66, p. 685-692, 2007.

MIZUBUTI, E.S.G.; MAFFIA, L.A.; COSTA, M.H. Doenças de plantas e o clima. In: _____. **Tópicos em meio ambiente e ciências atmosféricas**: utilização de recursos multimídias para o ensino médio e fundamental. 2006. Disponível em: <http://mtc-m15.sid.inpe.br/col/sid.inpe.br/iris%401915/2005/11.08.12.46/doc/04_Doem%e7as_d_e_plantas_e_o_clima.pdf>. Acesso em: 23 maio 2012.

MYCOBANK – Fungal Databases Nomenclature and Species Banks. Disponível em: <http://www.mycobank.org/Biolomics.aspx?Table=Mycobank&MycoBankNr_=303528>. Acesso em: 05 maio 2012

ROTEM, J. Climate and weather influence on epidemics. In: HORSFALL, J.G.; DIMOND, A.E. **Plant disease**: how disease develops in populations. New York: Academic, 1978. p. 317-436.

_____. **The genus *Alternaria***: biology, epidemiology and pathogenicity. Saint Paul: APS Press, 1994. 326 p.

SIGRIST, J.M.M. Perdas pós-colheita de frutas e hortaliças. In: CEREDA, M.P.; SANCHES, L. **Manual de armazenamento e embalagem-produtos agropecuários**. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1983. p. 1-12.

SPOTTS, R.A. Effect of leaf wetness duration and temperature on the infectivity of *Guignardia bidwellii* on grape leaves. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 67, p. 1378-1381, 1977.

SUTTON, B.C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: BAILEY, J.A.; JEGER, M.J. **Colletotrichum**: biology, pathology and control. Wallingford: CAB International, 1992. p. 1-26.

SUTTON, J.C. Predictive value of weather variables in the epidemiology and management of foliar diseases. **Fitopatologia Brasileira**, v. 13, n. 4, p. 305-312, 1988.

TOZETTO, L.J.; RIBEIRO, W.R.C. Ocorrência de podridão em frutos de goiabeira (*Psidium guajava* L.), causada por *Phyllosticta* sp., em Brasília DF. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 160, 1993. Abstract.

_____. Tratamento pós-colheita de goiaba (*Psidium guajava* L.) contra podridão de *Guignardia psidii*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 20, p.229-234, 1998.

ULLASA, B.A.; RAWAL, R.D. *Guignardia* fruit rot of guava: a new disease from Bangalore. **Current Science**, Bangalore, v. 53, p. 435-436, 1984.

VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, L. Influência da temperatura e da umidade nas epidemias de doenças de plantas. In: LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.C.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. (Ed.). **Revisão anual de patologia de plantas**. Passo Fundo: Embrapa, CNPT, 1996. v. 4, p. 149-207.

WATANABE, H.S.; TOTH, P.M. **Genealogias das variedades de goiaba**. 2005.

Disponível em:

<<http://www.todafruta.com.br/portal/icNoticiaAberta.asp?idNoticia=10728>>. Acesso em: 20 mar. 2012.

3 INCIDÊNCIAS DE DOENÇAS PÓS-COLHEITA EM GOIABAS 'Kumagai' NOS MERCADOS ATACADISTAS: CEASA (CAMPINAS, SP) E CEAGESP (SÃO PAULO, SP)

Resumo

O período após a colheita, que se estende da colheita até o consumo do produto é caracterizado por alterações fisiológicas nos frutos que favorecem a ocorrência de doenças pós-colheita. Muitas vezes, os sintomas de doenças somente serão observados após a comercialização, subestimando os danos resultantes da ação de patógenos quiescentes. O objetivo deste estudo foi quantificar as incidências das doenças pós-colheita em frutos de goiaba 'Kumagai' comercializados nos mercados atacadistas CEASA (Campinas, SP) e CEAGESP (São Paulo, SP). As coletas foram realizadas quinzenalmente, de novembro a abril dos anos 2009/2010 e 2010/2011, em um permissionário na CEASA e em três permissionários na CEAGESP com maior volume de comercialização de goiabas de polpa branca. Cada coleta foi representada por quatro caixas contendo de 11 a 13 frutos no ponto de colheita. As caixas contendo os frutos foram armazenadas a 25 °C e submetidas à câmara úmida por 24 horas. A incidência das doenças foi avaliada a cada dois dias, durante 10 dias, a partir do aparecimento dos primeiros sintomas. A incidência das principais doenças pós-colheita da goiaba em função do período de armazenamento (dias) foi determinada por regressão não linear utilizando o modelo exponencial. Os dados de incidência média no período avaliado e a incidência mensal das doenças foram comparados por meio de testes não paramétricos. Os primeiros sintomas de doenças foram observados nos frutos a partir de dois dias de incubação. As principais doenças pós-colheita observadas foram: antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* e *C. acutatum*), pinta preta (*Guignardia psidii*) e podridão de *Fusicoccum* (*Fusicoccum* sp.) As incidências médias das doenças 10 dias após incubação não diferiram entre si, tanto na CEASA quanto na CEAGESP. Na CEASA as médias das principais doenças variaram entre 23,6 e 31,6% e na CEAGESP entre 23,8 e 29,7%. Considerando a média dos dois anos de experimento, a máxima incidência da antracnose foi de 57,6% registrada no mês de abril na CEASA; a da pinta preta foi de 46,1% registrada no mês de fevereiro na CEASA e a da podridão de *Fusicoccum* foi de 41,9% registrada no mês de janeiro na CEAGESP.

Palavras-chave: Antracnose; Pinta preta; Podridão de *Fusicoccum*

Abstract

The time after harvest, which extends from the harvest until consumption of the product is characterized by physiological changes in the fruit which favor the occurrence of postharvest diseases. Often, the symptoms of disease will only be seen after sale, underestimating the damage resulting from the action of quiescent pathogens. The aim of this study was to quantify the post-harvest diseases in fruits of 'Kumagai' guava obtained from wholesale markets of CEASA (Campinas, SP) and CEAGESP (São Paulo, SP). Samples were collected fortnightly, from November to April of the years 2009/2010 and 2010/2011. The samplings were made in one CEASA tenant and three CEAGESP tenants, with greater trading volume of white guava. The samples were represented by four boxes containing 11-13 guavas at

harvest point. The fruits were submitted to a moist chamber for 24 hours at 25 °C. The disease incidence was assessed every two days from the onset of symptoms for 10 days. The incidence of main postharvest guava diseases in relation to the incubation period (days) was determined by nonlinear regression using the exponential model. The average disease incidence of the evaluated period and the monthly disease incidences were compared using non-parametric tests. First symptoms of diseases were observed within two days of incubation. The main post-harvest diseases were: anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* and *C. acutatum*), black spot (*Guignardia psidii*) and fusicocum rot (*Fusicoccum* sp.). Their average incidences, 10 days after incubation, did not differ, in both wholesale markets. At CEASA disease incidence means ranged between 23.6 and 31.6% and at CEAGESP the disease incidence means ranged between 23.8 and 29.7%. Considering the average of two years of experiment, the highest incidence of anthracnose was 57.6% recorded in April in CEAGESP. For black spot, the highest incidence was 46.1% recorded in February. For fusicocum rot the highest incidence was 41.9% recorded in January.

Keywords: Anthracnose; Black spot; Fusicocum rot; Guava

3.1 Introdução

O cultivo da goiaba é de alta rentabilidade, com grande possibilidade de expansão no país. Adicionalmente, o fruto tem um elevado grau de aceitação nos mercados interno e externo. Além do consumo *in natura*, o uso da goiaba como matéria-prima na indústria brasileira de conservas é expressivo, permitindo várias formas de aproveitamento. A principal demanda é por polpa de goiaba congelada, tanto para produção de sucos como para a produção de sorvete, doces e geleias (WESTPHALEN, 2007).

A goiaba é um fruto altamente perecível e, portanto, está mais sujeito a danos mecânicos, fisiológicos e patogênicos. Esses danos podem ocorrer tanto durante a colheita quanto nas etapas posteriores como casas de embalagem, transporte, mercados atacadista, varejista e pelo próprio consumidor (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Os danos observados em produtos agrícolas após a colheita estão entre os maiores gargalos para produtores e comerciantes, por poderem resultar em perdas financeiras, redução no valor comercial para o produtor, aumento nos gastos com controle no campo e menor oferta do produto (WATANABE, 2011).

Estimativas de danos pós-colheita em frutíferas variam de 10 a 50%, em função do produto, da região produtora e da tecnologia empregada na produção (BENATO; CIA; SOUZA, 2001; AMORIM et al., 2008; FISCHER et al., 2008).

Segundo Sigrist (1983), a vida média de prateleira da goiaba é de uma a duas semanas, de acordo com a variedade e as condições de armazenamento, e os danos pós-colheita são estimados entre 20 a 40%.

Em um levantamento de doenças pós-colheita na CEAGESP, São Paulo, nas safras de 2005 e 2006, 63% das goiabas apresentaram injúrias mecânicas e somente 5,5% dos frutos mostraram sintomas após a colheita (MARTINS et al., 2007). Essa baixa correlação se deve ao fato da avaliação ter sido realizada em frutos ainda verdes e apesar de os ferimentos serem porta de entrada para patógenos típicos, estes ocorrem em menor porcentagem nos frutos imaturos. No entanto, durante o amadurecimento dos frutos é possível observar o aparecimento de doenças quiescentes.

As doenças pós-colheita podem ser classificadas em típicas e quiescentes. As típicas são ocasionadas por patógenos que infectam os frutos após a colheita. Já as infecções quiescentes são causadas por patógenos que infectam frutos imaturos antes da colheita. Frutos com infecções quiescentes permanecem assintomáticos até a maturação, quando ocorrem mudanças estruturais e fisiológicas nos frutos que desencadeiam o surgimento da doença (BARKAI-GOLAN, 2001).

Espécies de *Colletotrichum* e *Guignardia* são exemplos de patógenos que pertencem ao grupo das doenças quiescentes. *Rhizopus* sp. e *Pestalotiopsis* sp. são exemplos de patógenos típicos (BARKAI-GOLAN, 2001).

Como o intervalo entre a colheita e o consumo tem que ser curto devido à perecibilidade do fruto, não se sabe com exatidão a real porcentagem de danos representada pelas doenças pós-colheita considerando que os frutos são colhidos verdes e muitas vezes só irão apresentar sintomas de doenças quando chegar ao consumidor. Estas informações podem auxiliar no controle das doenças tanto no campo quanto após a colheita.

Assim, este estudo objetivou quantificar as incidências das doenças pós-colheita em goiabas 'Kumagai' nos principais mercados atacadistas do Estado de São Paulo: CEASA localizado em Campinas, SP e CEAGESP localizado em São Paulo, SP.

3.2 Revisão Bibliográfica

3.2.1 Principais doenças da goiabeira

Existem aproximadamente 177 patógenos que são reportados em várias partes da planta de goiabeira, dos quais 167 são fungos, três são bactérias, três algas, três são nematóides e um tem hábito epífito. Por volta de 91 patógenos afetam os frutos, 42 afetam as folhas, 18 afetam o ramo e 18 as raízes. Estes patógenos causam diferentes doenças, pré e pós-colheita (MISRA, 2004).

As principais doenças pós-colheita em goiabas são a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* e *C. acutatum*), a pinta preta (*Guignardia psidii*) e a podridão de Fusicocum (*Fusicoccum* sp.) e pertencem ao grupo das quiescentes. Patógenos típicos como *Rhizopus* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Phomopsis* sp., *Aspergillus* sp., e *Fusarium* sp., podem ocorrer, porém em menor frequência (BARKAI-GOLAN, 2001; MARTINS et al., 2007; NATALE et al., 2009).

A antracnose tem como sintoma característico manchas necróticas pequenas, deprimidas, encharcadas e de coloração marrom clara na superfície dos frutos. Com a evolução dos sintomas, as manchas ficam mais deprimidas e crescem, chegando a 2,5 cm de diâmetro, podendo ficar com formato irregular devido à coalescência das lesões. Sob condições de alta umidade, uma massa alaranjada de esporos desenvolve-se no centro das lesões (PEREIRA; MARTINEZ JÚNIOR, 1986; PICCININ; PASCHOLATI; DI PIERO, 2005). *Colletotrichum gloeosporioides* foi considerado o único agente causal da doença até 1993 (PANDEY, 1988). Entretanto, isolados de *C. acutatum* também foram identificados em frutos com sintoma de antracnose na Índia em 1993 (DAS; MUKTA; BORA, 1993) e em 2000, no Brasil (PERES et al., 2002). A temperatura ótima para o desenvolvimento da doença é de 25 °C e molhamentos a partir de 6 horas são suficientes para iniciar o processo infeccioso (SOARES, 2008).

A pinta preta da goiabeira (*Guignardia psidii*) foi constatada pela primeira vez no Brasil por Tozzeto e Ribeiro (1993) provocando a podridão de frutos de goiabeira em pós-colheita no Distrito Federal. Os sintomas são caracterizados, inicialmente, por pequenos pontos amarelados que evoluem rapidamente na superfície dos frutos, formando lesões deprimidas, escuras, circulares, podendo atingir até 2,5 cm em diâmetro e coalescer. Sobre essas lesões emergem frutificações do tipo picnídios. Temperaturas entre 25 e 30 °C favorecem a germinação e formação de apressórios em frutos de goiabeira (ESCANFERLA, 2007).

A podridão de fusicoccum (*Fusicoccum sp.*) foi registrada pela primeira vez no Brasil no verão de 1978 em culturas de goiabeira localizadas em Itaguaí, RJ, afetando tronco, galhos e frutos. Nas áreas necrosadas do tronco observaram peritécios de *Botryosphaeria dothidea* (Moug. Ex Fr.) Ces. & de Not (= *B. ribis* Gross & Dug) e, mais raramente, picnídios de sua forma imperfeita (*Dothiorella*). Entretanto, os trabalhos taxonômicos atuais consideram tanto a espécie *Fusicoccum aesculi* como o anamorfo *Botryosphaeria dothidae* (CROUS et al., 2006). Os frutos na fase de pré-maturação localizados nos galhos afetados apodrecem e caem. Frutos com maturação intermediária a maduros apresentam na zona apical uma lesão de cor marrom. Inicialmente, a lesão é uma mancha de 0,5 cm de diâmetro que avança até cobrir toda a zona apical e em estádios mais avançados, o micélio chega a cobrir todo o fruto. Nesse caso, na superfície se observa um micélio de cor cinza escuro e a presença de estruturas globosas de cor negra (picnídios) em abundância (SLIPPERS; WINGFIELD, 2007). Isolamento em meio batata-dextrose-água, a partir de esporos das formas sexuada e assexuada do fungo, origina colônias inicialmente branco-cotonosas, passando a cinza e finalmente, ao negro, exibindo apenas picnídios (ROBBS; ALMEIDA; PIMENTEL, 1980).

Outros fungos menos importantes pós-colheita como *Pestalotiopsis psidii*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Phoma*, *Phomopsis*, *Phytophthora*, *Penicillium sp.* já foram relatados por Snowden (1990), porém ocorrem em frequência baixa nos frutos.

3.2.2 Mercados atacadistas do Estado de São Paulo

A Central de Abastecimento de Campinas S.A. (CEASA, Campinas/SP) e a Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP, São Paulo/SP) são os principais mercados atacadistas que comercializam goiabas no Estado de São Paulo.

O mercado de frutas e hortaliças da Ceasa-Campinas movimenta 56 mil toneladas de frutas, verduras e legumes por mês distribuídos 964 atacadistas (permissionários). O entreposto comercializa frutas e hortaliças tradicionais e exóticas praticamente o ano todo, tendo fornecedores de vários estados e países totalizando mais de 700 localidades (CEASA, 2012a). A CEASA-Campinas abastece mais de 500 municípios e é considerado o 4º entreposto do Brasil e o 2º do Estado de São Paulo (CEASA, 2012b).

Na CEAGESP são comercializadas, por dia, 12.000 toneladas em produtos de origem vegetal, correspondente a 12% da produção nacional e 26% do volume comercializado pelas CEASAS do Brasil gerando uma renda de 7 milhões de reais por dia. É considerado o maior mercado da América Latina e o 3º do mundo em vendas no atacado (WATANABE, 2011).

Do volume comercializado na CEAGESP, 56,1% é destinado à região metropolitana de São Paulo, 22,4% para outros Estados, 20,4% para o interior paulista e 0,6% para outros países.

Em 2010, a goiaba foi a 21ª fruta mais vendida com um percentual de 0,66% no total de frutas vendidas, o que corresponde a 10.971,62 toneladas. No mesmo ano de 2010, o mercado de goiabas arrecadou, aproximadamente, 24,3 milhões de reais. Em relação à goiaba branca, 1436 toneladas foram comercializadas em 2010. Os meses de maior oferta desta fruta são janeiro, fevereiro e março. Os municípios que mais enviam goiabas para venda são: Valinhos, SP (73,35%) e Campinas, SP (21,22%). Do total de 44 atacadistas de goiaba branca, 11 comercializam 90% do volume total (WATANABE, 2011).

Segundo os atacadistas, os principais problemas na comercialização são a falta de padronização de maturação dos frutos, a constante incidência de pragas e doenças, a falta de classificação dos frutos, o uso de embalagens de baixa qualidade, o transporte e descarga inadequados (WATANABE, 2009).

As variedades de goiaba mais comercializadas são: Kumagai, Pedro Sato, Sassaoka, Cascuda de Pariquera-Açu, Paluma e Chinesa, com predominância da Kumagai de polpa branca e Pedro Sato de polpa vermelha (WATANABE, 2009).

Ao contrário de algumas frutas como abacaxi e os citros, as curvas de preço e oferta da goiaba demonstram que a demanda parece não ser muito influenciada pelo clima, ou seja, não há um grande aumento de procura nos dias quentes, nem uma significativa diminuição nos dias mais frios (NATALE et al., 2009).

3.2.3 Importância da qualidade na comercialização

As goiabas, como qualquer outro produto fresco, quando vendidas para o mercado *in natura*, não podem ser consideradas uma *commodity*. A definição de *commodity*, segundo o dicionário Houaiss da língua portuguesa é “*qualquer bem em estado bruto, de origem agropecuária ou de extração mineral ou vegetal, produzido em larga escala mundial e com características físicas homogêneas, seja qual for sua*”

origem, destinado ao comércio externo". Portanto, as frutas e hortaliças, pela grande variação das suas características qualitativas, diferentes tipos de sistemas de produção, não podem ser consideradas uma *commodity*. Por esse motivo, a formação do seu valor de comercialização não pode ser explicada única e exclusivamente pela oferta e demanda. A qualidade da fruta é um fator de grande importância e é na sua diferenciação que se encontram as oportunidades de se obter preços maiores (NATALE et al., 2009).

No caso da goiaba, os fatores que determinam sua qualidade, segundo os agentes de comercialização da CEAGESP, são a variedade, o estágio de maturação, a coloração, o formato, o calibre, a sanidade e a conservação pós-colheita (WATANABE, 2011).

As melhores frutas são adquiridas por frutarias, quitandas e feiras. Nestes locais, os vendedores por estarem em contato com o consumidor e conhecer o produto, conseguem convencer o cliente através da abordagem, degustação, entre outras técnicas. Outros compradores como grandes varejões e supermercados têm como estratégia para atrair o cliente o baixo preço. Como consequência, é de se esperar que a qualidade do produto seja compatível com o seu preço (NATALE et al., 2009).

Apesar do grande volume comercializado de produtos de qualidade inferior, existe uma tendência entre os fruticultores de oferecer um produto de melhor qualidade para consumidores mais exigentes, garantindo um maior retorno financeiro. Um exemplo dessa tendência são as goiabas com proteção individual utilizadas para exportação (KUMAGAI² comunicação pessoal).

Além disso, a Produção Integrada de Frutas (PIF) tem auxiliado os produtores a se adequarem a essa nova tendência, pois com a certificação da propriedade, o produtor tem a garantia que sua fruta foi produzida de forma sustentável. A produção integrada pressupõe o emprego de tecnologias que permitam o controle efetivo do sistema produtivo agropecuário através do monitoramento de todas as etapas, desde a aquisição dos insumos até a oferta ao produtor, assegurando a rastreabilidade em todos os elos da cadeia produtiva.

² KUMAGAI, R. Produtor rural – Campinas, SP.

3.3 Material e Métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Pós-colheita do Departamento de Fitopatologia e Nematologia da ESALQ/USP.

Coletas quinzenais foram realizadas de novembro a abril dos anos 2009/2010 e 2010/2011, em um permissionário na CEASA e em três permissionários com maior volume de comercialização de goiabas de polpa branca na CEAGESP. Cada coleta foi representada por quatro caixas de goiaba contendo entre 11 e 13 frutos cada, no estágio 2 (cor da casca mudando da cor verde-escuro para verde-claro), correspondente ao ângulo de cor em torno de 117 °h (CAVALINI, 2004), determinada em colorímetro Minolta modelo CR-400.

No laboratório, os frutos foram mantidos nas próprias caixas de onde vieram do mercado atacadista, numerados e identificados segundo a procedência, o calibre e a variedade. Em seguida, as caixas foram envolvidas em sacos plásticos umedecidos contendo uma porção de algodão úmido entre os frutos para simular câmara úmida. Em seguida, as caixas foram armazenadas a 25 °C, sob câmara úmida por 24 horas, combinação favorável à ocorrência das principais doenças estudadas (Figura 7). Decorridas as 24 horas, retirou-se a câmara úmida, permanecendo os frutos a 25 °C até o final do experimento.

Figura 7 - Goiabas provenientes da CEASA, Campinas, SP e da CEAGESP, São Paulo, SP armazenadas a 25 °C, no Laboratório de Pós-colheita do Departamento de Fitopatologia e Nematologia da ESALQ/USP

Avaliou-se a incidência de doenças a cada dois dias a partir do aparecimento dos primeiros sintomas durante 10 dias, totalizando 5 avaliações.

As incidências da antracnose, da pinta preta e da podridão de *Fusicocum* em função do período de armazenamento (dias) foram determinadas por regressão não linear utilizando o modelo exponencial, descrito pela equação:

$$y = b_1 \exp(b_2 \cdot x)$$

Onde:

Y corresponde à incidência das doenças (%)

x corresponde ao tempo (dias),

b_1 e b_2 correspondem a parâmetros do modelo

A incidência média do período avaliado e a incidência mensal das doenças foi comparada por meio de teste não paramétricos de comparação de múltiplas proporções, ao nível de 5% de probabilidade (ZAR, 1999). Sempre que significativo, as proporções foram comparadas após as seguintes transformações:

$$Pi = X/(n+1), Pi' = (X+1)/(n+1), \text{ e } Pi'' = 1/2 (\text{asen}\sqrt{Pi} + \text{asen}\sqrt{Pi'})$$

Onde:

X = número de frutos totais de cada proporção;

n = número de frutos doentes de cada proporção;

Pi = proporção transformada, de acordo com Zar (1999).

3.4 Resultados

As incidências de doenças pós-colheita em goiabas 'Kumagai' foram semelhantes na CEASA e na CEAGESP. As principais doenças pós-colheita observadas foram: a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* e *C. acutatum*), a pinta preta (*Guignardia psidii*) e a podridão de *Fusicocum* (*Fusicoccum* sp.). Em menor incidência foram constatadas as podridões de pestalotia (*Pestalotia* sp.), de *Mucor* (*Mucor* sp.) e de *Phomopsis* (*Phomopsis* sp.) (Figura 8).

Na CEAGESP foram realizadas 24 coletas totalizando 3.197 frutos avaliados. Do total das coletas, 87% dos frutos foram procedentes de 22 produtores diferentes de Campinas, SP, 11,5% de dois produtores de Valinhos, SP e 1,5% de um produtor de Vinhedo, SP.

Na CEASA também foram realizadas 24 coletas totalizando 1.270 frutos avaliados. Do total de coletas, 89,0% dos frutos foram provenientes de produtores de Campinas, SP e 11,0% foram provenientes de Louveira-SP.

Os primeiros sintomas apareceram dois dias após a incubação, seguindo o modelo exponencial ao longo dos dez dias de avaliação (Figura 9). Os parâmetros das equações, bem como os erros-padrão e o R^2 do modelo exponencial, ao qual os dados se ajustaram, estão apresentados na Tabela 6.

Figura 8 - Doenças pós-colheita observadas em goiabas 'Kumagai' durante a avaliação de frutos provenientes do mercado atacadista: antracnose (A), pinta preta (B), podridão de *Fusicoccum* (C), podridão de *Pestalotia* (D), podridão de *Mucor* (E) e podridão de *Phomopsis* (F)

Figura 9 - Progresso da incidência (%) das principais doenças pós-colheita em goiabas 'Kumagai' no tempo (● – antracnose, ■ – pinta preta e ▲ – podridão de Fusicocum), coletadas na CEAGESP (São Paulo, SP) (A) e na CEASA (Campinas, SP) (B), durante 10 dias de armazenamento a 25 °C. Dados médios dos levantamentos realizados em 2009/10 e 2010/11

Tabela 6 – Parâmetros, erros-padrão e coeficientes de determinação (R^2) da função exponencial $y = b_1 \exp(b_2 \cdot x)$ onde y corresponde à incidência das doenças (%), x corresponde ao tempo de armazenamento (dias), b_1 e b_2 correspondem a parâmetros do modelo, para as diferentes doenças pós-colheita e mercados atacadistas (CEASA e CEAGESP). Dados médios dos levantamentos realizados nos anos de 2009/10 e 2010/11

Incidência	Mercado Atacadista	b_1 (erro)	b_2 (erro)	R^2
Antracnose	CEASA	0,83 (0,36)	0,36 (0,71)	0,99
	CEAGESP	0,66 (0,22)	0,38 (0,03)	0,99
Pinta preta	CEASA	2,9 (1,31)	0,24 (0,04)	0,95
	CEAGESP	1,67 (0,61)	0,28 (0,03)	0,98
Podridão de Fusicocum	CEASA	1,17 (0,57)	0,30 (0,05)	0,98
	CEAGESP	0,62 (0,18)	0,36 (0,03)	0,99

As incidências médias da antracnose, pinta preta e podridão de Fusicocum, 10 dias após a incubação, em frutos coletados, tanto na CEASA quanto na CEAGESP não diferiram entre si e foram superiores às demais doenças observadas ($p \leq 0,05$) (Tabela 7). As doenças observadas em menor frequência (podridão de Pestalotia, podridão de Mucor e podridão de Phomopsis) não diferiram entre si ($p \leq 0,05$). A incidência mensal de cada doença diferiu entre os meses avaliados ($p \leq 0,05$), mostrando uma maior frequência em um determinado mês em relação aos demais (Tabela 7).

Tabela 7 – Incidências de doenças pós-colheita em goiabas ‘Kumagai’ provenientes da CEASA e da CEAGESP, armazenadas durante 10 dias a 25 °C. Dados referentes às médias mensais das doenças e médias dos meses avaliados. Média de dois experimentos realizados em 2009/2010 e 2010/2011

Doença	Incidência (%)						
	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Média
Ceasa							
Antracnose	36,9 b*	24,0 c	32,0 bc	25,0 c	14,2 d	57,6 a	31,6 A ¹
Pinta preta	14,0 c	16,9 c	29,7 b	46,1 a	43,8 a	39,0 ab	31,6 A
Pod. de Fusicocum	20,6 b	22,0 b	27,1 b	40,6 a	21,0 b	10,1 c	23,6 A
Pod. de Pestalotia	7,3 a	3,1 ab	3,1 ab	0,8 bc	0,0 c	5,4 a	3,3 B
Pod. de Mucor**	0,0 b	0,0 b	3,1 a	1,2 ab	2,8 a	0,2 b	1,2 B
Pod. de Phomopsis	2,1 a	0,0 b	0,0 b	0,0 b	1,4 ab	0,4 ab	0,7 B
Ceagesp							
Antracnose	27,9 bc	24,0 c	39,5 a	33,3 ab	26,5 bc	27,1 bc	29,7 A ¹
Pinta preta	18,6 c	17,2 c	26,3 b	35,2 a	35,5 a	33,3 ab	27,7 A
Pod. de Fusicocum	16,0 c	21,1 bc	41,9 a	25,5 b	23,6 b	14,6 c	23,8 A
Pod. de Pestalotia	3,7 a	1,0 b	5,1 a	3,4 ab	2,6 ab	2,6 ab	3,1 B
Pod. de Mucor	0,4 b	0,5 b	0,4 b	5,3 a	4,8 a	0,9 b	2,0 B
Pod. de Phomopsis	3,2 a	0,0 b	0,2 b	1,0 ab	0,0 b	0,4 b	0,8 B

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste não paramétrico de comparação de múltiplas proporções (P≤0,05).

**Pod. = Podridão

A frequência de podridões foi variável nos seis meses amostrados, apresentando, no caso da CEAGESP, maiores incidências das doenças mais frequentes nos meses de janeiro, fevereiro e março e, no caso da CEASA, fevereiro, março e abril. Em contrapartida, nos meses de novembro e dezembro observaram-se as menores frequências das principais doenças avaliadas (Figura 10).

Na CEASA, a incidência máxima da antracnose foi observada em abril (57,6%), incidências máximas da pinta preta foram observadas em fevereiro e março (46,1% e 43,8%, respectivamente) e a máxima incidência da podridão de Fusicocum (40,6%) foi observada no mês de fevereiro. Na CEAGESP, a incidência máxima da antracnose ocorreu em janeiro (39,5%), as incidências máximas de pinta preta ocorreram em fevereiro e março (35,2 e 35,5%, respectivamente) e da podridão de Fusicocum ocorreu em janeiro (41,9%) (Figura 10).

Figura 10 - Incidência (%) dos patógenos pós-colheita que ocorreram em maior incidência (A e B) e em menor incidência (C e D) em goiabas 'Kumagai' nos levantamentos realizados no CEASA (A e C) e CEAGESP (B e D). Média de dois experimentos realizados nos meses citados dos anos 2009/2010 e 2010/2011

Conforme a época do ano, o local de procedência do fruto e o mercado atacadista, ao final dos 10 dias de incubação, frutos coletados na CEASA apresentaram menores incidências das principais doenças pós-colheita no mês de dezembro e maiores incidências no mês de abril (Figura 11). Na CEAGESP, frutos apresentaram menores incidências das doenças pós-colheita no mês de dezembro e maiores incidências no mês janeiro (Figura 11).

Figura 11 – Frutos de goiaba coletados na CEASA, Campinas, SP (A e C) e na CEAGESP, São Paulo, SP (B e D), apresentando menores incidências no mês de dezembro (A e B) e maiores incidências nos meses de abril (C) e janeiro (D) 10 dias após incubação à 25 °C

3.5 Discussão

Os sintomas das principais doenças pós-colheita foram observados com poucos dias de armazenamento a 25 °C. Ao final de 10 dias de avaliação, observou-se uma incidência média de cada doença em torno de 25,0%. A colonização de frutas por fungos pode causar danos (redução na qualidade e quantidade produzida), principalmente quando ocorre o rápido ataque dos patógenos aos tecidos sadios. E, pelo fato da casca da goiaba ser comestível, a presença de uma lesão já torna o produto impróprio para a comercialização e para o consumo (SILVEIRA et al., 2005).

Levantamentos sobre a ocorrência de doenças durante o processo de comercialização de frutas tropicais foram realizados em mercados consumidores da Europa (JIMENEZ; LOGRIECO; BOTTALICO, 1993) e em frutos coletados nos mercados varejistas e consumidores dos Estados Unidos (CAPPELLINI; CEPONIS, 1984). No Brasil, estudos de identificação e caracterização de patógenos causadores de doenças pós-colheita em frutas envolvem amostras coletadas em áreas de produção comercial (PONTE, 1993; FAIAD; FERREIRA, 1994) e coletas

periódicas em diferentes pontos de comercialização (SILVEIRA et al., 2001; DANTAS et al., 2003). Os patógenos que apresentaram maior frequência foram *C. gloeosporioides* em mamão (44,9%) e abacate (16,0%), *Lasiodiplodia theobromae* em laranja (11,9%) e *Sphaceloma perseae* em abacate (20,0%). *C. gloeosporioides*, considerado um dos patógenos pós-colheita mais importantes, provoca manchas e podridões em várias espécies de frutas, que afetam a polpa, inviabilizando a comercialização desses produtos (DODD; ESTRADA, JEGER, 1992).

Muitos trabalhos que relatam sobre as doenças pós-colheita em goiabas citam a antracnose como principal doença pós-colheita da goiaba (WESTPHALEN, 2007; GUTIERREZ; WATANABE; SCHMIDT, 2002). Porém, considerando a variedade Kumagai, as incidências da antracnose, da pinta preta e da podridão de *Fusicocum* não diferiram estatisticamente entre si, considerando as médias de todos os meses avaliados. Porém, quando consideramos a média mensal houve diferença significativa entre as principais doenças.

A variação na incidência das doenças avaliada nos diferentes meses do ano provavelmente ocorreu devido ao fato de os frutos, a cada coleta, serem provenientes de produtores diferentes, com variação no manejo da cultura e nas condições ambientais predominantes em cada local. A intensidade de doenças pós-colheita é diretamente proporcional ao período entre a colheita e o consumo, sendo a ocorrência influenciada pelas condições ambientais prevalentes nesse período (AWAD, 1993). Além de condições ambientais, fatores como a densidade de inóculo, manejo fitossanitário, nutrição da planta, estado fisiológico do fruto na colheita podem influenciar diretamente o desenvolvimento posterior da doença pela redução da fonte de inóculo ou pela inibição da infecção (MAJUMDAR; PATHAK, 1989; SCHROEDER, 2004).

Variabilidade na incidência de podridões em função da época e amostras de goiabas também foi verificada por Martins e colaboradores (2007), 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). Assim como observado por Martins e colaboradores (2007), neste trabalho a máxima incidência da pinta preta em frutos provenientes da CEAGESP, ocorreu no mês de abril e da podridão de *Fusicocum* ocorreu em novembro.

Como as doenças avaliadas são quiescentes, nem sempre o consumidor observa os sintomas. Considerando que a temperatura de armazenamento dos frutos (25 °C) é semelhante à temperatura ambiente onde a maioria dos frutos fica exposta seja no mercado atacadista, varejista e demais comércios, é de se esperar que a incidência no mercado evolua de forma semelhante à observada no presente estudo. Com isso, o levantamento de doenças possibilitou estimar a incidência de doenças nos frutos se o intervalo de tempo entre a colheita e o consumo fosse de 10 dias.

Uma opção simples e pouco onerosa visando aumentar a vida útil pós-colheita da fruta seria utilizar a refrigeração nas etapas após a colheita. A refrigeração é o principal método para a manutenção da qualidade das frutas após a colheita, sendo efetivo por retardar e moderar os processos metabólicos envolvidos na maturação (ação das enzimas degradativas e oxidativas), reduzir a produção e ação do etileno, retardar o crescimento dos microrganismos, sendo a eficiência de controle maior quanto mais rápido se processa o resfriamento após a colheita. Considerando que o fruto permanece um tempo no mercado atacadista, posteriormente é transportado até o local onde será comercializado, sob temperatura ambiente, seria interessante manter o fruto refrigerado para aumentar o período de vida útil do fruto antes de ser descartado pela presença de doenças pós-colheita. Segundo Jacomino (1999), goiabas 'Kumagai' armazenadas a 10 ou 12 °C podem ser conservadas por 14 dias e se armazenadas a 8 °C podem ser conservadas por até 21 dias.

A busca por um produto de qualidade e produzido de maneira a atender um mercado mais exigente necessita de investimentos e rigor no processo logístico entre o plantio e a colheita. Além do uso da refrigeração no controle de doenças outros métodos alternativos como tratamento térmico, radiações gama e ultra-violeta, gás 1-metilciclopropano (1-MCP), atmosfera controlada e modificada, entre outros métodos tem sido bastante estudados, contribuindo para a redução das perdas pós-colheita, ofertando frutos com maior qualidade para o consumidor e garantindo melhores preços de venda dos frutos.

3.6 Conclusões

Antracnose, pinta preta e podridão de *Fusicocum* são as doenças que ocorrem em maior incidência em goiabas 'Kumagai' nos mercados atacadistas CEASA (Campinas, SP) e CEAGESP (São Paulo, SP).

Referências

AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 4th ed. San Diego: Academic Press, 1997. 635 p.

AMORIM, L.; MARTINS, M.C.; LOURENÇO, S.A.; GUTIERREZ, A.S.D.; ABREU, F.M.; GONÇALVES, F.P. Stone fruit injuries and damage at the wholesale market of São Paulo. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 47, p. 353-357, 2008.

AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Nobel, 1993. 114 p.

BARKAI-GOLAN, R. **Postharvest diseases of fruits and vegetables**: development and control. Amsterdam: Elsevier Science, 2001. 418 p.

BENATO, E.A.; CIA, P.; SOUZA, N.L. Manejo de doenças de frutas pós-colheita. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 9, p. 403-440, 2001.

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.

CAVALINI, F.C. **Índices de maturação, ponto de colheita e padrão respiratório de goiabas 'Kumagai' e 'Paluma'**. 2004. 69 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

CENTRAL DE ABASTECIMENTO DE CAMPINAS S.A. **Mercado de hortifrutis**. Disponível em: <http://www.ceasacampinas.com.br/novo/Inst_HortiFrutis.asp>. Acesso em: 09 ago. 2012a.

_____. **Mercado de hortifrutis**. Disponível em: <http://www.ceasacampinas.com.br/novo/img/folder_institucional.pdf>. Acesso em: 21 mai. 2012b.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças**: fisiologia e manuseio. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 320 p.

CROUS, P.W.; SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M.J.; RHEEDER, J.; MARASAS, W.F.O.; PHILLIPS, A.J.L.; ALVES, A.; BURGESS, T.; BARBER, P.; GROENEWALD, J.Z. Phylogenetic lineages in the *Botryosphaeriaceae*. **Studies in Mycologia**, Utrecht, v. 55, p. 235–253, 2006.

DANTAS, S.S.F.; OLIVEIRA, S.M.A.; MICHEREFF, S.J.; NASCIMENTO, L.C.; GURGEL, L.M.S.; PESSOA, 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.

DAS, M.; MUKTA, D.; BORA, K.N. *Colletotrichum acutatum* a new fruit rotting pathogen of guava (*Psidium guajava* L.) in storage. **Indian Journal of Mycology and Plant Pathology**, Udaipur, v. 23, p.331, 1993.

DENHAM, T.G.; WALLER, J.M. Some epidemiological aspects of post-bloom fruit drop disease (*Colletotrichum gloeosporioides*) in citrus. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 98, p. 65-77, 1981.

DODD, J.C.; ESTRADA, A.; JEGER, M.J. Epidemiology of *Colletotrichum gloeosporioides* in the tropics. In: BAILEY, J.A.; JEGER, M.J. (Ed.). **Colletotrichum: biology, pathology and control**. Wallingford: CAB International, 1992. p. 308-323.

ESCANFERLA, M.E. **Pré-penetração de *Guignardia psidii* em goiaba: influência da temperatura, duração do molhamento, idade dos frutos e concentração de etileno e dióxido de carbono**. 2007. 88 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

FAIAD, M.G.R.; FERREIRA, F.R. Incidência de fungos em frutos de banana “Maçã” na região geoeconômica do Distrito Federal. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 16, p. 141-144, 1994.

FISCHER, I.H.; LOURENÇO, S.S.; AMORIM, L. Doenças pós-colheita em citros e caracterização da população fúngicas ambiental no mercado atacadista de São Paulo, **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, p. 219-226, 2008.

GUTIERREZ, A.S.D.; WATANABE, H.; SCHMIDT, M. A goiaba em números. **Frutas e Legumes**, v. 2, p. 18-21, 2002. Disponível em: <<http://www.hortibrasil.org.br/goiaba.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2011.

JACOMINO, A.P. **Conservação de goiabas “Kumagai” em diferentes temperaturas e materiais de embalagem**. 1999. 90 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

JIMENEZ, M.; LOGRIECO, A.; BOTTALICO, A. Occurrence and pathogenicity *Fusarium* species in banana fruits. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 137, p. 214-220, 1993.

MAJUMDAR, V.L.; PATHAK, V.N. Incidence of major post-harvest diseases of guava fruits in Jaipur markets. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v. 42, p. 469-469, 1989.

MARTINS, M.C.; AMORIM, L.; LOURENÇO, S.A.; GUTIERREZ, A.S.D.; WATANABE, H.S. Incidência de danos pós-colheita em goiabas no mercado atacadista de São Paulo e sua relação com a prática de ensacamento de frutos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, p. 245-248, 2007.

MENEZEZ, M; HANLIN, R.T. Apreensão of Brazilian isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. Causal agent of anthracnoses diseases. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 27, p. 247-251, 1996.

MISRA, A.K. Guava diseases: their symptoms, causes and management. In: _____. **Diseases of fruits and vegetables**. Amsterdam: Springer, 2004. v. 2: Diagnosis and Management, p. 81-119.

NATALE, W.; ROZANE, D.E.; SOUZA, H.A.; AMORIM, D.A. (Ed.). **Cultura da goiaba**: do plantio à comercialização. Jaboticabal: UNESP, FCAV, 2009. v. 2, 289 p.

PANDEY, R.R. Effect of foliar applications of fungicides on the phylloplane mycoflora and fungal pathogens of guava. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 123, p. 52-62, 1988.

PEREIRA, F.M.; MARTINEZ JÚNIOR, M. **Goiabas para industrialização**. Jaboticabal: Editora Legis Suma, 1986. 142 p.

PERES, N.A.R.; KURAMAE, E.E.; DIAS, M.S.C.; SOUZA, N.L. Identification and characterization of *Colletotrichum* spp. affecting fruit after harvest in Brazil. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 150, p. 128-134, 2002.

PICCININ, E.; PASCHOLATI, S.F.; DI PIERO, R.M. Doenças da goiabeira (*Psidium guajava* L.). 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. 401-405.

PONTE, J.J. As doenças do maracujá amarelo no Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 15, p.11-14, 1993.

ROBBS, C.F.; ALMEIDA, O.C.; PIMENTEL, J.P. Cancro da goiabeira causado por *Botryosphaeria dothidea*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 5, n. 3, p. 549, out. 1980. Apresentado no CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE FITOPATOLOGIA, v.13, 1980, Rio de Janeiro.

SCHROEDER, A. Manejo de doenças pós-colheita. In: STADNIK, M.J.; TALAMINI, V. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2004. p. 267-293.

SIGRIST, J.M.M. Perdas pós-colheita de frutas e hortaliças. In: CEREDA, M.P.; SANCHES, L. **Manual de armazenamento e embalagem-produtos agropecuários**. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1983. p. 1-12.

SILVEIRA, N.S.S.; MICHEREFF, D.J.; SILVA, I.L.S.S.; OLIVEIRA, S.M.A. Doenças fúngicas pós-colheita em frutas tropicais: patogênese e controle. **Caatinga**, Mossoró, v. 18, n. 5, p. 283-299, 2005.

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

SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M.J. Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. **Fungal Biology Reviews**, Amsterdam, v. 21, p. 90-106, 2007.

SOARES, A.R. **Infecção e colonização de goiabas por *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento**. 2008. 85 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2008.

TOZETTO, L.J.; RIBEIRO, W.R.C. Ocorrência de podridão em frutos de goiabeira (*Psidium guajava* L.), causada por *Phyllosticta* sp., em Brasília DF. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 160, 1993.

WATANABE, H.S. **Comercialização da goiaba de mesa: mercado interno**. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DA CULTURA DA GOIABEIRA, 3., 2009, Jaboticabal. Disponível em: <http://www.hortibrasil.org.br/jnw/images/stories/biblioteca/apresentacoes/01_03_2010/III_Simposio_Brasileiro_Goiaba.pdf>. Acesso em: 27 jan. 2012.

WESTPHALEN, F. **Cultura da goiaba**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2007. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/90634634/Apostila-Do-Cultivo-Da-Goiaba>>. Acesso em: 09 mar. 2012

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

4 DINÂMICA TEMPORAL DE DOENÇAS QUIESCENTES EM POMARES DE GOIABEIRA DE CAMPINAS, SP E VALINHOS, SP

Resumo

As infecções quiescentes podem ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento do fruto, sem que qualquer sintoma possa ser observado. Informações sobre quando ocorre a infecção bem como onde estão as possíveis fontes de inóculo podem auxiliar tanto na seleção do método mais adequado como na escolha dos momentos de intervenção para o controle dessas doenças. Para tanto, os objetivos deste estudo foram determinar a dinâmica temporal das doenças pós-colheita quiescentes no campo e identificar possíveis fontes de inóculo dos patógenos avaliados. Flores e frutos em diferentes estágios de maturação até o ponto de colheita foram coletados, quinzenalmente, em duas áreas na região de Campinas, SP, nos anos de 2009 a 2011. Em uma das áreas, dividiu-se o talhão em duas parcelas: em uma os restos de cultura foram mantidos em volta das plantas e na outra foram retirados. Frutos imaturos foram imersos em solução de paraquat por 1 minuto e, em seguida, enxaguados em água corrente. Em seguida os frutos foram incubados a 25 °C com 24 horas de câmara úmida e fotoperíodo de 12 horas. Avaliou-se a incidência das doenças pós-colheita a cada dois dias, durante 10 dias. A dinâmica temporal das doenças foi expressa graficamente. Ao final das avaliações, conídios de *Colletotrichum* sp. presentes na mucilagem foram isolados de frutos com sintomas da doença e realizou-se a identificação das espécies por reações de PCR. Dados de temperatura mínima, máxima e precipitação pluviométrica foram coletados em uma estação meteorológica instalada em cada área para posterior correlação com a incidência das doenças no tempo. Conídios dispersos durante as chuvas foram coletados em armadilhas dispostas, ao acaso, em cinco plantas de cada talhão. As armadilhas foram substituídas a cada 15 dias e após centrifugação quantificaram-se os esporos em câmara de Neubauer. A antracnose foi a única doença quiescente pós-colheita que foi observada desde a flor (35,0%) até frutos em ponto de colheita. As demais doenças foram observadas a partir de frutos com 5,0 cm de comprimento. O tratamento dos frutos com paraquat superestimou a incidência das doenças, sendo considerada nesses frutos como incidência potencial. As incidências potenciais de antracnose chegaram a 99,0% em frutos imaturos. Porém em frutos em ponto de colheita a incidência de antracnose alcançou até 86,4%. As máximas incidências de pinta preta, podridão de *Fusicocum* e podridão de *Pestalotia* em frutos em ponto de colheita foram de 62,0%, 44,0% e 2%, respectivamente. Houve correlação direta entre a temperatura máxima média associada ou não com a precipitação acumulada e a incidência de antracnose em frutos de goiaba. *C. gloeosporioides* foi a única espécie detectada nas amostras obtidas de frutos doentes. Nas armadilhas foram observados apenas esporos de *Colletotrichum* sp. Não houve diferença significativa na incidência de doenças quiescentes pós-colheita entre as áreas com e sem restos culturais. A ocorrência de chuvas no florescimento e estágios iniciais de desenvolvimento do fruto associada a temperaturas elevadas favoreceram a ocorrência das principais doenças quiescentes da goiaba 'Kumagai' em pós-colheita.

Palavras-chave: Sobrevivência do patógeno; Incidência da antracnose; Pinta preta da goiaba

Abstract

Quiescent infections may occur at any stage of plant development, even when no symptom is observed. Information on when the infection occurs and where the possible sources of inoculum are may help both in selecting the most appropriate method as well as choosing the best moment to control these diseases. The objectives of this study were to determine the temporal dynamics of post-harvest diseases caused by quiescent pathogens in the field and identify possible sources of inoculum of the pathogens evaluated. Flowers and fruits at different stages of maturation up to the point of harvest were collected every fortnight, in two areas in the region of Campinas, SP, in the years 2009 to 2011. In one area, the plot was divided into two portions: on the first one the crop residues were left around the plant and on the other crop residues were removed. Immature fruits were immersed in a solution of paraquat for 1 minute and then rinsed in water. Then the fruits were packed in nests and these in moistened plastic bags. The fruits were incubated at 25 °C in a humidity chamber for 24 hours, with a photoperiod of 12 hours. Post-harvest diseases incidence was evaluated every two days for the following 10 days. At the end of the evaluations, *Colletotrichum* sp. was isolated from fruits with symptoms of the disease and the identification of species was made by PCR reactions. Minimum and maximum temperatures and rainfall data were collected at a weather station installed in each area for later correlation with the disease incidence on time. Conidia dispersed during rainfall within the tree canopy were sampled using inverted-bottle samplers. Samples were collected every 15 days and spores were quantified in a Neubauer chamber after centrifugation. Anthracnose was the only post-harvest quiescent disease that was observed from the flower (35.0%) to the mature fruit. Other diseases were observed from the fruit with 5.0 cm length. The treatment of fruit with paraquat overestimated the incidence of the diseases. So for these fruits the potential disease incidence was considered. The potential incidence of anthracnose reached 99.0% in immature fruit, but in fruit at harvest time the incidence of anthracnose reached up to 86.4% only. The highest incidences of black spot, *Fusicocum* rot and *Pestalotia* rot on fruits at harvest point were 62.0%, 44.0% and 2.0% respectively. A direct correlation between the average maximum temperature associated or not with the accumulated rainfall and the incidence of anthracnose on guava fruits was observed. The specie *C. gloeosporioides* was the only detected in samples of diseased fruits. At the samplers were observed only *Colletotrichum* sp. conidia. There was no significant difference on the incidence of quiescent post-harvest diseases between areas with and without crop residues. The rainfall during flowering and early stages of fruit development associated with high temperatures favor the occurrence of major quiescent postharvest diseases on 'Kumagai' guava.

Keywords: Pathogen survival; Anthracnose incidence; Guava black spot

4.1 Introdução

A infecção das doenças pós-colheita pode iniciar no campo, durante a ontogenia da fruta, ou surgirem depois da colheita, com a maturação fisiológica do fruto. As infecções pré-colheita podem ocorrer via penetração direta do patógeno através da cutícula intacta, ou através de aberturas naturais na superfície das frutas,

como as lenticelas e estômatos. No entanto, muitas infecções que resultam em doenças pós-colheita são iniciadas por ferimentos ocorridos durante ou após a colheita (ECKERT, 1980). No caso de infecções quiescentes, o início pode ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento do fruto. O desenvolvimento do patógeno é inibido pelas condições fisiológicas desfavoráveis do hospedeiro nos estádios iniciais de desenvolvimento do fruto, até atingir o estágio de maturação da fruta ou a respiração climatérica, quando as condições fisiológicas do fruto favorecem o desenvolvimento do patógeno e as infecções se tornam ativas (SCHIFFMANN-NADEL, 1985; JEFFRIES; DODD; PLUMBLEY, 1990).

Os estádios durante os quais o fungo se torna quiescente podem ser a germinação do esporo, a formação de apressório e a penetração ou subsequente colonização (HARTUNG; BURTON; RAMSDELL, 1981; PRUSKY; KEEN, 1993).

A ativação da infecção quiescente é influenciada por diversos fatores relacionados ao patógeno, ao hospedeiro e ao ambiente. O processo de infecção de patógenos quiescentes inclui basicamente a deposição do conídio na superfície da planta, adesão do conídio, a germinação do conídio, a formação de apressórios e a penetração. No entanto, o estabelecimento e continuidade desse processo dependem do equilíbrio dinâmico entre o patógeno, o hospedeiro e o meio ambiente. Mudanças físicas e fisiológicas no hospedeiro, condições ambientais ou ambas podem alterar esse equilíbrio permitindo que o patógeno retome a infecção (JARVIS, 1994). Portanto, agentes causais de infecções quiescentes presentes na superfície do hospedeiro representam infecções quiescentes potenciais.

Uma forma de avaliação de doenças pós-colheita quiescentes em frutos consiste na detecção e identificação dessas doenças em pré-colheita. Estas informações podem auxiliar o manejo pós-colheita dessas doenças, pois permitem a identificação e a estimativa da quantificação do patógeno antes do fruto atingir a maturação. Para conseguir a expressão de sintomas de doenças pós-colheita em frutos imaturos utiliza-se o tratamento dos frutos com o herbicida paraquat entre outros produtos, o qual acelera o amadurecimento, permitindo o aparecimento de sintomas e estruturas de patógenos auxiliando na identificação e quantificação dos mesmos, ainda em frutos imaturos (BIGGS, 1995).

A fase de sobrevivência do inóculo é importante nas doenças quiescentes em plantas perenes, pois a presença constante do patógeno nas suas diferentes formas associada a condições favoráveis são suficientes para iniciar a infecção.

Conhecendo-se as possíveis partes da planta e hospedeiros alternativos onde o patógeno sobreviva às condições adversas bem como outros locais como restos de cultura, podem auxiliar nas estratégias de controle da doença.

Os estudos epidemiológicos de doenças quiescentes são escassos devido à dificuldade em determinar onde ocorre a sobrevivência dos patógenos, o real momento da infecção e o progresso da doença no campo desde a infecção.

Sendo assim, os objetivos deste estudo foram determinar a dinâmica temporal das doenças pós-colheita quiescentes de goiabas no campo, verificar a influência das variáveis ambientais na incidência das doenças pós-colheita, identificar as espécies de *Colletotrichum* presentes na área e identificar as possíveis fontes de inóculo dos patógenos avaliados.

4.2 Revisão Bibliográfica

4.2.1 A importância da goiaba no Estado de São Paulo

O Estado de São Paulo é responsável por, aproximadamente, 30% da produção brasileira de goiabas (FNP, 2012), a qual está concentrada em três regiões denominadas: Grupo 1 composto pelos municípios de Taquaritinga, Monte Alto, Vista alegre e Urupês; Grupo 2 composto pelos municípios de Valinhos, Itu e Campinas e Grupo 3 composto pelo município de Mirandópolis e seus circunvizinhos (SANTOS-FRANCISCO; BAPTISTELLA, AMARO, 2007) (Figura 12).

Distribuição Geográfica de área cultivada e número de produtores, 2007/2008

Figura 12 - Mapa do Estado de São Paulo mostrando as principais regiões produtoras do Estado: G1 (Taquaritinga, Monte Alto, Vista Alegre e Urupês), G2 (Mirandópolis e seus circunvizinhos) e G3 (Valinhos, Itu e Campinas) (CATI, 2009)

A região de Valinhos, Itu e Campinas abrange uma área de cultivo de 806,7 hectares com 210 mil plantas e contribui com 8% da produção do estado. A variedade de polpa branca mais produzida na região é a Kumagai, devido à alta produtividade, produção de frutos grandes, polpa consistente, levemente ácida e com poucas sementes (MANICA et al., 2000). Essa variedade é destinada principalmente para o consumo *in natura* e é a base das exportações brasileiras, que alcançou 147.348 kg (5,0% da produção brasileira), em 2010 (IBRAF, 2012). Os produtores dessa região adotam algumas práticas de manejo diferenciadas, dependendo do tamanho da área plantada, variedade, dentre outros fatores. Alguns adotam poda total, a qual tem como característica a poda de todos os ramos de uma vez, de forma que todos os frutos da planta sejam colhidos em uma época do ano. Considerando que essa poda é feita em épocas diferentes para cada talhão é possível produzir goiabas o ano todo e com tamanho homogêneo. Outros produtores utilizam a poda contínua, na qual cada ramo é podado individualmente a cada

repasse do pomar, quando é realizado o encurtamento dos ramos produtivos primários cerca de um mês após a colheita dos últimos frutos para que produzam uma segunda safra, de forma que cada planta produza continuamente ao longo de todo o ano. Essa poda resulta em frutos de tamanho heterogêneo e dificulta a aplicação de agroquímicos, uma vez que fungicidas à base de cobre causam fitotoxicidade em frutos que completaram a metade do seu desenvolvimento. Como a planta apresenta frutos de diversos tamanhos, a aplicação de defensivos somente nos frutos que podem ser pulverizados se torna impraticável (GONZAGA NETO, 2001).

Outra prática adotada por alguns produtores é o ensacamento dos frutos para protegê-los do ataque de pragas e patógenos, bem como para reduzir o uso de agroquímicos para se adequar às normas da produção integrada de frutas e às exigências do mercado externo (PIZA JÚNIOR, 2007). Uma desvantagem dessa prática é que, segundo Martins e colaboradores (2007), a incidência da antracnose é favorecida pelo ensacamento do fruto, pois o saco de papel não impede a entrada de água que escorre junto ao pedúnculo do fruto.

A colheita dos frutos é realizada, na maioria das vezes, antes do ponto de maturação. Os produtores adotam essa prática devido ao fato da goiaba ser um fruto climatérico o que resulta na continuação do seu processo de maturação após a colheita. Portanto, quanto mais maduro o fruto for colhido menor será o período de vida pós-colheita e maior será a chance de aparecimento de sintomas de doenças (CAVALINI, 2004).

O uso de irrigação da lavoura e as podas programadas permitem colher frutos durante o ano inteiro, possibilitando a comercialização no período de entressafra. Efetuando-se o devido controle de pragas e doenças, é possível obter 800 frutos por planta adulta, com produtividade superior a 40 toneladas por hectare (SOUZA; MANCIN; MELO, 2007).

4.2.2 Doenças quiescentes em frutos

O termo infecção quiescente descreve uma “relação parasítica dormente ou quiescente a qual, após um tempo, torna-se ativa” (VERHOEFF, 1974; SWINBURNE, 1983). Segundo Swinburne (1983) a falha ao conídio germinar ou se desenvolver além de qualquer estágio subsequente é devido a condições fisiológicas temporárias adversas impostas pelo hospedeiro, diretamente no patógeno ou

indiretamente através da modificação da capacidade patogênica do mesmo. É como se o hospedeiro exibisse uma 'resistência temporária'. A quiescência pode ocorrer em diferentes fases do ataque de fungos pós-colheita: durante a germinação de esporos, durante e após a formação de apressórios e após a germinação de apressórios e hifa subcuticular. A ocorrência e a manutenção do patógeno em quiescência sobre o hospedeiro ou dentro do mesmo indicam um equilíbrio dinâmico entre o hospedeiro, patógeno e meio ambiente (JARVIS, 1994).

O patógeno no estágio de quiescência mantém baixo nível de metabolismo, entretanto, pode ativar fatores de patogenicidade que resultam em um parasitismo ativo nos tecidos do hospedeiro (PRUSKY, 1996). A transição da fase de quiescência para agressiva pode ser ativada por mudanças fisiológicas normais do hospedeiro (SWINBURNE, 1983; PRUSKY; PLUMBIEY, 1992; JARVIS, 1994), manuseio incorreto ou condições ambientais adversas (CAPPELLINI; CEPONIS; 1984). Para alguns patógenos pós-colheita, a suspensão da quiescência pode ser ainda resultado do declínio na concentração de componentes antifúngicos.

A maioria dos fungos que causam doenças em frutas tropicais em pós-colheita não apresenta seletividade na escolha pelo hospedeiro, e as diferenças na suscetibilidade das frutas a esses organismos envolvem uma série de defesas do hospedeiro, além da disponibilidade de inóculo e do nicho ecológico específico (JOHNSON; SANGCHOTE, 1994).

4.2.3 Epidemiologia das principais doenças pós-colheita da goiaba

As principais doenças pós-colheita da goiaba são a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* e *C. acutatum*), pinta preta (*Guignardia psidii*) e podridão de Fusicocum (*Fusicoccum* sp). (BARKAI-GOLAN, 2001; MARTINS et al., 2007; FISCHER et al., 2011).

Espécies do gênero *Colletotrichum* são consideradas patógenos quiescentes de grande importância e são agentes causais da doença comumente conhecida como antracnose em uma ampla gama de hospedeiros, em regiões tropicais, subtropicais e temperadas (JUNQUEIRA et al., 2001; PICCININ; PASCHOLATI; DI PIERO, 2005).

O ataque de espécies de *Colletotrichum* a frutos e vegetais pode ser separado em fases incluindo a deposição de esporos na superfície do hospedeiro, a adesão do esporo à superfície do hospedeiro, a germinação do esporo, a produção

do apressório, a penetração na planta, colonização dos tecidos da planta, a formação das lesões seguida de esporulação (PRUSKY; FREEMAN; DICKMAN, 2000).

Após a germinação do esporo, um pré-requisito para a invasão de plantas hospedeiras por alguns fungos patogênicos é a diferenciação de uma estrutura de infecção chamada apressório, que surge como um inchaço apical do tubo germinativo, promovendo a adesão à superfície do hospedeiro, além de fornecer a força mecânica e as enzimas requeridas para a penetração inicial (EMMET; PARBERRY, 1975). Espécies de *Colletotrichum* que causam antracnose e *Guignardia psidii* são exemplos de patógenos que produzem apressório com parede celular espessa pigmentada com melanina. A melanização das células fúngicas contribui para aumentar a resistência a condições adversas, como irradiação, lise por outros microorganismos, alta temperatura, etc (BAILEY et al., 1992).

As fases de pré-penetração e penetração são similares para todas as espécies de *Colletotrichum*. No entanto, após a penetração, duas diferentes estratégias de colonização podem ser observadas, segundo Bailey et al. (1992): intracelular hemibiotrófica e subcuticular intramural necrotrófica. Na primeira estratégia o patógeno exibe duas fases. Na primeira fase, o patógeno cresce de forma biotrófica, sem apresentar sintomas, com o crescimento da hifa dentro do lúmen celular, sem penetração no protoplasma, formando a vesícula de infecção. A membrana plasmática da célula hospedeira torna-se invaginada sem quaisquer mudanças imediatas. Essa fase pode durar de 24 horas a 3 dias. Após a colonização de uma ou duas células, a hifa primária intracelular, formada a partir da vesícula, a qual é biotrófica dá origem a hifa secundária necrotrófica, iniciando a segunda fase, chamada necrotrófica (LATUNDE-DADA et al., 1996).

A estratégia de colonização subcuticular intramural é caracterizada pelo crescimento do patógeno abaixo da cutícula e dentro da parede periclinal e anticlinal das células epidérmicas. Não há fase biotrófica nessa interação (O'CONNELL et al., 2000).

No caso da colonização de *C. gloeosporioides* em goiaba, estudos utilizando microscopia eletrônica de transmissão mostraram que a estratégia de colonização nesse patossistema é intracelular hemibiotrófica, pois com 72 horas após a inoculação observou-se a formação de vesícula de infecção nas células epidérmicas. Após 96 horas verificou-se a formação de hifas e morte celular, caracterizando a

fase necrotrófica. Após 120 horas da inoculação as estruturas fúngicas já haviam colonizado as células parenquimáticas (MORAES, 2009).

Quanto às espécies de *Fusicocum*, os primeiros trabalhos relacionados à infecção por fungos da família Botryosphaeriaceae relatavam que era necessária a presença de ferimentos para ocorrer a infecção (von ARX; MÜLER, 1954 apud SLIPPERS; WINGFIELD, 2007; SMITH et al., 1994). Porém, estudos posteriores mostraram que estes fungos podem infectar frutos diretamente pelas lenticelas, estômatos ou outras portas de entrada em plantas hospedeiras (BROWN; HENDRIX, 1981; KIM; PARK; AHN, 1999). Alguns estudos também relatam a quiescência desses patógenos em quase todas as partes da planta (CILLIERS et al., 1995; KIM et al., 2001; LUPO et al., 2001).

Entre os fatores do patógeno que contribuem para a ocorrência de epidemias, destacam-se o nível de virulência, a quantidade de inóculo presente na área, a velocidade de reprodução e a eficiência da disseminação. Além disso, quando as condições ambientais forem mais favoráveis, mais eficiente será o processo infeccioso (MENEZES, 2002).

4.2.4 Influência das variáveis ambientais

O ambiente é caracterizado pelo conjunto de variáveis edafo-climáticas que envolvem o sistema patógeno-hospedeiro, exercendo um importante papel na incidência e severidade das doenças. A maioria das doenças de plantas ocorre em áreas onde o hospedeiro é cultivado, mas normalmente não ocorrem epidemias severas frequentes (BEDENDO; AMORIM, 2011).

O processo de infecção é muito influenciado pelas condições climáticas, principalmente pela temperatura e pelo período de molhamento (HUBER; GILLESPIE, 1992). Os requerimentos ambientais são distintos de acordo com a fase de desenvolvimento da estrutura de infecção (BARKAI-GOLAN, 2001). Para *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado de manga, a temperatura ótima para formação do apressório foi de 25 °C, para a melanização do apressório foi 30 °C e para a formação do peg de penetração foi de 25 °C (ESTRADA; DODD; JEFFRIES, 2000).

A influência da temperatura está relacionada com a maior ou menor duração da germinação de esporos e, conseqüentemente, da infecção. Também exerce influência nos períodos de incubação e latência, frequência de infecção, tamanho de

lesões e na severidade (ROTEM; COHEN; BASHI, 1978). O efeito da temperatura é extremamente importante para o desenvolvimento de epidemias. Porém, a umidade é mais limitante, pelo fato da faixa de temperatura favorável ao desenvolvimento das doenças serem geralmente maior do que a faixa da umidade necessária para que ocorra o processo infeccioso. Além disso, valores acima da temperatura máxima e abaixo da mínima apenas inibem o desenvolvimento de tais epidemias, a menos que esses valores persistam por tempos prolongados (ROTEM, 1978). Enquanto que se não ocorrer o período de molhamento mínimo para a germinação do fungo, consequentemente não haverá infecção.

De um modo geral, a temperatura exerce um efeito menos marcante que aquele exercido pela umidade sobre as atividades do patógeno. Isto porque, a maioria dos patógenos é capaz de crescer numa ampla faixa de temperatura. No entanto, temperaturas altas podem provocar o dessecamento de estruturas do patógeno presentes na fonte de inóculo. Temperaturas desfavoráveis não permitem que o patógeno complete seu ciclo de vida (MENEZES, 2002).

A sobrevivência, a disseminação, a germinação e a penetração são os processos do desenvolvimento do patógeno mais afetados pela umidade. A baixa umidade pode causar o dessecamento das estruturas do patógeno, reduzindo suas chances de infecção e disseminação. A disseminação de propágulos pode ocorrer com o auxílio da água, principalmente através de respingos e aerossóis, podendo apresentar eficiência em longas distâncias ao se associar chuva e vento. Os respingos são responsáveis não só pela disseminação como também pela liberação de estruturas fúngicas e bacterianas produzidas em matrizes mucilaginosas (AMORIM; PASCHOLATI, 2011).

A relação entre a duração do período de molhamento e a incidência de doenças, normalmente é descrita por modelos não lineares que assumem premissas básicas de que a incidência aumenta com a duração do período de molhamento e tende a um limite superior quando o período de molhamento é prolongado (GODOY; AMORIM; BERGAMIN FILHO, 1999). Considerando que os períodos diários de molhamento não são sempre contínuos e podem ser interrompidos por minutos ou horas, Sutton (1988) concluiu que a habilidade dos patógenos permanecerem infectivos durante os períodos secos, pode ser função do estágio de infecção quando ocorre a interrupção no período de molhamento, dos potenciais de água na atmosfera durante o período seco, da radiação entre outras variáveis.

A faixa favorável à germinação de *C. gloeosporioides* isolado de goiaba estimada pelo modelo Beta monomolecular ocorre nas temperaturas de 20 a 25 °C acima de 6 horas de molhamento, correspondendo a um percentual de germinação acima de 50,0%. Entretanto, o fungo apresenta elevada capacidade adaptativa, capaz de germinar mesmo nas temperaturas de 10 e 35 °C (SOARES, 2008).

O desenvolvimento de *Guignardia psidii* ocorre em uma faixa de temperatura e molhamento reduzidos. A faixa favorável à germinação de *G. psidii* em frutos de goiaba é de 20 a 30 °C e 24 horas de período de molhamento. A germinação atinge valores máximos a 25 °C e 24 horas de molhamento (45,6%). Nas temperaturas de 15 e 35 °C há uma redução para 20,0% conídios germinados (ESCANFERLA, 2007).

Para as demais doenças pós-colheita não existem estudos relacionados às condições favoráveis ao desenvolvimento do patógeno *in vitro* e *in vivo*.

4.2.5 Detecção de infecções quiescentes

Infecções quiescentes têm uma grande importância epidemiológica, pois podem ocorrer no campo em diferentes estádios do desenvolvimento do fruto, proporcionando aumento do inóculo durante o amadurecimento dos frutos, com consequente aumento da infecção de frutos maduros na colheita e pós-colheita (NORTHOVER; CERKAUSKAS, 1994).

A detecção de infecções quiescentes em frutos tropicais pode ser realizada utilizando diferentes técnicas como as baseadas em PCR (PARIKKA; LEMMERTY, 2004), no uso de luz ultravioleta (ISHIKAWA, 2003), etanol (ISHIKAWA, 2004), paraquat (BIGGS, 1995; MOREIRA; MAY-DE-MIO, 2007), entre outras.

Com o intuito de desenvolver metodologias para detecção da infecção quiescente em rosáceas de caroço, Northover e Cerkauskas (1994) utilizaram paraquat e ethephon e verificaram o efeito da interação entre estes produtos com a luz sobre o desenvolvimento da infecção de *Monilinia fructicola* em frutos de ameixa. A atividade do herbicida, mediada pela luz, gera radicais livres, os quais induzem à peroxidação de lipídeos e perda da integridade da membrana após a sua aplicação (BURDEN; COOKE; HARGREAVES, 1990; DODGE, 1971). Dessa forma, os frutos tratados são induzidos à senescência e os patógenos passam a expressar seus sintomas.

A detecção precoce dessas infecções pode auxiliar nos estudos epidemiológicos, bem como auxiliar na escolha de métodos de controle durante e

após a colheita que sejam mais eficientes e em alguns casos fazer um uso mais racional de agroquímicos.

4.3 Material e Métodos

O experimento foi conduzido em duas diferentes áreas de cultivo comercial de goiabeiras da variedade Kumagai, sendo uma localizada no Sítio Maracujá, em Campinas, SP e a outra localizada na Chácara Alvorada no município de Valinhos, SP.

4.3.1 Dados climáticos

Os dados de temperatura mínima, média, máxima, precipitação e umidade relativa do ar foram obtidos de uma estação meteorológica da marca Davis®, modelo Vantage Pro2 – Sem fio, situada no local dos experimentos. As informações foram armazenadas no *data logger* da estação a cada trinta minutos e transferidas para o computador a cada 15 dias.

4.3.2 Descrição das áreas experimentais

O Sítio Maracujá (Campinas/SP) situa-se a 22°54'21" de latitude sul e 47°03'39" de longitude oeste, estando a uma altitude de 640 m. A precipitação média anual é de 1372,0 mm, sendo janeiro, o mês mais chuvoso, com média de 280,3 mm. A temperatura média anual é de 21,4 °C (CEPAGRI, 2012a).

A Chácara Alvorada (Valinhos/SP) localiza-se a 22°58'14" de latitude sul e a 46°59'45" de longitude oeste, estando a uma altitude de 660 m. A precipitação pluvial média anual é de 1425,0 mm, sendo o mês de janeiro o mais chuvoso. A temperatura média anual é de 21,0 °C (CEPAGRI, 2012b).

No pomar de Campinas, SP, selecionaram-se duas áreas (A e B) e, em Valinhos, uma área (C) para realização dos experimentos. Nas áreas A e C os restos culturais provenientes de poda foram mantidos ao redor de cada planta, enquanto que na área B, os restos culturais e frutos caídos foram removidos (Figura 13). Em Campinas, o produtor aplicou fungicida até o fruto chegar a 3 cm e após esse estágio, os frutos foram ensacados permanecendo até a colheita. Em Valinhos, o produtor aplicava fungicidas do grupo dos cúpricos (de contato) e do grupo dos benzimidazóis (sistêmicos) a cada 15 dias. Porém, os frutos para o experimento

foram ensacados a fim de manter as mesmas condições do experimento instalado em Campinas, SP.

Figura 13 - Visualização de uma planta com restos culturais (A), uma planta sem restos culturais (B), localizadas em nos talhões experimentais de Campinas, SP e outra com restos culturais, localizada no talhão experimental de Valinhos, SP (C)

4.3.3 Avaliações e delineamento experimental

Em Campinas, SP, as avaliações foram realizadas nos meses de outubro a março de 2009/2010 e de julho a dezembro de 2010. Em Valinhos, SP, as avaliações foram realizadas nos meses de outubro a fevereiro de 2011/2012.

As áreas A, B e C possuíam 48, 52 e 38 plantas, respectivamente. As coletas foram realizadas quinzenalmente, inicialmente com flores e posteriormente com frutos de 1,0 cm, medidos com auxílio de um paquímetro, e se prolongaram até que os frutos atingissem o ponto de colheita. Ao todo se realizaram 22 coletas na área A, 20 coletas na área B e 13 coletas na área C.

4.3.4 Dinâmica temporal das doenças quiescentes nos pomares de goiabeiras de Campinas, SP e Valinhos, SP

Logo após a chegada ao Laboratório de Pós-Colheita do Departamento de Fitopatologia e Nematologia da ESALQ/USP, frutos a partir de 1,5 cm até frutos imaturos coletados até penúltima coleta foram imersos em solução de 3 g/L de Gramoxone® (200g i.a/L) por 1 minuto para induzir a senescência do tecido e ativar a infecção quiescente (Figura 15). Posteriormente, os frutos foram enxaguados em água corrente por 3 minutos (NORTHOVER; CERKAUSKAS, 1994 - adaptado). Em seguida, os frutos secaram em temperatura ambiente. Após a secagem, os frutos foram acondicionados em ninhos e fechados com saco plástico umedecido. Duas porções de algodão umedecido foram colocadas entre os frutos para manter a umidade (Figura 14). Os frutos foram incubados em câmaras de crescimento a 25 °C, sob câmara úmida durante 24 horas e fotoperíodo de 12 horas. Para favorecer o aparecimento de sintomas nas flores, estas foram colocadas em potes individuais com uma porção de algodão umedecido em câmara de crescimento a 25 °C por um período de 24 horas.

Figura 14 - Imersão dos frutos de goiaba 'Kumagai' em solução de gramoxone 200g i.a/L (A) e frutos de goiaba de 1,5 cm de comprimento acondicionados em um ninho coberto com plástico umedecido para simular câmara úmida (B).

A avaliação da incidência das doenças foi realizada a cada dois dias, durante 10 dias ou até a senescência dos frutos. Frutos da última coleta por estarem fisiologicamente maduros não foram imersos na solução de paraquat.

A dinâmica da incidência das doenças quiescentes pós-colheita no tempo foi expressa graficamente e as áreas abaixo das curvas de progresso da doença (AACPD) para cada doença avaliada foram calculadas por integração trapezoidal (BERGER, 1988). Com os dados da AACPD, a incidência de cada patógeno foi comparada pelo teste não paramétrico de comparação de múltiplas proporções, ao nível de 5% de probabilidade (ZAR, 1999).

4.3.4.1 Correlação entre as variáveis ambientais e a incidência das doenças

Foram construídas matrizes de correlação de Pearson entre a temperatura mínima média, temperatura máxima média e precipitação pluviométrica acumulada (mm/dia) e a incidência das doenças analisadas. Utilizaram como parâmetros, para cada variável mencionada, os valores registrados 3, 5 e 7 dias anteriores a cada coleta de flores e frutos.

4.3.4.2 Preservação dos isolados

Os isolados obtidos de frutos doentes do campo transferidos para placas de poliestireno contendo meio de cultura ágar-água foram repicados para placas contendo meio BDA (batata-dextrose-ágar) da marca Oxoid®. Para a preservação dos isolados foram utilizados dois métodos: Castellani (água destilada) e método de preservação em papel de filtro.

Para a preservação dos isolados pelo método de Castellani, após sete dias do isolamento, discos de 0,5 cm de diâmetro contendo o fungo, retirados da margem da colônia, foram remanejados para frascos do tipo penicilina contendo 15 mL de água destilada e esterilizada. Em seguida, os frascos foram tampados com rolhas de borracha e lacrados com papel filme a fim de evitar contaminações e evaporação da água. Posteriormente, os frascos foram armazenados e temperatura ambiente.

Para a preservação pelo método de papel de filtro, cada isolado foi repicado e, em volta do disco de micélio depositaram-se fragmentos de 0,5 cm² de papel de filtro esterilizado sobre a superfície do meio batata-dextrose-ágar (Oxoid®) contido em placas de Petri. Após o desenvolvimento da colônia, cada fragmento de papel de filtro contendo as estruturas do patógeno foi retirado da placa de origem, sem o meio de cultura e transferido para um papel de filtro esterilizado para secagem dentro do fluxo laminar. Após a secagem, esses fragmentos foram transferidos para tubos para microcentrífuga de 1,5 mL autoclavados contendo sílica gel esterilizada. Os tubos foram acondicionados em caixas próprias e armazenados a 10°C.

4.3.4.3 Identificação das espécies de *Colletotrichum* presentes nos frutos

Ao final das avaliações de incidência nos frutos vindos do campo foi realizado o isolamento de fungos que apresentaram a mucilagem contendo esporos, característica de lesões de antracnose, em placas de poliestireno contendo meio ágar-água.

4.3.4.3.1 Extração de DNA

A extração de DNA foi realizada utilizando-se a metodologia descrita por Dellaporta, Wood e Hicks (1983) adaptada.

Para isso, os isolados previamente preservados foram cultivados por sete dias em placas de poliestireno contendo meio BDA, sob temperatura de 25 °C (± 2 °C), no escuro. Aproximadamente 0,1g do micélio produzido por cada isolado foi macerado em tubos para microcentrífuga de 1,5 mL, contendo 500 μ L de tampão de extração (NaCl 0,5 M; EDTA 0,05 M; Tris-HCl 0,1 M pH 8,0; β -mercaptoetanol 0,2%). Após a maceração, adicionou-se 50 μ L de SDS 20% para cada amostra, as quais foram posteriormente agitadas por 30 segundos e incubadas a 65 °C por 10 minutos. Em seguida, foram adicionados 300 μ L de acetato de potássio 5 M e a mistura foi centrifugada a 13.200 rpm durante cinco minutos. Transferiu-se 400 μ L

do sobrenadante a outro tubo contendo a mesma quantidade de isopropanol gelado. Após agitação lenta da mistura, procedeu-se uma nova centrifugação a 13200 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e foram adicionados 500 µL de etanol 70,0% ao precipitado. A amostra foi submetida novamente à centrifugação a 13.200 rpm durante 5 minutos e, posteriormente, o sobrenadante foi descartado. O precipitado obtido foi seco em temperatura ambiente e ressuspendido em 150 µL de água mili-Q autoclavada.

4.3.4.3.2 Análise por PCR

Para a diferenciação das espécies de *Colletotrichum gloeosporioides* e *C. acutatum* foram realizados testes preliminares de identificação molecular pela técnica de PCR em isolados obtidos de frutos com sintoma, coletados quinzenalmente. Para a identificação, foram utilizados oligonucleotídeos específicos para *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* e sempre comparados com isolados positivos para cada espécie.

Para a detecção e identificação de *C. gloeosporioides* foram utilizados os oligonucleotídeos CgInt (5'-GGC CTC CCG CCT CCG GGC GG-3') e o ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') descritos por Mills, Sreenivasaprasad e Brown (1992). A reação foi realizada com 25 µL de solução, em água MiliQ, contendo 2 µL do DNA extraído, 2,5 µL do tampão 10X pra PCR, 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de uma mistura de dNTPs, 0,5 µM de cada um dos oligonucleotídeos (CgInt e ITS4) e 0,04 U Taq DNA polimerase. O termociclador foi programado para um ciclo de 30 segundos a 94 °C, 45 segundos a 62 °C e 90 segundos a 72 °C, seguido de um ciclo de 30 segundos a 94 °C, 45 segundos a 60 °C e 90 segundos a 72 °C, finalizando com 33 ciclos de 30 segundos a 94 °C, 45 segundos a 58 °C e 90 segundos a 72 °C.

Para a detecção e identificação de *C. acutatum* foram utilizados os oligonucleotídeos Calnt 2 (5'-GGG GAA GCC TCC CGC GG-3') e o ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') (SREENIVASAPRASAD et al., 1996). A reação foi realizada com 25 µL de solução, em água MiliQ, contendo 2 µL do DNA extraído, 2,5 µL do tampão 10X pra PCR, 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de uma mistura de dNTPs, 0,5 µM de cada um dos oligonucleotídeos (Calnt e ITS4) e 0,04 U Taq DNA polimerase. O termociclador foi programado para um ciclo de 30 segundos a 94 °C, 45 segundos a 62 °C e 90 segundos a 72 °C, seguido de um ciclo de 30 segundos a

94 °C, 45 segundos a 60 °C e 90 segundos a 72 °C, finalizando com 33 ciclos de 30 segundos a 94 °C, 45 segundos a 58 °C e 90 segundos a 72 °C.

Após a amplificação, os produtos das PCRs foram aplicados em gel de agarose 1% contendo 1 mL de solução SYBR Safe® a 1,5 x. A corrida eletroforética foi realizada a corrente constante de 5 volts/cm por 40 minutos. As bandas de DNA foram visualizadas em transiluminador de ultravioleta e fotografadas.

Todas as análises foram realizadas utilizando-se amostras de DNA de isolados padrões das espécies de *C. gloeosporioides* como referência comparando-se com os isolados que vieram do campo.

4.3.4.4 Coleta e avaliação de armadilhas caça-esporos

Dois modelos de armadilha caça-esporos foram utilizados nos experimentos. O primeiro modelo foi confeccionado a partir do corte da parte superior de garrafas de plástico. A parte de cima foi invertida, ficando a parte do gargalo para baixo. Encaixado na parte do gargalo foi colocado um tubo falcon (50 mL) contendo 5 mL de lactoglicerol para impedir a germinação dos esporos. A parte superior da garrafa foi fixada à parte inferior da mesma com fita adesiva. Dois furos foram realizados na parte inferior da armadilha para colocar um fitilho que serviu para amarrar a armadilha à planta (FITZEL; PEAK, 1984). O outro modelo mais simples foi adaptado a partir do primeiro modelo para comportar uma quantidade maior de água já que o tubo falcon utilizado comportava um volume pequeno de água e quando ocorriam chuvas intensas, grande parte da água extravasava perdendo-se parte da amostra. Cortou-se a parte superior de garrafas de plástico. Adicionou-se 10 mL de lactoglicerol dentro da garrafa e esta foi amarrada à planta por um fitilho colocado em dois furos na parte inferior da armadilha (Figura 15). Desse modo o volume final da armadilha foi de aproximadamente 1,5 L.

As armadilhas foram colocadas, aleatoriamente, em cinco plantas de goiabeira, em cada área (A, B e C). A cada coleta, os tubos falcon (50 mL) ou as garrafas contendo água da chuva foram substituídos por tubos ou garrafas contendo 5 mL (tubo) ou 10 mL (garrafa) de lactoglicerol. Os tubos contendo água foram centrifugados a 3000 rpm durante 30 minutos. Posteriormente, descartou-se parte do sobrenadante, deixando 15 mL para ressuspender o pelet formado. Em seguida, foi realizada a contagem de esporos na câmara de Neubauer (ESTRADA; DODD;

JEFFRIES, 1996). Dados médios das concentrações de conídios obtidos para os dois anos de avaliação foram comparados pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Figura 15 – Modelos de armadilhas caça-esporos utilizadas no campo de produção em Campinas, SP (A) e Valinhos, SP (B)

4.4 Resultados

4.4.1 Progresso temporal das doenças quiescentes nos pomares de goiabeiras de Campinas/SP e Valinhos/SP

As doenças pós-colheita de goiabas observadas nas duas áreas avaliadas, em ordem de maior para menor incidência, foram antracnose, pinta preta, podridão de *Fusicocum* e podridão de *Pestalotia*.

Ao tentar ajustar os dados aos modelos mais utilizados para explicar o progresso das doenças, as incidências das doenças estudadas apresentaram um padrão incomum para doenças de causa biótica. Além disso, na última avaliação, realizada em frutos em ponto de colheita comercial e sem o tratamento de imersão em paraquat, o valor da incidência foi inferior ao valor observado em algumas avaliações em frutos imaturos, o que sugere uma superestimação dos dados de incidência. Devido a esse fato, considerou-se que a incidência real foi observada somente na flor e nos frutos em ponto de colheita. Para nos referirmos à incidência nos demais estádios fisiológicos do fruto adotamos incidência potencial.

Na Figura 16 estão representadas as incidências da antracnose, pinta preta, podridão de *Fusicocum* e podridão de *Pestalotia*, bem como as variáveis temperatura mínima, temperatura máxima e precipitação pluviométrica diárias do período de outubro de 2009 a março de 2010.

Chuvas entre 1 e 15 mm ocorreram cinco dias antes da coleta das flores (correspondente ao dias julianos entre 291 e 296), não ocorrendo outros episódios semelhantes durante o período de florescimento (Figura 16).

Figura 16 - Incidência potencial (%) das doenças pós-colheita da goiabeira e variáveis climáticas em Campinas, SP no período de outubro de 2009 a março de 2010. Incidência potencial (%) de antracnose (A), pinta preta (B), podridão de *Fusicocum* (C) e podridão de *Pestalotia* (D) nos diferentes estádios de desenvolvimento de goiabas 'Kumagai', em função da data de amostragem. Frutos provenientes de área experimental sem retiradas dos restos culturais (barras pretas) e com retirada dos restos culturais (barras brancas), após dez dias de armazenamento a 25 °C. Temperaturas (°C) máxima (linha vermelha), mínima (linha azul) e precipitação pluviométrica diária em mm (barras pretas) (E)

Na data da coleta de flores as temperaturas mínima e máxima foram de 17,8 °C e 30,5 °C, respectivamente, para a área com restos culturais e de 19,5 °C e 33,8 °C, respectivamente, para a área sem restos culturais.

O início dos sintomas da antracnose foi observado desde as flores no pomar de goiabas 'Kumagai' de Campinas, no primeiro ano de experimento (Figura 17). A incidência nas flores foi elevada tanto na área com (35,0%) quanto sem restos culturais (34,0%). O fungo foi encontrado isolando-se tanto a pétala quanto a sépala, sendo mais comum na sépala. O período do experimento no primeiro ano foi bastante chuvoso, apresentando chuvas desde o florescimento com pico de mais de 68 mm em um dia. O período do florescimento para as duas áreas ocorreu em momentos distintos, porém as incidências de antracnose foram semelhantes quando as coletas para as duas áreas ocorreram na mesma data.

Figura 17 - Flor de goiabeira 'Kumagai' (A), uma pétala em detalhe (B), 2 dias após a coleta com pontuações de coloração marrom-escura em algumas partes da pétala, característico sintoma de antracnose. Frutos com 2,5 cm de comprimento, 10 dias após imersão em solução de gramoxone, cobertos pela mucilagem alaranjada contendo os conídios do fungo (C)

A incidência da antracnose em frutos coletados no ponto de colheita foi de 56,0% na área com restos culturais e 84,0% na área sem restos culturais. Nas demais avaliações, a incidência de antracnose variou entre 31,0 e 99,0% nas duas áreas avaliadas, não havendo diferença nas incidências entre as áreas com e sem restos de cultura.

Os sintomas das demais doenças observadas tiveram início em frutos a partir de 5,0 a 5,5 cm de comprimento (dia juliano 20), nas duas áreas avaliadas (Figura 16). A pinta preta apresentou incidências potenciais entre 6 e 62% e em frutos no

ponto de colheita a incidência foi de 27,0 e 62,0% para as áreas com e sem restos de cultura, respectivamente. A podridão de *Fusicocum* apresentou incidências potenciais entre 10,0 e 45,0% e em fruto no ponto de colheita foi de 39,0 e 44,0% nas áreas com e sem restos culturais, respectivamente.

A podridão de *Pestalotia*, doença com menor incidência observada nos frutos no ponto de colheita, iniciou com o aparecimento de sintomas em frutos a partir de 5,5 cm de comprimento. Na área com restos culturais, a máxima incidência potencial foi de 21,0%, enquanto na área sem restos culturais, foi de 5,0%. Porém, na última coleta a incidência potencial da doença foi de 0,0 e 2,0%, nas áreas com e sem restos culturais, respectivamente.

No segundo ano de avaliação, como se observou no primeiro ano, a antracnose foi a doença pós-colheita mais frequente em goiabas 'Kumagai', nas duas áreas avaliadas, seguida por pinta preta e *fusicocum* (Figura 18). A podridão de *Pestalotia* permaneceu como a doença observada com menor frequência.

Diferentemente do primeiro ano, onde se observaram incidências de antracnose desde a flor, no segundo ano, a antracnose foi observada a partir de frutos com 3,0 cm, com incidências potenciais entre 10,0 e 16,0% (Figura 18). No primeiro ano, o florescimento ocorreu no mês de setembro, período caracterizado por condições meteorológicas favoráveis à doença e no segundo ano, o período de florescimento ocorreu em julho, época desfavorável à doença, tanto pela ausência de chuvas quanto pela ocorrência de temperaturas amenas. Na data da coleta de flores as temperaturas mínima e máxima foram de 14,9 °C e 29,6 °C, respectivamente, para a área com restos culturais e de 17,5 °C e 29,3 °C, respectivamente, para a área sem restos culturais.

No segundo ano, as chuvas ocorreram em menores frequências e intensidades, com início das chuvas dois meses após o florescimento. A primeira chuva acima de 0,2 mm ocorreu 10 dias antes do aparecimento dos primeiros sintomas nos frutos de 3,0 cm de comprimento. O período do florescimento para as duas áreas ocorreu com aproximadamente uma semana de diferença e as incidências de antracnose foram semelhantes quando as coletas para as duas áreas ocorreram na mesma data, exceto em uma das coletas (Figura 18).

Figura 18 - Incidência potencial (%) das doenças pós-colheita da goiabeira e variáveis climáticas em Campinas, SP no período de março a dezembro de 2010. Incidência potencial (%) de antracnose (A), pinta preta (B), podridão de *Fusicocum* (C) e podridão de *Pestalotia* (D) nos diferentes estádios de desenvolvimento de goiabas 'Kumagai', em função da data de amostragem. Frutos provenientes de área experimental sem retiradas dos restos culturais (barras pretas) e com retirada dos restos culturais (barras brancas), após dez dias de armazenamento a 25 °C. Temperaturas (°C) máxima (linha vermelha), mínima (linha azul) e precipitação pluviométrica diária em mm (barras pretas) (E)

A incidência da antracnose em frutos em ponto de colheita foi de 35,0% e 25,0% nas áreas com e sem restos culturais, respectivamente. A incidência potencial, durante o desenvolvimento dos frutos, variou entre 10,0 e 73,0% nas duas áreas avaliadas.

Os sintomas das demais doenças foram observados a partir da oitava avaliação, apenas nos estádios mais próximos a colheita, quando os frutos apresentavam comprimento de 5,5 cm (dia juliano 298).

As doenças pinta preta e podridão de *Fusicocum* foram observadas em níveis de incidência potencial entre 1,0 e 41% e 3,0 e 19,0%, respectivamente, em frutos a partir de 5,0 a 5,5 cm de comprimento, nas duas áreas avaliadas. Assim como ocorrido para antracnose, incidência de pinta preta foi menor nos segundo ano em relação ao primeiro. Em frutos no ponto de colheita, a incidência de pinta preta foi de 5,0 e 25,0%, para as áreas com e sem restos culturais. A incidência da podridão de *Fusicocum*, em frutos no ponto de colheita, foi de 12,0 e 3,0%, para as áreas com e sem restos culturais, respectivamente.

A podridão de *Pestalotia*, doença com menor incidência observada nas avaliadas, iniciou com o aparecimento de sintomas em frutos a partir de 5,5 cm de comprimento. Na área com restos culturais, a máxima incidência foi de 21,0%, enquanto na área sem restos culturais, foi de 5,0%.

A retirada dos restos culturais antes do início das amostragens e dos frutos caídos durante as amostragens reduziu a incidência de frutos com podridão de *Pestalotia*, representada pela área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), não diferindo estatisticamente para as demais doenças avaliadas. Considerando a incidência potencial em frutos imaturos, a AACPD para antracnose superior às demais doenças, seguida da pinta preta e podridão de *Fusicocum*, cuja AACPD foi estatisticamente igual entre si e a podridão de *Pestalotia*, com AACPD menor entre as doenças avaliadas ($p \leq 0,05$) (Tabela 8).

Tabela 8 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) obtida a partir de 11 avaliações (florescimento a colheita) das doenças pós-colheita incidentes em goiabas 'Kumagai', cultivadas em talhão com e sem retirada dos restos culturais, após dez dias de armazenamento a 25 °C. Média de dois experimentos

Doenças	AACPD	
	Talhão sem restos culturais	Talhão com restos culturais
Antracnose	6277,0 aA	6092,8 aA
Podridão de Fusicocum	775,5 aB	784,25 aB
Pinta Preta	642,5 aB	697,0 aB
Podridão de Pestalotia	116,0 bC	421,5 aC

* Dados seguidos pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, a nível de 5%, pelo teste não paramétrico de comparação de múltiplas proporções (Zar, 1999).

No experimento realizado em Valinhos, SP no período de setembro de 2011 a fevereiro de 2012, observaram sintomas de antracnose a partir da quinta coleta, em frutos com aproximadamente 3,0 cm. As incidências potenciais variaram entre 21,0 e 98,0% no período de desenvolvimento do fruto até o ponto de colheita. O período de florescimento ocorreu em setembro (correspondente aos dias entre 260 e 280). Na data da coleta de flores as temperaturas mínima e máxima foram de 16,6 °C e 33,4 °C, respectivamente. Nesse período, apesar de as temperaturas terem sido mais altas, não choveu (Figura 19).

A primeira chuva superior a 0,2 mm/dia ocorreu 10 dias antes do aparecimento dos primeiros sintomas nos frutos de 3,0 cm de comprimento. No decorrer do experimento, as chuvas foram frequentes e com intensidades variáveis. A incidência potencial da antracnose variou entre 21,0 e 98,7%. Em frutos no ponto de colheita, o valor da incidência para as duas áreas foi de 86,8%.

Os sintomas das demais doenças foram observados a partir da oitava avaliação, apenas nos estádios mais próximos a colheita, quando os frutos apresentavam comprimento de entre 5,5 e 6,0 cm.

A pinta preta apresentou incidências potenciais entre 4 e 10%. O valor da incidência da doença em frutos no ponto de colheita foi de 10,0%.

A incidência potencial da podridão de Fusicocum, bem como nos frutos em ponto de colheita foi de 2,0%.

Em Valinhos, SP, não se observou sintomas de podridão de Pestalotia nos frutos de goiaba 'Kumagai'.

Figura 19 - Incidência potencial (%) das doenças pós-colheita da goiabeira e variáveis climáticas em Valinhos, SP no período de setembro de 2011 a fevereiro de 2012. Incidência potencial (%) de antracnose (barras pretas), pinta preta (barras hachuradas), podridão de *Fusicum* (barras brancas), nos diferentes estádios de desenvolvimento de goiabas 'Kumagai', em função da data de amostragem, após dez dias de armazenamento a 25 °C (A). Temperaturas (°C) máxima (linha vermelha), mínima (linha azul) e precipitação pluviométrica diária em mm (barras pretas) (B)

4.4.1.1 Correlações entre as variáveis meteorológicas e a incidência da antracnose nos campos de produção de goiaba 'Kumagai'

Os coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis meteorológicas (temperatura mínima e máxima do ar e precipitação pluviométrica acumulada) e a incidência de antracnose observada são apresentados na Tabela 9. A incidência das outras doenças avaliadas não apresentou correlação com as variáveis meteorológicas analisadas (dados não apresentados).

As variáveis que apresentaram correlação significativa com a incidência da antracnose foram a temperatura máxima 3 e 5 dias anteriores à coleta de frutos para a área A1 (com restos de culturas) e quando analisaram-se todas as áreas durante os 3 anos de avaliação ($p \leq 0,05$) (Tabela 9).

As elevadas incidências potenciais de antracnose variaram entre 80% e 99%. As temperaturas máximas observadas 3 e 5 dias anteriores às coletas que resultaram nessas elevadas incidências variaram entre 28,7 e 35,7 °C.

Tabela 9 - Coeficientes de correlação linear de Pearson (r) obtidos entre a temperatura mínima média, a temperatura máxima média e precipitação acumulada (mm) (dos 3, 5 e 7 dias anteriores a coleta) e a incidência de antracnose desde as flores até os frutos em ponto de colheita, no período de 2009 a 2011, em Campinas e Valinhos, SP

Ano	Area	Tmín-3	Tmín-5	Tmín-7	Tmáx-3	Tmáx-5	Tmáx-7	P-3	P-5	P-7
2009	A1	0,23	0,26	0,33	0,78*	0,71*	0,56	0,28	0,03	0,31
	A2	0,06	0,02	0,08	0,41	0,27	0,05	0,20	0,02	0,14
2010	A1	0,49	0,40	0,31	0,41	0,06	0,04	0,21	0,24	0,20
	A2	0,62	0,45	0,34	0,43	0,54	0,68	0,48	0,44	0,42
2011	V	0,55	0,53	0,42	0,01	0,12	0,15	0,1	0,21	0,19
Todos	Todas	0,20	0,25	0,28	0,38*	0,30*	0,14	0,06	0,08	0,2

*valores de p significativos a 5%.

A1 – área com restos de cultura

A2 – área sem restos de cultura

Tmín – temperatura mínima (média dos 3, 5 e 7 dias anteriores à coleta de frutos, incluindo o dia da coleta)

Tmáx – temperatura máxima (média dos 3, 5 e 7 dias anteriores à coleta de frutos, incluindo o dia da coleta)

P – precipitação pluviométrica diária (mm) (acumulada nos 3, 5 e 7 dias anteriores a coleta de frutos, incluindo o dia da coleta).

Correlações múltiplas entre temperatura máxima, precipitação pluviométricas (mm) acumulada nos 3, 5 e 7 dias anteriores a cada coleta e a incidência antracnose foram significativas apenas quando se combinaram as variáveis temperatura máxima média dos 3 dias anteriores à coleta e a precipitação pluviométrica acumulada nos 7 dias anteriores à coleta (Tabela 10).

A máxima incidência observada durante o período avaliado (99,0%) ocorreu quando a média da temperatura máxima nos três últimos dias anteriores à coleta foi

de 30,6 °C e a precipitação acumulada nos 7 dias anteriores às coletas foi de 93,2 mm.

Tabela 10 - Coeficientes de correlação linear de Pearson (r) obtidos entre a combinação das variáveis temperatura máxima e precipitação diária (mm) com a incidência de antracnose no período de 2009 a 2011, em Campinas e Valinhos, SP

Variáveis	Tmáx - 3 dias	Tmáx - 5 dias	Tmáx - 7 dias
P-3	0,38	0,30	0,19
P-5	0,38	0,30	0,18
P-7	0,44*	0,35	0,24

*valores de *p* significativos a 5%.

Tmáx – temperatura máxima (média dos 3, 5 e 7 dias anteriores à coleta de frutos, incluindo o dia da coleta)

P – precipitação pluviométrica diária (mm) (acumulada nos 3, 5 e 7 dias anteriores à coleta de frutos, incluindo o dia da coleta).

4.4.1.2 Identificação das espécies de *Colletotrichum* presentes nos frutos

O DNA genômico obtido dos isolados de *Colletotrichum* apresentou quantidade e pureza adequadas para a realização da PCR. As concentrações de DNA obtidos apresentaram rendimento médio de 100,0 ng/μL com razão entre as leituras das absorbâncias 260/280 entre 1,8 e 1,9, sendo ideal de 1,8 a 2,0 (ROMANO, 1998).

Foram obtidos 1274 isolados de frutos coletados do campo que exibiram sintoma de antracnose.

O par de oligonucleotídeo CgInt e ITS4, específico para *C. gloeosporioides*, amplificou um fragmento de 450 pb, para 86,34% dos isolados que puderam ser identificados (Figura 20). Os demais dos isolados não apresentaram banda para nenhuma das espécies de *Colletotrichum* testadas.

Os pares de oligonucleotídeos Calnt2/ITS4, específicos para *C. acutatum* não amplificaram nenhum fragmento para os isolados obtidos.

Figura 20 - Fragmentos amplificados pela PCR utilizando os oligonucleotídeos CgInt e ITS4 (*C. gloeosporioides*), observados em gel de agarose 1%. Amostras: M – marcador molecular 1 kb, CG - isolado padrão de *C. gloeosporioides*, CA - isolado padrão de *C. acutatum*, H₂O – amostra de água mili-q, 1 a 6 - isolados obtidos de frutos com sintoma

4.4.1.3 Coleta e avaliação de armadilhas caça-esporos

Conídios de *Colletotrichum* foram encontrados nas duas áreas avaliadas em Campinas, SP, sendo que na área sem restos culturais o número de conídios encontrado foi maior em relação à área com restos culturais em ambos os anos avaliados (Figura 21). Das 88 amostras obtidas nos experimentos realizados em Campinas, SP, 64,77% delas não tinha esporos, 32,95% apresentaram entre 0,01 e 1×10^5 esporos/ml e 2,28 % apresentaram mais de 1×10^5 esporos/ml, com máximo de $4,7 \times 10^5$ esporos/ml.

No primeiro ano de avaliação das armadilhas o número de conídios encontrado foi maior que no segundo ano, porém não houve diferença estatística da média de números de conídios coletados entre os anos e nem entre as áreas ($p \leq 0,05$) (Tabela 11).

Figura 21 – Concentração de conídios ($\times 10^4$ /mL) de *Colletotrichum* sp. coletados em armadilhas posicionadas em ramos de plantas de goiaba 'Kumagai' em uma área com restos culturais embaixo das plantas (A e C) e sem restos culturais (B e D). Dados representam a média de 5 armadilhas por coleta nos anos de 2009 (A e B) e 2010 (C e D)

Tabela 11 - Concentração conídios médio ($\times 10^4$)/mL de *Colletotrichum* sp. coletados em armadilhas posicionadas em ramos de plantas de goiaba 'Kumagai'. Dados correspondem a média de 12 e 8 coletas, para as áreas com e sem restos de culturas, respectivamente, em dois anos

Área	Ano	
	2009	2010
Área com restos culturais	0,2 Aa	0,25 Aa
Área sem restos culturais	2,26 Aa	0,89 Aa

*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Das 55 amostras obtidas das armadilhas localizadas no experimento realizado em Valinhos, SP, 62,8% delas não tinha esporos, 14,5% apresentaram entre 0,01 e 1×10^5 esporos/ml e 21,2 % apresentaram mais de 1×10^5 esporos/ml (Figura 22). A coleta 11, representada pela média de 5 armadilhas, foi a coleta onde se obteve o maior número de conídios por mililitro ($6,2 \times 10^4$ conídios/mL). Nesta coleta, em uma das armadilhas, observou-se $2,5 \times 10^5$ conídios/mL.

Figura 22 - Concentração de conídios de *Colletotrichum* sp. ($\times 10^4$)/mL coletados em armadilhas posicionadas em ramos de plantas de goiaba 'Kumagai' em uma área com restos culturais embaixo das plantas, em um campo de produção de goiabas em Valinhos, SP. Cada coleta (barra) representa a média de 5 armadilhas coletadas no período de setembro de 2011 a fevereiro de 2012

4.5 Discussão

As principais doenças pós-colheita já relatadas como as mais importantes em goiaba, antracnose, pinta preta e podridão de *Fusicocum* foram as doenças observadas em maior frequência nas áreas avaliadas. A podridão de *Fusicocum*,

embora menos frequentemente relatada, apresentou incidência estatisticamente igual à pinta preta quando comparou-se a área abaixo da curva de progresso da incidência. Em menor frequência e somente em Campinas, SP, observou-se a podridão de Pestalotia.

Considerando que as três principais doenças pós-colheita da goiaba são quiescentes, apenas a antracnose foi observada desde a flor e em frutos a partir de 1,0 cm de comprimento. Moraes (2009) relatou que conídios de *C. gloeosporioides* germinaram e formaram apressórios em frutos de goiabeira com diferentes idades (10, 35, 60, 85 e 110 dias após a queda das pétalas) sem haver diferença significativa entre as idades. A germinação e formação de apressórios foram superiores a 80,0% para todas as idades. Esses resultados mostram habilidade que a espécie tem de sobreviver em condições adversas (frutos imaturos).

As demais doenças foram observadas em frutos com mais de 5,0 cm de comprimento. Diferentemente dos elevados percentuais de germinação e formação de apressórios de *C. gloeosporioides* observados mesmo em frutos imaturos de goiaba, para *Guignardia psidii* a porcentagem de germinação e formação de apressórios de conídios foi baixa mesmo em frutos fisiologicamente maduros (ESCANFERLA, 2007). Porém, houve aumento gradual na germinação e formação de apressório do fungo com o aumento da idade do fruto. Frutos com 10 dias (após o florescimento) apresentaram 8,4% de germinação e 3,2% de formação de apressórios. Frutos em maturidade fisiológica (com 110 dias) apresentaram média final de 43,2% de conídios germinados e 26,4% de apressórios formados (ESCANFERLA, 2007). Segundo a autora, essa baixa porcentagem de germinação de frutos em frutos imaturos pode ter sido influenciada pela maior irregularidade e maior concentração de tricomas na superfície de frutos imaturos em relação a maduros, o que pode ter dificultado a fixação ou germinação dos conídios. Tricomas têm a função de resistência estrutural pré-formada impedindo a formação do filme d'água necessário para a germinação fúngica, além de evitar o contato direto entre as estruturas de infecção do fungo e a superfície do fruto (PASCHOLATI, 2011).

Para o patossistema *Fusicocum* sp.-goiaba, tal como outras partes da planta, os frutos são infectados através de aberturas naturais. Entretanto, apressórios sobre a superfície de maçãs também já foram observados (KIM; PARK; AHN, 1999). As frutas podem ser infectadas no início de seu desenvolvimento, sendo que os sintomas geralmente aparecem quando os níveis de açúcar sobem durante o

amadurecimento, ou durante o armazenamento (JOHNSON et al., 1992; PARKER; SUTTON, 1993). Os níveis de açúcares podem ser limitantes para estimular a germinação. Neste estudo, os primeiros sintomas da podridão foram observados em frutos imaturos a partir de 5,0 cm, estágio no qual os teores de açúcares provavelmente são suficientes para iniciar a germinação e infecção pelo fungo. Além disso, outros fatores podem estar envolvidos na inibição da germinação do fungo em frutos imaturos, mesmo após o tratamento com paraquat.

A ocorrência da antracnose desde a floração é preocupante, pois mostra que além de outras fontes de inóculo, as flores podem contribuir para a dispersão do patógeno durante o desenvolvimento do fruto. Durante o experimento, observaram-se conídios nas armadilhas na maioria das coletas. A água da chuva percorre diferentes partes da planta até chegar ao coletor. Para que as flores apresentassem sintomas, considerando que o produtor de Campinas fazia poda drástica, o inóculo deveria estar nos restos culturais ou em partes da planta.

Como pudemos observar, neste estudo, a incidência da antracnose não foi influenciada pela presença ou não de restos culturais ao redor das plantas. Nesse caso, podemos afirmar que o caule e ramos da planta podem servir de fonte de inóculo para a safra seguinte.

Em condições de campo, conídios de *C. gloeosporioides* dispersos pela chuva em superfícies do hospedeiro podem manter o potencial para infectar e causar antracnose em frutos de mangueira por um período de várias semanas. Esses propágulos podem se manter quiescentes e viáveis até a fase pós-colheita onde podem germinar e causar lesões nos frutos (ESTRADA; DODD; JEFFRIES, 2000). Conídios com capacidade de germinar foram retirados da superfície de mangas maduras um mês após a colheita. Conídios dispersos durante a fase inicial de desenvolvimento do fruto podem ter menos chance de sobreviver até a maturação dos frutos já que são expostos a condições ambientais adversas por longo tempo. Entretanto, conídios depositados tardiamente em frutos em desenvolvimento podem persistir na superfície do hospedeiro até que encontre uma condição favorável para se desenvolver (ESTRADA; DODD; JEFFRIES, 2000).

As coletas das armadilhas foram realizadas tanto em períodos de chuva intensos, quanto em períodos no qual a chuva era esporádica e ocorreu em menor quantidade. Observando dados de chuva do período avaliado no ano de 2009 verificou-se que um maior número de conídios foi coletado em épocas de chuvas

menos intensas. Isso provavelmente ocorreu, pois quando a quantidade de chuva foi intensa, a capacidade do tubo que armazenava a água (50 mL) foi insuficiente, diluindo a concentração de esporos carregados. No experimento realizado em Valinhos, SP, onde as armadilhas comportavam grandes quantidades de água foi possível observar o contrário. Nesse caso, as maiores quantidades de esporos foram encontradas quando ocorreram chuvas mais intensas. Corroborando com esses resultados, uma grande quantidade de conídios de *C. gloeosporioides* foi coletada durante períodos de chuva em uma área de produção de manga e quando estes períodos coincidiram com o florescimento, ocorreram incidências elevadas da antracnose (FITZEL; PEAK, 1984).

A quantidade de esporos coletados nas áreas com e sem restos culturais foi estatisticamente igual, embora no gráfico a quantidade de conídios coletados na área sem restos culturais aparentou ter sido maior. Essa diferença provavelmente não foi distinguida estatisticamente, pois a variação nos valores foi bastante elevada.

A menor quantidade de conídios e o menor número de coletas observados no segundo ano de experimento (2010) provavelmente ocorreram, pois o período de avaliação do primeiro experimento foi de outubro a março, período de maior ocorrência de chuvas, enquanto o segundo experimento foi realizado de julho a dezembro, período no qual as chuvas ocorreram a partir de setembro.

Segundo Estrada e colaboradores (2000), a intensidade da chuva e seu momento de ocorrência durante o desenvolvimento do fruto têm grande influência na incidência de antracnose de manga pós-colheita. Em seu trabalho, três chuvas intensas (~20 mm) um mês antes da colheita resultaram em alta incidência da doença pós-colheita. Portanto, as chuvas mais intensas contribuíram para a ocorrência de altas incidências da doença pós-colheita.

A influência da frequência e intensidade das chuvas na incidência da antracnose também pôde ser observada neste estudo comparando os experimentos em campo. No primeiro experimento realizado em Campinas, entre os meses de outubro a março e no experimento realizado em Valinhos, SP, no período de setembro a fevereiro, observam-se períodos de ocorrência de chuvas mais intensas e mais frequentes. As incidências nos frutos no ponto de colheita para esses dois experimentos foram superiores às observadas no segundo experimento, realizado no período de julho a dezembro. Neste caso, o período de chuvas iniciou-se 2 meses após o florescimento. Em consequência disso, o aparecimento de sintomas

nos frutos ocorreu tardiamente e as incidências em frutos em ponto de colheita foram inferiores, comparado com os outros dois experimentos.

Vários estudos ressaltam a importância da água como principal forma de dispersão de conídios (HARTUNG; BURTON; RAMSDELL, 1981; HINDORF, 2000) bem como na germinação de conídios de espécies de *Colletotrichum* (HARTUNG; BURTON; RAMSDELL, 1981; SOARES, 2008). Em um estudo sobre detecção de infecção quiescente de *Colletotrichum* sp. em mamão, Silva (2010) também observou maiores incidências da mancha chocolate em frutos nos períodos mais chuvosos. Em pêssegos e cerejas, o aumento da duração do período de molhamento também resultou em maiores incidências de podridão parda, apresentando máxima incidência com períodos de molhamento de 15 e 18 horas (BIGGS; NORTHOVER, 1988).

Sabendo-se que a fonte de inóculo de *Colletotrichum* sp. poderia estar nas partes da planta, foram coletados 36 fragmentos da casca (tronco) por planta, de um total de cinco plantas escolhidas aleatoriamente em uma área em Bauru (FISCHER³ comunicação pessoal) e 20 fragmentos na área de Campinas. Os fragmentos foram depositados meio batata-dextrose-água e avaliados posteriormente. Para a área de Bauru, obteve-se o isolamento de *Colletotrichum* sp. em todos os fragmentos. Em Campinas, 11 dos 20 fragmentos resultaram em colônia do fungo. A patogenicidade dos isolados foi confirmada através da inoculação com discos de micélio dos isolados do fungo em frutos de goiabas. Em um experimento concomitante ao realizado neste estudo num pomar de goiabas 'Pedro Sato, em Itajú-SP observou-se a presença de *Colletotrichum* sp. no tronco de goiabeira após um mês do término da colheita (03/2010) e no florescimento da safra seguinte (07/2010), com porcentagem de isolamento de 25,0 e 13,8%, respectivamente, constituindo-se, embora com redução de 44,8% na incidência após a entressafra, em possível fonte de inóculo do patógeno para a próxima safra da cultura (FISCHER comunicação pessoal). Esses resultados confirmam a sobrevivência de *Colletotrichum* sp. nas cascas dos troncos das plantas.

As incidências potenciais das doenças em frutos imaturos, principalmente da antracnose, apresentaram grande variação até os frutos em ponto de colheita. Diversos estudos relatam o fato do tratamento dos frutos com paraquat superestimar

³ FISCHER, I.H. Pesquisador do Instituto Biológico/APTA, Bauru, SP

a incidência de doenças em relação a frutos não tratados (BIGGS, 1995; ADASKAVEG; FÖRSTER; THOMPSON, 2000). Para confirmar esse comportamento nesse estudo, ao final do experimento realizou-se um teste com frutos em ponto de colheita no qual 100 frutos foram imersos em solução de paraquat e 100 frutos foram imersos em água de torneira pelo período de 1 minuto como controle. A incidência de frutos com antracnose no controle foi de 27,3% e nos frutos tratados com paraquat a incidência foi de 100,0%. Essas diferenças também ocorreram para pinta preta, podridão de *Fusicocum* e podridão de *Pestalotia*, em menores proporções.

Em seu trabalho, Silva (2010) utilizou diferentes métodos de detecção de infecções quiescentes e também observou que o tratamento com paraquat superestimou as incidências da mancha chocolate em mamão para diferentes áreas e épocas do ano comparado com o controle. A autora também observou uma variação na incidência da doença ao longo do tempo atribuindo essa variação a fatores do ambiente e práticas de manejo da cultura, não descartando a possibilidade do envolvimento de mecanismos de defesa do hospedeiro que podem ter impedido o desenvolvimento do patógeno.

Considerando que o tratamento dos frutos com paraquat superestima a incidência de doenças, esperava-se que a incidência se mantivesse alta durante todo o período de avaliação. Algumas hipóteses podem explicar a incidência elevada após o tratamento dos frutos imaturos com paraquat e a variação na incidência potencial durante o desenvolvimento dos frutos imaturos.

Em um estudo utilizando microscopia eletrônica de transmissão foi observada a penetração direta de *C. gloeosporioides* na cutícula dos frutos de goiabeira, por meio da formação do *peg* de penetração desenvolvido na base do apressório. O *peg* de penetração foi observado apenas em frutos com 85 e 110 dias após a queda das pétalas, ficando restrito à cutícula do fruto. Em frutos com 60 dias foram observados apenas poros na parede celular do apressório, no local onde provavelmente seria emitido o *peg* de penetração. Em frutos com 10 e 35 dias não foi observado o *peg* de penetração, mas os apressórios permaneceram aderidos à superfície (MORAES, 2009). As elevadas incidências potenciais em frutos imaturos, apesar de em condições naturais não ser possível observar, foram resultantes do tratamento com paraquat, o qual elimina todas as defesas do fruto presentes em condições naturais contra o ataque do patógeno. Portanto, os esporos localizados na superfície do fruto e amplamente distribuídos nas plantas foram favorecidos pelo tratamento resultando

na infecção e posterior colonização dos frutos. Silva (2010) estudou os efeitos de métodos de detecção de infecção quiescente de *Colletotrichum* spp. em mamão e observou que o tratamento com paraquat também superestimou a incidência de mancha chocolate e podridão peduncular nos frutos de mamão.

Muitos fatores relacionados ao patógeno e ao hospedeiro podem estar envolvidos nas etapas que envolvem o processo de infecção de um fungo. Porém, a ativação ou inativação de infecções quiescentes não devem ser resultantes apenas da redução de barreiras físicas induzidas ou pré-formadas e produção de sinais específicos do hospedeiro (fatores de susceptibilidade). Além desses fatores, mudanças nas variáveis ambientais podem alterar tanto a fisiologia do fruto como o desenvolvimento do patógeno o que pode resultar no sucesso da infecção por parte do patógeno (PRUSKY, 1996).

No presente estudo, observou-se uma correlação entre a incidência potencial de antracnose nos frutos e a temperatura máxima que ocorreu nos últimos três dias antes das coletas de frutos associada ou não à precipitação acumulada nos 7 dias anteriores às coletas de frutos.

Incidências potenciais acima de 80,0% foram observadas somente quando a temperatura máxima média nos três dias antes da coleta foi superior a 28,7 °C e/ou quando a precipitação acumulada nos 7 dias anteriores às coletas foi superior a 17,0 mm. Estudos *in vitro* mostraram que conídios de *C. gloeosporioides* germinam nas temperaturas entre 10 e 35 °C, embora a faixa favorável esteja entre 20 e 25 °C e com molhamento acima de 6 horas. A faixa favorável à formação de apressórios foi de 15 a 30 °C, quando a duração do período de molhamento se encontrava acima de 6 horas (SOARES, 2008). A rápida germinação e formação de apressórios em ampla faixa de temperatura indicam habilidade dessa espécie em explorar condições noturnas, com temperaturas mais amenas e prolongado período de orvalho e diurnas, com altas temperaturas, que são características de situações de campo durante o verão (EVERETT, 2003). Nos experimentos *in vivo*, Soares (2008) relatou que a incidência de frutos doentes foi crescente com o aumento da temperatura, do período de molhamento e com o amadurecimento do fruto. A autora ainda afirmou que a maior incidência da doença (100%) observada em frutos de goiaba 'Kumagai' inoculados com o patógeno ocorreu 10 dias após a inoculação com a temperatura de 30 °C e 24 horas de molhamento. Com 6 horas de molhamento, se observou que a incidência de 100% foi alcançada 12 dias após a inoculação, nas temperaturas de

25 e 30 °C. Esses dados confirmam que a duração do período de molhamento influencia o estabelecimento da infecção. A temperatura, por sua vez, determina a rapidez e a extensão da infecção, sendo, portanto, de influência quantitativa (LEITE; AMORIM, 2002).

Considerando que a ação do paraquat elimina possíveis barreiras físicas à penetração do patógeno a incidência nos frutos imaturos deveria ser igualmente elevada nos diferentes estádios de maturação do fruto. Entretanto, outros fatores relacionados ao patógeno e ao hospedeiro podem estar envolvidos no sucesso ou fracasso do patógeno em infectar o fungo.

Algumas hipóteses referentes aos mecanismos de resistência do hospedeiro a doença foram propostos por Swinburne (1983): (I) efeitos do hospedeiro e requerimentos nutricionais do patógeno, (II) compostos anti-fúngicos pré-formados, (III) compostos antifúngicos induzíveis e (IV) ativação de fatores de patogenicidade.

Dentre as hipóteses propostas por Swinburne, o efeito de extratos e voláteis de muitos fungos dominantes, provenientes do filoplano do fruto de goiaba já foram relatados como inibidores do desenvolvimento de *C. gloeosporioides* e *Pestalotia* sp. (PANDEY et al., 1994). Os frutos apresentam uma composição muito variável e por ser um fruto climatérico, a goiaba passa por diversas transformações durante o amadurecimento, as quais podem influenciar no desenvolvimento do patógeno. Durante o amadurecimento, o fruto produz compostos voláteis em concentrações variáveis. Esses compostos podem influenciar tanto na fase da germinação quanto na formação de apressórios, reduzindo as chances de infecção pelo patógeno. A frequência de apressórios produzidos por *M. fructicola* dependeu do estágio fenológico de desenvolvimento do fruto, com numerosos apressórios formados em frutos imaturos (estádio II) e nenhum apressório observado em frutos maduros (estádio III). Os autores também testaram emanações de voláteis de diferentes estádios de nectarina e pêssago. Os resultados demonstraram que compostos voláteis dos estádios iniciais I e II do fruto inibiram a formação de apressório e a germinação do conídio em cerca de 50%, enquanto que compostos voláteis do estágio mais avançado III do fruto elevaram a germinação do conídio e da elongação do tubo germinativo, mas inibiram a formação de apressórios em quase todos os conídios germinados (LEE; BOSTOK, 2006).

Outra possibilidade para ocorrer redução na incidência de antracnose durante o desenvolvimento dos frutos poderia estar relacionada a fatores que influenciam o

desenvolvimento ao patógeno. Como dito anteriormente as condições ambientais são importantes em todas as fases do desenvolvimento do patógeno. Considerando que os frutos foram ensacados com 3,0 cm de comprimento a dispersão e distribuição dos conídios nos frutos ocorreram até este momento, o que corresponde a aproximadamente 45 dias após o florescimento. Antes do ensacamento, pulverizações com fungicida cúprico reduziram, em parte, conídios que estavam na superfície do fruto. Após o ensacamento, os conídios presentes nos frutos permaneceriam quiescentes até a maturação dos frutos. Nesse período que envolve aproximadamente 100 dias as condições ambientais foram variáveis e para que ocorresse a germinação e a formação de apressórios o patógeno requer um período de molhamento contínuo mínimo, condição que não foi observada antes das coletas de frutos que resultaram em incidências menores.

A maioria dos fungos depende da disponibilidade de filme de água para germinar e causar infecção. A água é fator vital para a germinação de esporos e penetração de patógenos fúngicos e bacterianos no hospedeiro (COLHOUN, 1973; VALE; ZAMBOLIM, 1996). Esporos da grande maioria dos fungos fitopatogênicos requerem água livre durante algumas horas na superfície do hospedeiro para germinação e consequente penetração. De modo geral, a incidência e a severidade das doenças estão diretamente relacionadas à quantidade e à duração do período de orvalho (BEDENDO; AMORIM, 2011).

Denham e Waller (1981) mostraram que a chuva é um pré-requisito para a dispersão e germinação de conídios de espécies de *Colletotrichum* para a cultura de citros. Após a chuva foram necessários longos períodos de molhamento para o desenvolvimento da doença. O estudo mostrou que foram necessárias 10 horas de molhamento a 25 °C para germinação de 50% dos conídios. Os autores observaram que períodos de chuvas intensas seguidos de períodos longos de molhamento resultaram em maior incidência de doenças comparados com chuvas menos intensas e curtos períodos de molhamento. Segundo os autores, períodos secos superiores a 6 horas reduzem a viabilidade dos conídios. Portanto, o período seco que antecedeu as coletas que resultaram em menores incidências de antracnose pode ter influenciado a germinação e formação de apressório dos conídios posteriormente.

As quedas nas incidências potenciais da antracnose nos frutos imaturos que ocorreram após o ensacamento dos frutos normalmente foram observadas quando

ocorreu um longo período sem chuva, independente da temperatura. A formação do apressório é fundamental no processo de infecção de muitos fungos quiescentes. O desenvolvimento do apressório passa pelas fases de iniciação, maturação e produção do *peg* de penetração. O papel do apressório é aderir firmemente ao substrato e penetrá-lo ou servir como estrutura de sobrevivência, permanecendo dormente até que condições favoráveis permitam a germinação e infecção (EMMET; PARBERY, 1975). No final da formação do apressório ocorre a deposição de uma camada fina de células na parede externa da membrana plasmática. Esta camada da parede é composta por melanina e tem a função de proteger seu conteúdo da irradiação danosa além do papel crucial no processo de penetração (BAILEY et al., 1992). O tempo é um fator muito importante na formação do apressório, sendo que a maioria das espécies necessita de 6 a 12 horas sob condições favoráveis (EMMET; PARBERY, 1975). Além disso, quanto mais tempo o fungo permanecer na superfície do hospedeiro, mais vulnerável ele ficará à dessecação, à competição com habitantes do filoplano, aos mecanismos de defesa do hospedeiro, à redução dos seus nutrientes de reserva e assim falhar no processo de infecção.

Além dos fatores envolvendo o triângulo da doença que podem determinar a ocorrência da doença, existem fatores externos que podem influenciar a incidência das doenças quiescentes. As baixas incidências potenciais observadas tanto em Campinas, SP como em Valinhos, SP, anteriores ao ensacamento dos frutos devem-se provavelmente à aplicação de fungicidas poucos dias antes das coletas. No entanto, as demais quedas nas incidências potenciais posteriores ocorreram quando os frutos já estavam ensacados.

Estes e outros resultados confirmam que diversos fatores ambientais, fatores específicos presentes no patógeno, presentes no hospedeiro ou ainda formados após a interação entre o patógeno e o hospedeiro podem inibir ou estimular a germinação de esporos em infecções quiescentes (PRUSKY, 1996). A infecção quiescente pode ocorrer em pré e pós-colheita. Contudo, há um predomínio marcante de infecções em pré-colheita com o aparecimento de sintomas em pós-colheita, cabendo salientar que maiores perdas em frutas tropicais podem ser observadas quando inadequada atenção foi dispensada ao controle dessas doenças em pré-colheita (JOHNSON; HEATHER, 1995).

Em relação ao isolamento e identificação de *Colletotrichum* obtido de frutos com sintomas, todos os isolados foram confirmados como sendo da espécie *C.*

gloeosporioides. Em um estudo de caracterização de espécies de *Colletotrichum* sp. obtidas em diferentes campos de produção de goiaba do Estado de São Paulo, 94,0% dos isolados identificados eram *Colletotrichum gloeosporioides* e 6,0% eram *C. acutatum* (PEREIRA, 2010). Os isolados correspondentes a *C. acutatum* eram provenientes de campos de produção localizados em Mirandópolis (região noroeste) e Cafelândia (região centro-oeste).

Comparando os resultados obtidos em frutos no ponto de colheita dos pomares de goiabas 'Kumagai' com a incidência das doenças em frutos coletados na CEASA e na CEAGESP, a incidência de podridões foi elevada e variável para os dois casos, evidenciando a necessidade de mudanças no manejo dessas doenças. No campo a incidências das doenças pós-colheita foi um pouco mais elevada em relação às incidências observadas no mercado atacadista. Fatores relacionados ao manejo de doenças e da condução das plantas podem estar relacionados com essas diferenças. Além disso, no campo, antes dos frutos serem enviados para o mercado atacadista é feita uma pré-seleção de frutos sendo descartados aqueles com danos mecânicos, fisiológicos ou com sintomas de doenças. Portanto, muitos frutos que poderiam apresentar sintomas de doenças, não são enviados ao mercado atacadista, o que reduz a incidência do mercado atacadista em relação ao campo.

As podridões pós-colheita desqualificam a fruta para comercialização e não devem ultrapassar 20% durante a vida útil dos frutos (PAULL, 1999), embora incidências superiores a 40% de doenças pós-colheita em goiabas já tenham sido reportadas em outras situações no Estado de São Paulo (BASSETO et al., 2002; MARTINS et al., 2007).

Considerando que uma das fontes de inóculo da antracnose entre as safras é o próprio tronco das plantas, seria necessário fazer aplicações de fungicidas cúpricos nos troncos e galhos das árvores após a colheita dos frutos e antes da florada seguinte para evitar a disseminação dos esporos para outras partes da planta. Considerando que alguns produtores realizam o ensacamento, aplicações nos troncos e frutos no período que antecede o ensacamento se fazem necessárias, principalmente se o período entre o florescimento e o ensacamento for um período de ocorrência de chuvas, para eliminar possíveis esporos que estejam em partes da planta e possam ser disseminados para os frutos. Dentre os produtores que não realizam o ensacamento e produzem frutos para consumo *in natura*, muitos já seguem as normas da Produção Integrada de Frutas, que permite a utilização de

defensivo quando pelo menos três condições estiverem presentes simultaneamente: condições climáticas favoráveis ao patógeno, população do patógeno suficientemente elevada para causar perdas econômicas e planta em fase fenológica suscetível ao ataque do patógeno. Para essa avaliação o produtor deve saber interpretar os valores das variáveis meteorológicas produzidos pelas estações de aviso. Este estudo pode servir para auxiliar trabalhos futuros que possam contribuir para o controle das doenças quiescentes em goiabas.

Como método de conservação e controle de doenças após a colheita, a temperatura e a umidade relativa são as principais variáveis que influenciam na qualidade das frutas durante o armazenamento e manutenção do produto fresco. Desta forma, a refrigeração e outros métodos alternativos que visam o retardamento do amadurecimento da fruta e reduzem a umidade relativa também atrasam o desenvolvimento de doenças, aumentando o período de vida útil do fruto após a colheita (BENATO, 2002).

4.6 Conclusões

A infecção de *Colletotrichum gloeosporioides* ocorre em flores e frutos imaturos de goiabas. *Guignardia psidii*, *Fusicoccum* sp. e *Pestalotia* sp. infectam somente frutos imaturos.

Temperaturas acima de 30 °C e chuvas frequentes no período de florescimento favorecem a ocorrência de elevadas incidências de antracnose em goiabas em pós-colheita.

Tronco, ramos e flores de goiabeira são fonte de inóculo de *C. gloeosporioides*. Em contrapartida, os restos culturais não contribuem para a epidemiologia das principais doenças quiescentes da goiaba.

A espécie *C. gloeosporioides* encontra-se amplamente distribuída nos pomares da região de Campinas, SP.

Referências

ADASKAVEG, J.E.; FÖRSTER, H.; THOMPSON, D.F. Identification and etiology of visible quiescent infections of *Monilinia fructicola* and *Botrytis cinerea* in sweet cherry fruit. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 84, p. 328-333, 2000.

AMORIM, L.; PASCHOLATI, S.F. Ciclo de relações patógeno-hospedeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 4. ed. São Paulo: Ceres, 2011. v. 1, p. 61-98.

BAILEY, J.A.; O'CONNELL, R.J.; PRING, R.J.; NASH, C. Infection strategies of *Colletotrichum* species. In: BAILEY, A.J.; JEGER, J.M. **Colletotrichum: biology, pathology and control**. Oxford: British Society for Plant Pathology, 1992. p. 88-120.

BARKAI-GOLAN, R. **Postharvest diseases of fruits and vegetables: development and control**. Amsterdam: Elsevier Science, 2001. 418 p.

BASSETTO, E.; SESSO, T.M.; JACOMINO, A.P.; KLUGE, R.A. Efeito de 1-MCP e prochloraz na conservação de goiabas 'Pedro Sato'. **Revista Iberoamericana de Tecnologia Postcosecha**, Sonora, v. 4, p. 122-127, 2002.

BEDENDO, I; AMORIM, L. Ambiente e doença. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 4. ed. São Paulo: Ceres, 2011. v. 1, p. 133-147.

BENATO, E.A. Principais doenças em frutas pós-colheita e métodos alternativos de controle com potencial de indução de resistência. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS, 2., 2002, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, NEFIT, 2002. p. 139-182.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Epidemiologia de doenças de plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011. v. 1, p. 101-117.

BIGGS, A.R. Detection of latent infections in apple fruit with paraquat. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 79, p. 1062-1067, 1995.

BIGGS, A.R.; NORTHOVER, J. Influence of temperature and wetness duration on infection of peach and sweet cherry fruits by *Monilinia fructicola*. **Phytopathology**, v. 78, p. 1352-1356, 1988. Disponível em: <http://www.apsnet.org/phyto/PDFS/1988/Phyto78n10_1352.PDF>. Acesso em: 28 jun. 2010.

BROWN, E.A.; HENDRIX, F.F. Pathogenicity and histopathology of *Botryosphaeria dothidea* on apple stems. **Phytopathology**, Berlin, v. 71, p. 375-379, 1981.

BURDEN, R.S.; COOKE, D.T.; HARGREAVES, J.A. Review: mechanism of action of herbicidal and fungicidal compounds on cell membranes. **Pesticide Science**, Oxford, v. 30, p. 125-140, 1990.

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.

CAVALINI, F.C. **Índices de maturação, ponto de colheita e padrão respiratório de goiabas 'Kumagai' e 'Paluma'**. 2004. 69 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

CENTRO DE PESQUISAS METEOROLÓGICAS E CLIMÁTICAS APLICADAS À AGRICULTURA. **Clima de Campinas**. Disponível em: <<http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima-de-campinas.html>>. Acesso em: 03 abr. 2012a.

_____. **Clima de Valinhos**. Disponível em: <http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima_muni_632.html>. Acesso em: 03 abr. 2012b.

CILLIERS, A.J.; SWART, W.J.; WINGFIELD, M.J. The occurrence of *Lasiodiplodia theobromae* on *Pinus elliotii* seeds in South Africa. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 23, p. 851–860, 1995.

COLHOUN, J. Effects of environment factors on plant disease. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 11, p. 343-364, 1973.

COORDENADORIA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA INTEGRAL. **Projeto Lupa**: mapa das culturas. 2009. Disponível em: <<http://www.cati.sp.gov.br/projetolupa/mapaculturas/pdf/Goiaba.pdf>>. Acesso em: 23 abr. 2012.

DELLAPORTA, S.L.; WOOD, J.; HICKS, J.B. A plant DNA minipreparation: version II. **Plant Molecular Biology Reporter**, Athens, v. 1, n. 1, p. 19-21, 1983.

DENHAM, T.G.; WALLER, J.M. Some epidemiological aspects of post-bloom fruit drop disease (*Colletotrichum gloeosporioides*) in citrus. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 98, p. 65-77, 1981.

DODGE, A.D. The mode of action of bipyridylum herbicides, paraquat and diquat. **Endeavour**, Oxford, v. 30, p. 130-135, 1971.

ECKERT, J.W. Postharvest disease of fresh fruits and vegetables: etiology and control. In: HAARD, N.F.; SALUNKE, D.K. (Ed.). **Postharvest biology and handling of fruits and vegetables**. Westport: The Avi, 1980. p. 81-117.

EMMETT, R.W.; PARBERY, D.G. Appressoria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 13, p. 147-167, 1975.

ESCANFERLA, M.E. **Pré-penetração de *Guignardia psidii* em goiaba: influência da temperatura, duração do molhamento, idade dos frutos e concentração de etileno e dióxido de carbono**. 2007. 88 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

ESTRADA, A.B.; DODD, J.C.; JEFFRIES, P. Effect of humidity and temperature on conidial germination and appressorium development of two Phillippine isolate of the mango anthracnose pathogen *Colletotrichum gloeosporioides*. **Plant Pathology**, Burlington, v. 49, p. 606-618, 2000.

EVERETT, K.R. The effect of low temperatures on *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides* causing body rots of avocados in New Zealand. **Australasian Plant Pathology**, Canberra, v. 32, p. 441-448, 2003.

FISCHER, I.H.; ALMEIDA, A.M.; ARRUDA, M.C.; BERTANI, R.M.A.; GARCIA, M.J.M.; AMORIM, L. Danos em pós-colheita de goiabas na Região do Centro-Oeste Paulista. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 3, p. 570-576, 2011.

FITZELL, R.D.; PEAK, C.M. The epidemiology of anthracnose disease of mango: inoculum sources, spore production and dispersal. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 104, p. 53-59, 1984.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. Goiaba. In: _____. **Agrianual 2012: anuário da agricultura brasileira**. São Paulo, 2012. p. 310.

GODOY, C.V.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Influência da duração do período do molhamento foliar e da temperatura no desenvolvimento da ferrugem do milho causada por *Puccinia polysora*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, p.160-165, 1999.

GONZAGA NETO, L. **Goiaba: produção - aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. 72 p. (Embrapa Informação Tecnológica. Frutas do Brasil, 17).

HARTUNG, J.S.; BURTON, C.L.; RAMSDELL, D.C. Epidemiological studies of blueberry anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Phytopathology**, Saint. Paul, v. 71, p. 449-453, 1981.

HINDORF, H. *Colletotrichum* species causing anthracnose of tropical crops. **Plant Pathology**, Oxford, v. 39, p. 343-366, 2000.

HUBER, L.; GILLESPIE, T.J. Modeling leaf wetness in relation to plant disease epidemiology. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 30, p. 553-577, 1992.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. **Comparativo das exportações brasileiras de frutas frescas – 2009/2010**. Disponível em: <http://www.ibraf.org.br/estatisticas/Exporta%C3%A7%C3%A3o/Comparativo_das_Exporta%C3%A7%C3%B5es_Brasileiras_de_Frutas_frescas_2010-2009.pdf>. Acesso em: 25 mar. 2012.

ISHIKAWA, S. Method to diagnose latent infection by *Glomerella cingulata* in strawberry plants using ethanol. **Journal of General Plant Pathology**, Sapporo, v. 69, p. 372-377, 2003.

_____. Simple diagnosis using ethanol immersion of strawberry plants with latent infection by *Colletotrichum acutatum*, *Dendrophoma obscurans* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*. **Journal of General Plant Pathology**, Sapporo, v. 70, p. 249-255, 2004.

JARVIS, W.R. Latent infection in pré and postharvest environment. **HortScience**, Alexandria, v. 29, n. 5/8, p. 749-751, 1994.

JEFFRIES, C.J.; DODD, N.J.; PLUMBLEY, R.A. The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruit crops. **Plant Pathology**, Oxford, v. 39, p. 343-66, 1990.

JOHNSON, G.I.; HEATHER, N.W. Postharvest disease and pest control in tropical fruit. In: CHAMP, B.R.; HIGHLEY, E. (Ed.). **Postharvest technology for agricultural products in Vietnam**. Canberra: ACIAR, 1995. p. 100-126.

JOHNSON, G.I.; SANGCHOTE, S. Control of postharvest diseases of tropical fruits: challenges for the 21 st century. In: CHAMP, B.R.; HIGHLEY, E. (Ed.). **Postharvest technology for agricultural products in Vietnam**. Canberra: ACIAR, 1994. p. 140-161.

JOHNSON, G.I.; MEAD, A.J.; COOKE, A.W.; DEAN, J.R. Mango stem end rot pathogens: fruit infection by endophytic colonization of the inflorescence and pedicel. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 120, p. 225-234, 1992.

JUNQUEIRA, N.T.V.; ANDRADE, L.R.M.; PEREIRA, M.; LIMA, M.M.; CHAVES, R.C. **Doenças da goiabeira no cerrado**. Planaltina: Embrapa, SPI, 2001. 31 p. (Circular Técnica, 15). Disponível em: <http://www.acagea.org/emanuelmaia2/frut2/goiaba/cirtec_15.pdf>. Acesso em: 09 abr. 2012.

KIM, K.W.; PARK, E.W.; AHN, K.-K. Pre-penetration behavior of *Botryosphaeria dothidea* on apple fruits. **Plant Pathology Journal**, Seoul, v. 15, p. 223-227, 1999.

KIM, K.W. ; PARK, E.W.; KIM, Y.H.; AHN, K.-K.; KIM, P.G.; KIM, K.S. Latency- and defense-related ultrastructural characteristics of apple fruit tissues infected with *Botryosphaeria dothidea*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 91, p. 165-172, 2001.

LATUNDE-DADA, A.O.; O'CONNELL, R.J.; NASH, C.; PRING, R.J.; LUCAS, J.A.; BAILEY, J.A. Infection process and identify of the hemibiotrophic anthracnose fungus (*Colletotrichum destructivum*) from cowpea (*Vigna unguiculata*). **Mycological Research**, Cambridge, v. 100, p.1133-1141.

LEE, M-H.; BOSTOCK, R.M. Induction, regulation, and role in pathogenesis of appressoria in *Monilia fructicola*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, p. 1072-1080, 2006.

LEITE, R.M.V.B.C.; AMORIM, L. Elaboração e validação de escala diagramática para mancha de *Alternaria* em girassol. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 28, p. 14-19, 2002.

LUPO, S.; TISCORNIA, S.; BETTUCCI, L. Endophytic fungi from flowers, capsules and seeds of *Eucalyptus globulus*. **Revista Iberoamericana de Micologia**, Barcelona, v. 18, p. 38-41, 2001.

MANICA, I. Importância econômica. In: MANICA, I.; ICUMA, I.M.; JUNQUEIRA, N.T.V.; SALVADOR, I.O.; MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E. **Fruticultura tropical 6. Goiaba**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2000. p. 9-22.

MARTINS, M.C.; AMORIM, L.; LOURENÇO, S.A.; GUTIERREZ, A.S.D.; WATANABE, H.S. Incidência de danos pós-colheita em goiabas no mercado atacadista de São Paulo e sua relação com a prática de ensacamento de frutos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, p. 245-248, 2007.

MAY-DE MIO, L.L.; MOREIRA, L.M.; MONTEIRO, L.B.; JUSTINIANO JÚNIOR, P.R. Infecção de *Monilinia fructicola* no período da floração e incidência de podridão parda em frutos de pessegueiro em dois sistemas de produção. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 3, p. 227-234, jun. 2008.

MENEZES, M. Considerações epidemiológicas de doenças fúngicas da cultura do inhame. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DO INHAME E DO TARO, 2., 2002, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: EMEPA-PB, 2002. p. 58-67.

MILLS, P.R.; SREENIVASAPRASAD, S.; BROWNS, A.E. Detection and differentiation of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates using PCR. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 98. N.1/3, p. 137-144, 1992.

MORAES, S.R.G. **Infecção e colonização de *Colletotrichum gloeosporioides* em goiaba e infecção de *Colletotrichum acutatum* em folhas de citros**. 2009. 115 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2009.

MOREIRA, L.M.; MAY-DE-MIO, L.L. Metodologia para detecção de infecções latentes de *Monilinia fructicola* em frutas de caroço. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 3, p. 628-633, jun. 2007.

NORTHOVER, J. CERKAUSKAS, R.F. Detection and significance of symptomless latente infections of *Monilinia fructicola* in plums. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ontario, v. 16, p. 30-36, 1994.

O'CONNELL, R.; PERFECT, S.; HUGHES, B.; CARZANIGA, R.; BAILEY, J.; GREEN, J. Dissecting the cell biology of *Colletotrichum* infection processes. In: PRUSKY, D.; FREEMAN, S.; DICKMAN, M.B. (Ed.). ***Colletotrichum: host specificity, pathology and host-pathogen interaction***. Minnessota: APS Press, 2000. Chap. 5, p. 57-77.

PANDEY, R.R.; ARORA, D.K.; DUKEY, R.C. Antagonistic interactions between fungal pathogens and phylloplane fungi of guava. **Mycopathologia**, The Hague, v. 124, p. 31-39, 1994.

PARIKKA, P.; LEMMETTY, A. Tracing latent infection of *Colletotrichum acutatum* on strawberry by PCR. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 110, p. 393-398, 2004.

PARKER, K.C.; SUTTON, T.B. Susceptibility of apple fruit to *Botryosphaeria dothidea* and isolate variation. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 77, p. 385–389, 1993.

PASCHOLATI, S.F. Fisiologia do parasitismo: como as plantas se defendem dos patógenos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011. v. 1, p. 593-633.

PAULL, R.E. Effects of temperature and relative humidity on fresh commodity quality. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 15, p. 263-277, 1999.

PEREIRA, W.V. **Caracterização e identificação molecular de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose da goiaba no Estado de São Paulo**. 2009. 80 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

PICCININ, E.; PASCHOLATI, S.F.; DI PIERO, R.M. Doenças da goiabeira (*Psidium guajava* L.). 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. 401-405.

PIZA Jr., C.T. **A produção integrada de goiaba: uma introdução ao assunto**. 2007. Disponível em: <http://www.nutricaoodeplantas.agr.br/site/ensino/pos/Palestras_>. Acesso em: 18 maio 2012.

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

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.; PLUMBLEY, R.A. Quiescent infections of *Colletotrichum* in tropical and subtropical fruits. In: BAILEY, J.A.; JEGGER, M.J. (Ed.). ***Colletotrichum*: biology, pathology and control**. Wallingford: CAB International, 1992. p. 289-307.

PRUSKY, D.; FREEMAN, S.; DICKMAN, M.B. (Ed.). ***Colletotrichum*: host specificity, pathology, and host-pathogen interaction**. Saint Paul: APS Press, 2000. 393 p.

REDMAN, R.S.; DUNIGAN, D.D.; RODRIGUEZ, R.J. Fungal symbiosis: from mutualism to parasitism, who controls the outcome, host or invader? **New Phytopathology**, Lancaster, v. 151, p.705-716, 2001.

ROMANO, E. Extração de DNA de tecidos vegetais. In: BRASILEIRO, A.C.M.; CARNEIRO, V.T.C. (Ed.) **Manual de transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1998. p.163-177.

ROTEM, J. Climate and weather influence on epidemics. In: HORSFALL, J.G.; DIMOND, A.E. **Plant disease**: how disease develops in populations. New York: Academic Press, 1978. p. 317-436.

ROTEM, J.; COHEN, Y.; BASHI, E. Host and environmental influences on sporulation *in vivo*. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 16, p. 83-101, 1978.

SANTOS-FRANCISCO, V.L.F. dos; BAPTISTELLA, C.S.L.; AMARO, A.A. **A cultura da goiaba em São Paulo**. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?codTexto=1902>>. Acesso em: 03 ago. 2007.

SCHIFFMANN-NADEL, M. Physiological changes occurring in picked climacteric fruit infected with different pathogenic fungi. **Phytopathologische Zeitschrift**, Berlin, v. 113, p. 277-284, 1985.

SILVA, C.F.B. **Desenvolvimento de métodos quiescentes de detecção precoce de infecções quiescentes de *Colletotrichum* spp. em mamão**. 2010. 85 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M.J. Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. **Fungal Biology Reviews**, Amsterdam, v. 21, p. 90-106, 2007.

SMITH, H.; KEMP, G.H.J.; WINGFIELD, M.J. Canker and die-back of *Eucalyptus* in South Africa caused by *Botryosphaeria dothidea*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 43, p. 1031-1034, 1994.

SOARES, A.R. **Infecção e colonização de goiabas por *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento**. 2008. 85 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

SOUZA, O.P.; MANCIN, C.A.; MELO, B. **A cultura da goiabeira**. 2007. Disponível em: <<http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/goiabao.html>>. Acesso em: 27 set. 2011.

SREENIVASAPRASAD, S.; SHARADA, K.; BROWN, A.E.; MILLS, P.R. PCR-based detection of *Colletotrichum acutatum* on strawberry. **Plant Pathology**, London, v. 45, n. 4, p. 650-655, 1996.

SUTTON, J.C. Predictive value of weather variables in the epidemiology and management of foliar diseases. **Fitopatologia Brasileira**, v. 13, n. 4, p. 305-312, 1988.

SWINBURNE, T.R. Quiescent infections in postharvest diseases. In: DENNIS, C. (Ed.). **Postharvest pathology of fruits and vegetables**. London: Academic Press, 1983. p. 1-21.

VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, L. Influência da temperatura e da umidade nas epidemias de doenças de plantas. In: LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.C.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. (Ed.). **Revisão anual de patologia de plantas**. Passo Fundo: Embrapa, CNPT, 1996. v. 4, p. 149-207.

VERHOEFF, K. Latent infections by fungi. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 12, p. 99-110, 1974.

WESTPHALEN, F. **Cultura da goiaba**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2007. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/90634634/Apostila-Do-Cultivo-Da-Goiaba>>. Acesso em: 09 mar. 2012.

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

5 EFEITO DA ATMOSFERA CONTROLADA COM ALTAS CONCENTRAÇÕES DE O₂ ASSOCIADAS A DIFERENTES DOSES DE CO₂ E N₂O NO CONTROLE *IN VITRO* E *IN VIVO* DE *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum* e *Guignardia psidii* EM GOIABAS 'KUMAGAI'

Resumo

O controle de doenças utilizando atmosfera controlada com altos níveis de oxigênio tem sido testado em fruteiras tropicais e subtropicais como alternativa ao uso de agroquímicos para se adequar às normas da Produção Integrada de Frutas e às exigências do mercado externo, as quais restringem o uso de agroquímicos em pós-colheita. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da atmosfera controlada utilizando altas doses de O₂ combinadas com diferentes doses de N₂, CO₂ e N₂O no controle *in vitro* e *in vivo* de *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum* e *Guignardia psidii*, patógenos pós-colheita de goiaba. Para o experimento *in vitro*, discos de micélio dos fungos foram repicados para placas contendo meio batata-dextrose-ágar. As placas foram colocadas em caixas plásticas fechadas e submetidas aos tratamentos de atmosfera controlada (60% O₂ + 40% N₂, 80% O₂ + 20% N₂, 100% O₂ + 0% N₂, 10% CO₂ + 90% O₂, 20% CO₂ + 80% O₂, 30% CO₂ + 70% O₂, 20% N₂O + 80% O₂, 40% N₂O + 60% O₂, 60% N₂O + 40% O₂ e ar atmosférico), por um período de quatro dias, a 25 °C. A avaliação do crescimento micelial foi realizada através da medição do diâmetro das colônias. Para o experimento *in vivo*, frutos de goiaba 'Kumagai' foram inoculados, após desinfestação superficial, com os mesmos patógenos utilizados nos experimentos *in vitro*. Os frutos foram colocados nas caixas fechadas e submetidas aos tratamentos de atmosfera controlada (20% CO₂ + 80% O₂, 30% CO₂ + 70% O₂, 40% N₂O + 60% O₂, 60% N₂O + 40% O₂, 60% N₂O + 20% O₂ + 20% N₂ e ar atmosférico), por um período de quatro dias, a 25 °C. Após o período pré-determinado, realizou-se a avaliação da incidência e da severidade das doenças a cada dois dias. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey (p≤0,05). O tratamento 30% CO₂ + 70% O₂ proporcionou maiores reduções no crescimento micelial comparados ao controle (32,2%, 56,6% e 49,2% para *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* e *Guignardia psidii*, respectivamente). Após 4 dias, frutos submetidos ao tratamento 60% N₂O + 20% O₂ + 20% N₂ apresentaram menores incidências de *C. gloeosporioides* (15,0%) e *C. acutatum* (45,0%) em relação ao controle (85 e 70%, respectivamente). Para *G. psidii*, o tratamento 20% CO₂ + 80% O₂ não apresentou frutos com sintoma 4 dias após o tratamento. Quanto à severidade, o tratamento 60% N₂O + 20% O₂ + 20% N₂ mostrou ser mais eficiente para as espécies de *Colletotrichum*, com redução de 68,5 e 60,2% no diâmetro das lesões para *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, respectivamente, em relação ao controle, 10 dias após incubação. Para *G. psidii*, a combinação 30% CO₂ + 70% O₂ proporcionou uma redução de 33,0% no diâmetro das lesões de pinta preta.

Palavras-chave: Antracnose; Pinta preta; Incidência; Severidade

Abstract

Disease control using controlled atmosphere with high oxygen levels has been tested in tropical and subtropical fruit trees as an alternative to the use of chemicals to suit the requirements of Integrated Fruit Production and the requirements of foreign markets, which restrict the use of post-harvest agrochemicals. The objective of this study therefore was to evaluate the effect of controlled atmosphere using high doses of O₂ combined with different concentrations of N₂, CO₂ and N₂O control *in vitro* and *in vivo* of *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum* and *Guignardia psidii*, post-harvest pathogens of guava. For the *in vitro* experiment, disks of mycelium were transferred to plates containing potato-dextrose-agar medium. The plates were placed in plastic boxes closed and submitted to treatments of controlled atmosphere (60% O₂ + 40% N₂, 80% O₂ + 20% N₂, 100% O₂ + 0% N₂, 10% CO₂ + 90% O₂, 20% CO₂ + 80% O₂, 30% CO₂ + 70% O₂, 20% N₂O + 80% O₂, 40% N₂O + 60% O₂, 60% N₂O + 40% O₂ and air) for a period of four days, at 25 °C. The assessment of mycelial growth was performed by measuring the diameter of the colonies. For the *in vivo* experiment, 'Kumagai' guavas were inoculated, after surface disinfection, with the same pathogens used in experiments *in vitro*. Fruits were packed in sealed boxes and subjected to treatments of controlled atmosphere (20% O₂ + 80% CO₂, 30% CO₂ + 70% O₂, 40% N₂O + 60% O₂, 60% N₂O + 40% O₂, 60% N₂O + 20% O₂ + 20% N₂ and atmospheric air) for a period of four days at 25 °C. After the predetermined period, assessment was carried out in the incidence and severity of disease every two days. The means diameters of fungus colonies were compared by Tukey test ($p \leq 0.05$). The treatment 30% CO₂ + 70% O₂ provided greater reductions in mycelial growth compared to control (32.2%, 56.6% and 49.2% for *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* and *Guignardia psidii*, respectively). After 4 days, fruit subjected to treatment 60% N₂O + 20% O₂ + 20% N₂ showed lower incidences of *C. gloeosporioides* (15.0%) and *C. acutatum* (45.0%) compared to control (85 and 70% respectively). For *G. psidii*, fruit stored on treatment 20% CO₂ + 80% O₂ did not present symptoms, 4 days after treatment. For severity, the treatment 60% N₂O + 20% O₂ + 20% N₂ was more efficient for *Colletotrichum*, with reduction of 68.5 and 60.2% in the diameter of the lesions for *C. gloeosporioides* and *C. acutatum*, respectively, compared to control after 10 days of incubation. For *G. psidii* combining 30% CO₂ + 70% O₂ was reduced by 33.0% in diameter lesions.

Keywords: Anthracnose; Black spot; Disease incidence; Disease severity

5.1 Introdução

O consumo de alimentos produzidos de forma sustentável e consumidores mais exigentes são tendências mundiais. A adoção de boas práticas agrícolas representa uma oportunidade para produzir alimentos livres de substâncias nocivas à saúde e atender ao requisito de uma vida mais saudável.

A produção mundial de frutas cresce 2,85% ao ano, enquanto a produção brasileira vem crescendo a uma taxa média de 1,13% ao ano, desde 1990 (FAO, 2012). A produção nacional de frutas é superior a 40 milhões de toneladas, correspondendo a 6% da produção mundial.

A tecnologia gerada pelos centros de pesquisa e o dinamismo dos produtores colocam o Brasil em uma posição competitiva extremamente favorável para acessar os mercados consumidores mais exigentes (BRASIL, 2011).

Os maiores importadores de frutas frescas brasileiras exigem que os produtores que fornecem frutas estejam de acordo com as normas de programas de certificação, entre os quais se destacam o European Protocol of Good Agricultural Practices (Eurep GAP), da União Européia e o Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS), dos Estados Unidos. Os principais objetivos desses grupos são reduzir o uso de agrotóxicos, minimizar os impactos negativos ao meio ambiente e garantir a qualidade e inocuidade dos alimentos (ANDRIGUETO; KOSOSKY, 2005).

No Brasil, com a publicação da Instrução Normativa N° 56 no Diário Oficial da União, em 26 de outubro de 2010, as empresas que exportam frutas para Europa devem aderir ao Sistema de Produção Integrada de Frutas (PIF). Para obter o selo e garantir as exportações, as empresas passam por auditorias realizadas por uma instituição independente credenciada pelo Inmetro (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial) (CRUVINEL; MASCARENHAS, 2007).

O investimento em certificação e a adequação da propriedade às normas do PIF, além de aumentar a produtividade e a qualidade dos frutos, garante a segurança do alimento (isenção de resíduos físicos, químicos e biológicos) e produção sob os princípios de responsabilidade social e de não agressão ao meio ambiente (CINTRA; VITTI; BOTEON, 2003).

Os métodos de controle alternativos ao uso de agroquímicos mais utilizados são a refrigeração (BARKAI-GOLAN, 2001; KADER 2002), o tratamento térmico (BENATO; CIA; SOUZA, 2001; SPONHOLZ et al., 2004), a aplicação de 1 metaciclopropano (1-MCP), o uso de radiações gama e ultra-violeta (NIGRO et al, 2000) e o armazenamento em atmosfera modificada e controlada (KAYS, 1991; BARKAI-GOLAN, 2001). Dentre esses métodos, a atmosfera controlada tem sido bastante estudada, proporcionando controle de doenças para diversas fruteiras tropicais e subtropicais.

A atmosfera controlada consiste em promover uma concentração de gases na atmosfera ao redor do fruto a níveis constantes e diferentes daqueles encontrados em atmosfera normal (78% N₂, 21% O₂ e 0,03% CO₂) (KADER; ZAGORY; KERBEL, 1989). Esta técnica tem por objetivo estender o período de conservação dos frutos por reduzir a taxa respiratória e retardar os processos bioquímicos da maturação e

senescência, além de suprimir o desenvolvimento de podridões por atuar direta e/ou indiretamente sobre os patógenos (DEWEY, 1977).

A grande maioria dos estudos com atmosfera controlada utilizam níveis de O₂ menores que 8% e concentrações de CO₂ acima de 5%. Porém, Day (1996) relatou que qualquer nível de O₂ acima da concentração ambiente (21%) poderia reduzir podridões, pois os organismos anaeróbios crescem melhor em níveis muito baixos de O₂ e aeróbios crescem melhor em condições atmosféricas. Essa tecnologia também visa evitar a fermentação anaeróbica do produto durante o armazenamento, que produz odores desagradáveis e consequente perda do produto.

É possível encontrar algumas recomendações de atmosfera controlada, sendo a grande parte delas obtida para variedades de goiaba cultivadas em outros países e para condições de baixos níveis oxigênio e elevados para gás carbônico. No Brasil, Teixeira e Durigan (2007) relataram que níveis entre 1,0 e 5,0% de oxigênio associados à temperatura de 12,5 °C foram eficientes no controle de doenças. Em um estudo realizado por Brackmann et al. (2012), a combinação entre O₂ (1 a 2 %) e CO₂ (2 %) foi ótima para conservação da goiaba 'Paluma', porém os autores observaram uma alta incidência de doenças pós-colheita.

Não existem estudos sobre o efeito direto dos gases sobre patógenos associados à goiaba, bem como não se sabe uma combinação de gases utilizados em atmosfera controlada que mantenha a qualidade do fruto associada ao controle de doenças pós-colheita em goiabas. Dessa forma, os objetivos desse trabalho foram (i) avaliar os efeitos da atmosfera controlada, utilizando altas concentrações de oxigênio (O₂) combinada com diferentes concentrações de óxido nitroso (N₂O), gás carbônico (CO₂) e nitrogênio (N₂) no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum* e *Guignardia psidii* e (ii) avaliar as combinações dos melhores resultados obtidos *in vitro* para o controle dos mesmos patógenos em goiabas "Kumagai".

5.2 Revisão Bibliográfica

5.2.1 Métodos de controle de doenças pós-colheita de goiabeira

O aumento do consumo de frutas em geral, está condicionado à melhoria da qualidade dos frutos, sendo o desconhecimento dos processos fisiológicos, da forma adequada de armazenamento e transporte das mesmas, os principais fatores responsáveis pelo elevado número de perdas em pós-colheita no Brasil. Para

aumentar o tempo de conservação e reduzir as perdas é importante que se utilizem práticas adequadas de manuseio durante e após a colheita, bem como no armazenamento e comercialização (CHOUDHURY, 2001).

Para a goiaba destinada ao consumo *in natura* os principais fatores depreciadores da qualidade são a rápida perda da coloração verde da casca, o amolecimento excessivo e a elevada incidência de podridões. Por ser uma fruta altamente perecível quando comercializada *in natura* exige uma rápida colocação no mercado (CERQUEIRA et al., 2009).

Considerando o curto período de vida útil da goiaba após a colheita, é imprescindível o uso de tecnologias de conservação que estendam este período o máximo possível. Os tratamentos fitossanitários durante o processo de pós-colheita tem por objetivo diminuir as atividades metabólicas dos frutos, combater ovos e larvas de mosca-das-frutas e as podridões causadas por fungos e bactérias.

O controle químico ainda é muito utilizado no campo, mesmo sem registro para a cultura pelo efeito rápido e aparentemente eficiente. Para o controle de doenças, os produtores realizam até 8 aplicações de fungicidas cúpricos em frutos com diâmetro igual ou inferior a 3 cm, pois acima deste tamanho alguns produtores ensacam os frutos e outros aplicam outros fungicidas, pois os cúpricos causam fitotoxicidez. Normalmente utilizam tiofanato metílico e prochloraz no controle da antracnose (HAMADA et al., 2009) e outras podridões, porém esses fungicidas não são registrados para essa cultura no Brasil (AGROFIT, 2012).

Além do uso de agroquímicos, o controle da antracnose da goiabeira no campo envolve uma série de medidas culturais e preventivas. Recomendam-se utilizar mudas de procedência conhecida, adotar espaçamentos que permitam bom arejamento, diminuir a umidade e aumentar a insolação no interior das plantas (JUNQUEIRA et al., 2001), podar ramos contendo frutos com sintomas de pragas ou doenças e queimar os resíduos.

As restrições ao uso de agrotóxicos e a adequação dos produtores à Produção Integrada de Frutas (PIF) também aumentam o interesse por tratamentos fitossanitários alternativos em pós-colheita como hidrotermia, uso de fosfitos, cloreto de sódio, frio, atmosfera controlada e modificada, uso de ceras, irradiação, etc.

5.2.2 Atmosfera Controlada

A atmosfera controlada tem sido testada com sucesso em muitas frutas tropicais (USALL et al., 2000; FONSECA; LEAL; CENCI, 2004). Condições de atmosfera controlada atrasam o amadurecimento e senescência dos frutos e consequentemente, reduzem sua susceptibilidade à infecção pelos microorganismos (OLIVEIRA et al., 2006).

Antes do amadurecimento o fruto pode manter sua capacidade de produzir compostos antifúngicos, característica específica de frutos imaturos. Esses efeitos também podem acarretar inibição da doença e atraso na transformação de quiescentes em infecções ativas (JEFFRIES; DODD; PLUMBLEY, 1990; PRUSKY, 1996).

No geral, um nível reduzido de O_2 ou um elevado nível de CO_2 tem efeito inibitório no desenvolvimento de patógenos (WELLS; UOTA, 1970; KADER, 1992; PRUSKY et al., 1997). Esses níveis são inibitórios, pois o oxigênio é necessário para a respiração normal e para o desenvolvimento do patógeno e altas concentrações podem suprimir diretamente o crescimento fúngico, pela redução na respiração (SOMMER, 1985).

Estudos realizados por Kader e Bem-yehoshua (2000), mostraram que concentrações de oxigênio superiores a 21% podem influenciar na fisiologia pós-colheita e na manutenção da qualidade de produtos hortícolas frescos, direta ou indiretamente, através das alterações na produção de CO_2 e de C_2H_4 . O limite do teor de O_2 na atmosfera de conservação pode variar entre espécies e dentro da mesma espécie, dependendo do seu estágio de desenvolvimento. Morangos armazenados em atmosfera com 40, 90 e 100% O_2 apresentaram baixa ocorrência de doenças após 14 dias a 5 °C (WSZELAKI; MITCHAM, 2000). Zheng et al. (2007) também demonstraram que o armazenamento em atmosferas de 40, 60, 80 e 100% O_2 a 21°C reduziu a incidência de doenças em morango “Allstar” sem alterar a coloração.

A elevação da concentração de CO_2 na atmosfera para níveis em torno de 5% suprime a respiração da fruta. Entretanto, níveis elevados podem causar distúrbios fisiológicos, estando relacionados com o tempo e a temperatura de armazenamento. Assim as frutas toleram altos níveis de CO_2 (>20%) por alguns dias, sob baixas temperaturas. Há diferenças quanto à tolerância ao CO_2 também entre espécies e variedades (KADER, 1992). Além de atuar diretamente sobre os patógenos, altas

concentrações de CO₂, aplicadas por períodos curtos, podem induzir a síntese de compostos antifúngicos em frutos (PRUSKY et al., 1985).

Em goiabas, Kader (2009) recomendou uso de atmosferas contendo de 2 a 5% de O₂ e 0 a 1% de CO₂ para goiabas armazenadas entre 5 e 15 °C. Outros estudos relatam que grandes reduções no nível de O₂ associadas ao aumento nas concentrações de CO₂ prejudicam o fruto, quando os níveis de CO₂ foram maiores que 10% (BROUGHTON; LEONG, 1979). Contudo, Castro e Sigrist (1988) relataram injúrias por CO₂ somente quando goiabas foram armazenadas sob atmosfera controlada contendo pelo menos 20% deste gás, após armazenamento a 12 °C.

A atmosfera controlada também permite o uso de gases com efeito fungicida como o óxido nitroso (QADIR; HASHINAGA, 2001a, 2001b), monóxido de carbono (GOFFINGS; HERREGODS, 1989), entre outros.

O óxido nitroso (N₂O) é um gás atmosférico, que apresenta boas propriedades biofísicas, relativa estabilidade, alta solubilidade, estrutura isométrica linear e inibição de crescimento fúngico, semelhante ao CO₂ (EL-GOORANI; SOMMER, 1981) e tem efeito fungicida (QADIR; HASHINAGA, 2001a, 2001b). Existem relatos de experimentos *in vitro* mostrando o efeito fungicida do óxido nitroso em diferentes grupos de fungos como *Botrytis cinerea* e *Rhizopus* spp., que são os principais patógenos que afetam a qualidade do morango (QADIR; HASHINAGA, 2001a). Estudos realizados com N₂O em frutas climatéricas como maçã, caqui e tomate (QADIR; HASHINAGA, 2001a) e em frutas não-climatéricas como morango e tangerina (QADIR; HASHINAGA, 2001a) demonstraram resultados promissores na manutenção da qualidade e na redução de podridões pós-colheita.

Para a aplicação de atmosfera controlada existem diversos equipamentos com custo variável. Um equipamento com excelente custo-benefício é o fluxocentro. Claypool e Keefer (1942) criaram um fluxocentro, com uso da técnica potenciométrica, construído com a finalidade de se estudar a respiração de produtos perecíveis. O modelo proposto por Calbo (1989) foi construído com a finalidade de se aplicar atmosfera controlada no estudo de conservação de produtos hortícolas. O fluxocentro é usado em laboratórios para medidas de respiração, produção endógena de etileno e no preparo de atmosferas com diferentes concentrações de O₂, CO₂, CO ou etileno. Ele é capaz de manter uma determinada concentração de gás, simulando atmosfera controlada, através do controle do fluxo do gás adaptado

de Calbo (1989). As misturas são obtidas com uma adaptação do fluxocentro para receber os diferentes gases, misturá-los e fornecer o fluxo pré-determinado.

5.3 Material e Métodos

5.3.1 Efeito da atmosfera controlada com altas concentrações de O₂ associadas a diferentes doses de N₂, CO₂ e N₂O no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum* e *Guignardia psidii*, isolados de goiaba

Os experimentos utilizando atmosfera controlada foram conduzidos no Laboratório de Pós-colheita do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ-USP.

Isolados de *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* e *Guignardia psidii* foram obtidos de frutos doentes, da variedade Kumagai e cultivados em meio de aveia para *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* e batata-dextrose-ágar (BDA) para *G. psidii*. Placas de Petri contendo as colônias foram mantidas sob luz contínua e temperatura ambiente (± 25 °C).

Para a determinação do crescimento micelial, discos de micélio dos fungos com 0,5 cm de diâmetro, provenientes de colônias com 7 dias de idade, foram repicados para o centro de placas de poliestireno (7,0 e 5,0 cm de diâmetro para *Colletotrichum* sp. e *G. psidii*, respectivamente), contendo meio BDA. As placas contendo os discos de micélio dos respectivos fungos foram acondicionadas em caixas plásticas hermeticamente fechadas e estas foram submetidas aos vários tratamentos de atmosfera controlada sob temperatura de 25 °C. Foram utilizadas 5 placas de cada patógeno por caixa. Os tratamentos foram constituídos por combinações com diferentes concentrações de O₂ com N₂, CO₂ e N₂O, aplicados em sistema de fluxo contínuo. Placas sob fluxo com a composição do ar atmosférico foram utilizadas como controle. As placas permaneceram sob o fluxo contínuo de 200 ml.min⁻¹, por um período de 4 dias. O sistema de fluxo contínuo é composto por uma unidade de controle de fluxo com saídas múltiplas (Figura 23).

Figura 23 - Visão geral da câmara onde se realizou o experimento (A) contendo o sistema de fluxo dos gases com múltiplas saídas, ligado por mangueiras plásticas até as caixas (B) onde as placas de poliestireno contendo cada espécie fúngica em meio batata-dextrose-ágar (BDA) foram submetidas aos diferentes tratamentos

Os fluxos foram estabelecidos através da liberação dos gases do cilindro por reguladores de pressão de duplo estágio e de capilares com pressão estabilizada em coluna d'água de 60 cm. Durante o armazenamento a composição gasosa no interior dos recipientes foi monitorada utilizando-se analisador de gases.

Os experimentos realizados foram: a) 60% O₂ + 40% N₂, b) 80% O₂ + 20% N₂, c) 100% O₂ + 0% N₂, d) 10% CO₂ + 90% O₂, e) 20% CO₂ + 80% O₂, f) 30% CO₂ + 70% O₂, g) 20% N₂O + 80% O₂, h) 40% N₂O + 60% O₂, i) 60% N₂O + 40% O₂ e j) ar atmosférico.

Após o período pré-determinado, realizaram-se avaliações da incidência (% de frutos doentes) e da severidade, através da medição do diâmetro das colônias, por meio da média de duas medidas perpendiculares. Após a retirada dos frutos dos tratamentos a incidência e severidade foram avaliadas por mais 6 dias totalizando 10 dias desde o início do tratamento.

O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado. Foram utilizadas 5 placas, contendo disco de micélio, para cada tratamento. O experimento foi realizado duas vezes, simultaneamente para *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* e *G. psidii*.

O efeito dos gases no crescimento micelial dos isolados foi analisado por meio da comparação de médias dos dados de diâmetro da colônia pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

5.3.2 Efeito da atmosfera controlada com altas concentrações de O₂ associadas a diferentes doses de CO₂ e N₂O no controle *in vivo* de *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum* e *Guignardia psidii*, em goiabas ‘Kumagai’

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pós-colheita do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ–USP.

Isolados de *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* e *Guignardia psidii* foram obtidos de frutos doentes, da variedade ‘Kumagai’ e cultivados em meio BDA. Placas de Petri contendo as colônias foram mantidas sob luz contínua e temperatura ambiente (± 25 °C) por sete dias.

Após esse período, foi preparada a suspensão de conídios das duas espécies de *Colletotrichum* adicionando-se 20 mL de água destilada esterilizada em uma placa de cada espécie fúngica e, em seguida, se raspou as colônias com o auxílio de uma alça de Drigalski. As suspensões foram calibradas para 10^5 esporos/mL em câmara de Neubauer. Para inoculação de *Guignardia psidii* utilizou-se disco de micélio de colônias do fungo incubadas a 25 °C durante sete dias.

Frutos da variedade Kumagai foram provenientes de lotes uniformes, com goiabas de tamanho médio, sem defeitos, colhidas quando a cor da casca começou a mudar de verde-escuro para verde-claro, baseado nos índices de firmeza (N) e cor da casca ($^{\circ}$ h), determinados por Cavalini (2004).

Os frutos foram desinfestados com hipoclorito de sódio 0,5% durante 3 minutos e posteriormente lavados em água corrente para retirada do excesso do produto. Depois de secarem em temperatura ambiente, os frutos foram acondicionados em bandejas de isopor e estas, em caixas plásticas (Figura 24). Os frutos inoculados com *Colletotrichum* sp. foram perfurados com agulha histológica posteriormente à deposição de 50 μ L da suspensão correspondente à espécie

fúngica e os frutos que foram inoculados com *Guignardia psidii* foram perfurados com furador de 3 mm de diâmetro e 0,5 cm de profundidade e posteriormente colocaram-se os discos de micélio de *Guignardia psidii*.

Figura 24 - Caixas plásticas hermeticamente fechadas contendo frutos de goiaba inoculados com *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum* e *Guignardia psidii* submetidos aos diferentes tratamentos de atmosfera controlada

Após a inoculação, as caixas foram hermeticamente fechadas e submetidas aos tratamentos de atmosfera controlada que apresentaram maior inibição no crescimento micelial *in vitro* das espécies fúngicas testadas, sob temperatura de 25 °C. Os tratamentos foram: a) 20% CO₂ + 80% O₂, b) 30% CO₂ + 70% O₂, c) 40% N₂O + 60% O₂, d) 60% N₂O + 40% O₂, e) 60% N₂O + 20% O₂ + 20% N₂ e f) ar atmosférico. Esses tratamentos foram determinados com base nos resultados de crescimento micelial obtidos, assim como a combinação 60% N₂O + 20% O₂ + 20% N₂ que se mostrou inibitória a antracnose em experimento preliminar, para avaliação *in vivo*, através da inibição da antracnose e da pinta preta em goiabas 'Kumagai'.

Os gases foram aplicados em sistema de fluxo contínuo. Frutos sob fluxo com a mesma composição do ar atmosférico foram utilizados como controle. Os frutos permaneceram sob o fluxo de gases por um período de 4 dias.

Após o período pré-determinado, os frutos foram acondicionados em câmaras de crescimento (Incubadora B.O.D, modelo EL 202) a 25 °C. Realizaram-se avaliações diárias de incidência e da severidade das doenças através da medição do diâmetro das lesões, por meio da média de duas medidas perpendiculares, desde o dia da retirada dos frutos dos tratamentos até a senescência dos mesmos.

O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado. Foram utilizados 10 frutos para cada tratamento para cada espécie fúngica analisada,

totalizando 180 frutos por tratamento. Outros dois experimentos análogos foram realizados posteriormente. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

5.3.2.1 Análises físico-químicas dos frutos

As goiabas foram submetidas a análises físico-químicas no dia da instalação do experimento (caracterização do lote) e ao final do tratamento (4 dias após o início do experimento). Os parâmetros avaliados foram: cor da casca, firmeza, sólidos solúveis e acidez titulável.

A cor da casca foi determinada com o colorímetro Minolta, modelo CR-300, com a configuração de sistema de cor L C h, iluminante D 65 e observador padrão 2º. Foram realizadas duas leituras por repetição, em lados opostos da região equatorial do fruto, e os resultados expressos em ângulo de cor ($^{\circ}h$), de acordo com McGuirre (1992).

A firmeza foi determinada com um penetrômetro digital, com ponteira de 8 mm na região equatorial do fruto, após a retirada da casca, realizando-se duas leituras por fruto. Os resultados foram expressos em Newton.

O Teor de sólidos solúveis (SS) foi obtido pela leitura direta em um refratômetro da marca Atago, modelo Pallette-101 e os resultados expressos em $^{\circ}Brix$.

A acidez titulável (AT) foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Carvalho et al. (1990) e os resultados expressos em porcentagem de ácido cítrico na polpa.

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, utilizando-se 3 repetições de 5 frutos para cada tratamento e período de análise. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

5.4 Resultados

5.4.1 Efeito da atmosfera controlada com altas concentrações de O₂ associadas a diferentes doses de CO₂ e N₂O no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum* e *Guignardia psidii*, isolados de goiaba

Após o período de 4 dias, verificou-se uma redução significativa no crescimento micelial dos isolados testados para os tratamentos utilizados em relação ao controle, exceto nos tratamentos utilizando N₂ para as espécies de *Colletotrichum*, (Figura 25). Após a segunda avaliação (48 horas após a primeira) observou-se crescimento normal das colônias mostrando que o efeito dos gases foi fungistático.

A combinação de gases que resultou na maior inibição do crescimento micelial dos isolados foi CO₂ + O₂ (Figura 25). A máxima concentração de CO₂ utilizada (30% CO₂ + 70% O₂) proporcionou os melhores resultados com reduções no crescimento micelial de 32,2% para *C. gloeosporioides* e 56,6% para *C. acutatum* (Tabela 7). Para *Guignardia psidii* o melhor tratamento utilizando CO₂ foi 20% CO₂ + 80% O₂ com redução de 49,2% no crescimento micelial. Os tratamentos 20% CO₂ + 80% O₂ e 30% CO₂ + 70% O₂ além de reduzirem significativamente o crescimento micelial dos fungos avaliados foram os únicos que inibiram o crescimento de outros microorganismos nas placas (Figura 25).

Os tratamentos que utilizaram a combinação N₂O e O₂ foram mais eficientes para *G. psidii* do que para *Colletotrichum* com até 41,6% de redução no crescimento micelial (Tabela 7) para o tratamento 60% N₂O + 40% O₂. Para as espécies de *Colletotrichum*, os tratamentos 40% N₂O + 60% O₂ e 60% N₂O + 40% O₂ diferiram da testemunha, porém as reduções no crescimento foram de apenas 16,3% e 12,9%, respectivamente.

A combinação N₂ + O₂ foi a que menos afetou o crescimento da colônia em relação ao controle, sendo eficiente somente para *G. psidii* com redução de 29,9% no crescimento micelial para o tratamento 20% N₂O + 80% O₂. Para os demais isolados não houve diferença significativa entre os tratamentos ($p \leq 0,05$) (Tabela 12).

Figura 25 - Crescimento micelial de isolados de *C. gloeosporioides* (1ª. linha), *C. acutatum* (2ª. linha) e *G. psidii* (3ª. linha), 4 dias após serem submetidos a tratamentos utilizando diferentes concentrações de gases em atmosfera controlada

Tabela 12 - Crescimento micelial, expresso em diâmetro da colônia (cm), de isolados de *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* e *G. psidii*, 4 dias após serem submetidos a tratamentos utilizando diferentes concentrações de gases em atmosfera controlada

Tratamento	Diâmetro da colônia (cm)		
	<i>C. gloeosporioides</i>	<i>C. acutatum</i>	<i>G. psidii</i>
Controle	5,74 d	3,48 c	1,56 b*
60% O ₂ + 40% N ₂	5,595 d	2,925 c	1,525 ab
80% O ₂ + 10% N ₂	5,445 d	2,99 c	1,095 a
100% O ₂ + 0% N ₂	5,605 d	3,185 c	1,37 ab
Controle	5,74 d	3,48 c	1,56 b
10% CO ₂ + 90% O ₂	5,22 c	2,315 b	1,035 a
20% CO ₂ + 80% O ₂	4,56 b	1,63 ab	0,792 a
30% CO ₂ + 70% O ₂	3,895 a	1,515 a	1,015 a
Controle	5,74 d	3,48 c	1,56 b
20% N ₂ O + 80% O ₂	5,78 d	3,33 c	1,075 a
40% N ₂ O + 60% O ₂	4,81 b	2,375 b	0,975 a
60% N ₂ O + 40% O ₂	5,01 b	2,695 bc	0,91 a

* Dados seguidos pela mesma letra, maiúscula na coluna, não diferem entre si, no nível de 5%, pelo teste de Tukey (p≤0,05).

5.4.2 Efeito da atmosfera controlada com altas concentrações de O₂ associadas a diferentes doses de CO₂ e N₂O no controle *in vivo* de *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. acutatum* e *Guignardia psidii* em goiabas 'Kumagai'

Houve um comportamento diferente das espécies de *Colletotrichum* e *Guignardia psidii* em relação às combinações de gases utilizadas. No momento da retirada dos frutos dos diferentes tratamentos em atmosfera controlada, a incidência dos frutos tratados foi significativamente reduzida em relação ao controle e o efeito dos tratamentos foi diferente para os patógenos avaliados (Tabela 13).

Para *C. gloeosporioides*, todos os tratamentos diferiram estatisticamente do controle, porém o tratamento 60% N₂O + 20% O₂ + 20% N₂ foi o que apresentou menor incidência de frutos com sintomas (15,0%) (Tabela 13). Para *C. acutatum*, apenas os tratamentos 60% N₂O + 20% O₂ + 20% N₂, 30% CO₂ + 70% O₂ e 40% N₂O + 60% O₂ diferiram do controle, com valores de incidência entre 35,0 e 45,0%. Para *G. psidii*, os tratamentos que diferiram do controle foram: 20% CO₂ + 80% O₂, 30% CO₂ + 70% O₂ e 60% N₂O + 20% O₂, sendo que o primeiro inibiu totalmente o

desenvolvimento do fungo no período do tratamento até a retirada do fruto da atmosfera controlada (Tabela 13). Porém, aos 6 dias após a retirada dos frutos dos tratamentos a incidência de frutos doentes alcançou níveis elevados (85,0 a 100,0%) para todos os tratamentos, sem diferença significativa entre os tratamentos.

Tabela 13 - Incidência (%) de *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* e *G. psidii*, 4 dias após serem submetidos a tratamentos utilizando diferentes concentrações de gases em atmosfera controlada

Tratamento	Incidência (%)		
	<i>C. gloeosporioides</i>	<i>C. acutatum</i>	<i>G. psidii</i>
Controle	85,0 d	70,0 b	80,0 d
20% CO ₂ + 80% O ₂	60,0 c	75,0 b	0,0 a
30 % CO ₂ + 70% O ₂	50,0 bc	35,0 a	10,0 b
40% N ₂ O + 60% O ₂	50,0 bc	35,0 a	70,0 cd
60% N ₂ O + 40% O ₂	25,0 ab	60,0 ab	50,0 c
60% N ₂ O + 20% O ₂ **	15,0 a	45,0 a	65,0 cd

* Dados seguidos pela mesma letra, minúscula na coluna, não diferem entre si, no nível de 5%, pelo teste de Tukey. Previamente às análises, os dados de incidência foram transformados para arcoseno $(x/100)^{1/2}$.

**Para completar 100%, acrescentou-se 20% N₂ na composição gasosa, um gás inerte que não interfere na ação dos demais gases.

Para as espécies de *Colletotrichum*, a combinação 60% N₂O + 20% O₂ + 20% N₂ foi a que proporcionou maior redução na severidade da antracnose em frutos de goiaba 'Kumagai': 68,5% para *C. gloeosporioides* e 60,2% para *C. acutatum*. Para *C. gloeosporioides*, além deste tratamento, 60% N₂O + 40% O₂ também foi eficiente e reduziu em 52,0% a severidade da antracnose. Os demais tratamentos não diferiram da testemunha pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Para *C. acutatum*, os demais tratamentos não diferiram da testemunha (Figura 26 e Tabela 14).

Para *G. psidii*, o melhor tratamento foi 30% CO₂ + 70% O₂, o qual proporcionou uma redução de 33,0% em relação à testemunha pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Os demais tratamentos não diferiram da testemunha.

Figura 26 - Diâmetro da lesão de isolados de *C. gloeosporioides* (1ª. linha), *C. acutatum* (2ª. linha) e *G. psidii* (3ª. linha) em goiabas 'Kumagai', 10 dias após serem submetidos a diferentes concentrações de gases em atmosfera controlada durante um período de 4 dias

Tabela 14 - Severidade, expressa em diâmetro da lesão (cm), em frutos inoculados com isolados de *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* e *G. psidii*, 10 dias após serem submetidos a tratamentos utilizando diferentes concentrações de gases em atmosfera controlada durante 4 dias

Tratamento	Diâmetro da colônia (cm)		
	<i>C. gloeosporioides</i>	<i>C. acutatum</i>	<i>G. psidii</i>
Controle	4,63 b	2,49 bc	2,87 b*
20% CO ₂ + 80% O ₂	4,46 b	2,62 bc	2,37 ab
30 % CO ₂ + 70% O ₂	4,41 b	2,97 c	1,94 a
40% N ₂ O + 60% O ₂	3,70 b	1,27 ab	2,84 b
60% N ₂ O + 40% O ₂	2,25 a	2,24 abc	2,29 ab
60% N ₂ O + 20% O ₂ **	1,46 a	0,99 a	2,32 ab

* Dados seguidos pela mesma letra, minúscula na coluna, não diferem entre si, no nível de 5%, pelo teste de Tukey.

**Para completar 100%, acrescentou-se 20% N₂ na composição gasosa, um gás inerte que não interfere na ação dos demais gases.

As goiabas 'Kumagai' previamente selecionadas quanto à uniformidade de cor da casca e ausência de defeitos apresentaram inicialmente, na média das duas repetições do experimento, 103,1 °h de cor da casca, 41,9 N de firmeza da polpa, 9,5 °Brix de sólidos solúveis e 0,69% ácido cítrico de acidez titulável. As características físico-químicas dos frutos após os quatro dias de exposição aos gases em atmosfera controlada estão apresentadas na Tabela 15.

Tabela 15 - Características físico-químicas de goiabas 'Kumagai' expostas por 4 dias a diferentes concentrações de gases em atmosfera controlada

Tratamentos	Cor da casca (°h)	Firmeza da polpa (N)	Sólidos solúveis (°Brix)	Acidez titulável (g.100g ⁻¹)
Controle	92,7 b	25,7 a	8,9 a	0,61 a
20% CO₂ + 80% O₂	89,0 a	20,7 a	7,7 a	0,59 a
30% CO₂ + 70% O₂	91,3 ab	33,7 a	8,2 a	0,65 a
40% N₂O + 60% O₂	91,7 ab	16,5 a	8,9 a	0,64 a
60% N₂O + 20% O₂	93,3 b	27,1 a	8,1 a	0,63 a
60% N₂O + 40% O₂	90,7 ab	18,5 a	8,5 a	0,62 a
C.V.(%)	1,7	42,1	6,0	7,9

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

5.5 Discussão

Os tratamentos que utilizaram gás carbônico (CO₂) foram os eficientes na redução do crescimento micelial para todos os patógenos, enquanto que os tratamentos que utilizaram nitrogênio atmosférico (N₂) não foram eficientes para nenhum deles.

Os estudos dos patógenos pós-colheita em meio de cultura visam verificar o efeito direto da mudança na atmosfera na fisiologia do organismo, eliminando os efeitos indiretos de resistência do fruto, bem como a interferência de compostos do fruto que se alteram com o amadurecimento. No presente estudo, observou-se tanto a diferença dos tratamentos para os patógenos avaliados, quanto os diferentes efeitos dos tratamentos para um mesmo patógeno.

Redução no crescimento micelial de *C. gloeosporioides* já foi relatado por Vieira e colaboradores (2006), quando este patógeno foi submetido à atmosfera controlada contendo 3,0% O₂ e 6,0% CO₂ sob temperatura de 25°C.

O uso da atmosfera controlada, segundo Do e Salunkhe (1979) é uma das inovações mais importantes no armazenamento de frutas e hortaliças, desde a

introdução da refrigeração mecânica. Os estudos *in vivo* mostraram resultados um pouco diferentes dos obtidos *in vitro*, devido ao fato da atmosfera controlada não mais atuar somente sobre o patógeno e sim sobre a interação patógeno-fruto.

Atmosferas contendo CO₂ apresentaram a mesma eficiência *in vitro* e *in vivo* considerando-se a incidência de frutos doentes após 4 dias em atmosfera controlada. Porém, se considerarmos a severidade 5 dias após a retirada do tratamento, para as espécies *Colletotrichum*, os tratamentos com óxido nitroso (N₂O) foram mais eficientes, enquanto para *G. psidii* o tratamentos contendo a máxima concentração de gás carbônico permaneceu como mais eficiente.

A mistura de gases deve ser escolhida conforme as necessidades específicas do produto, mas não quer dizer que uma combinação seja eficiente para diferentes doenças. Além disso, como foi observado, o efeito dos gases nos fungos é diferente de quando se coloca o fungo em contato com o fruto.

Existem alguns estudos mostrando os benefícios do uso de altas concentrações de O₂ combinadas com N₂, N₂O e CO₂ na redução da taxa respiratória de frutos de morango (ALLENDE et al., 2007), redução na ação e síntese de etileno (FATH et al., 1990), retardamento na maturação, redução de doenças e manutenção das características organolépticas. Porém esses estudos só foram feitos em frutos, podendo ser a redução da incidência de doenças devido à ação dos gases diretamente no patógeno ou indiretamente pelo retardamento na maturação nos frutos.

No presente estudo observou-se que as elevadas concentrações de O₂ combinadas com diferentes concentrações de N₂O e CO₂ reduziram tanto o crescimento micelial quanto o diâmetro das lesões nos frutos, com diferenças nas concentrações que desfavoreceram somente o fungo e após o contato do fungo com o fruto.

O uso de atmosfera com concentrações superiores a 70% de O₂ tem produzido bons resultados na inibição do crescimento bacteriano, leveduras e fungos, além da redução da taxa respiratória dos vegetais (ALLENDE et al., 2002; VAN der STEEN et al., 2002).

A possível explicação para que a atmosfera com altas concentrações de O₂ inibe o surgimento de doenças *in vivo*, é que ela induz o mecanismo de defesa do vegetal, aumentando a resistência a doenças na fase pós-colheita (ZHENG; YANG; CHEN, 2008).

Neste trabalho foi possível verificar essa eficácia fungistática do óxido nitroso *in vivo* no patossistema *Colletotrichum*-goiaba, com redução de severidade de até 69,00%, considerando o armazenamento em temperatura ambiente.

O dióxido de carbono (CO₂) em determinadas concentrações pode influenciar no processo de infecção de diversos patógenos em frutos e vegetais perecíveis. Sob elevados níveis de dióxido de carbono, a maioria dos patógenos é inibido pela redução na taxa de diversas rotas metabólicas, resultando na diminuição da respiração (ADAIR, 1971).

No presente estudo, atmosferas utilizando CO₂ foram eficientes na redução da incidência e severidade de *Guignardia psidii* em goiabas. Corroborando com esses resultados, Escanferla (2007) relatou que diferentes concentrações de dióxido de carbono (3, 6 e 12%) durante um período de 12 horas resultaram na redução da porcentagem de germinação e formação de apressórios e apressórios melanizados de *Guignardia psidii in vitro*. Nos estudos *in vivo*, reduções na germinação e formação de apressórios foram observadas nas concentrações de 3 e 6% de CO₂.

De maneira geral, as diferentes concentrações de CO₂ e N₂O não influenciaram no processo de maturação das goiabas 'Kumagai' após quatro dias de exposição aos gases, exceto pela maior coloração amarela dos frutos tratados com 20% CO₂ + 80% O₂ em relação ao tratamento controle.

A atmosfera controlada, diferentemente de outros métodos alternativos, mantém as características físico-químicas semelhantes ao fruto controle, porém com menor incidência de doenças. Além disso, os níveis de acidez, açúcares e vitamina C são pouco alterados, portanto também mantém as qualidades nutricionais.

Estudos têm demonstrado que atmosferas com altos níveis de O₂ podem influenciar positivamente na fisiologia e na manutenção da qualidade de produtos vegetais, inibindo o escurecimento enzimático, prevenindo a fermentação anaeróbica e alterando o desenvolvimento de microorganismos aeróbicos e anaeróbicos (KADER; BEM-YEHOSHUA, 2000; VAN der STEEN et al., 2002).

No presente trabalho verificaram-se os benefícios de atmosferas com altos níveis de O₂ tanto no controle de doenças pós-colheita como na manutenção das características físico-químicas. Esses resultados mostram o elevado potencial desse método no controle de doenças pós-colheita, principalmente para goiabas produzidas para exportação.

Este estudo foi realizado na temperatura de 25 °C para verificar o efeito dos tratamentos nas condições favoráveis ao desenvolvimento do fruto. Segundo Do e Salunke (1979), combinada com a refrigeração, a atmosfera controlada retarda de forma decisiva a atividade respiratória, o amolecimento, as mudanças de coloração e qualidade, prolongando ainda mais o período de vida útil após a colheita.

5.6 Conclusões

O armazenamento de frutos em atmosfera controlada com a combinação 30% CO₂ + 70% O₂ durante quatro dias reduz consideravelmente a incidência da antracnose e pinta preta da goiaba 'Kumagai'.

Referências

ADAIR, C.N. Influence of controlled-atmosphere storage conditions on cabbage post-harvest decay fungi. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 55, p. 864-868, 1971.

AGROFIT – Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 18 jul. 2012.

ALLENDE, A.; JACXSENS, L.; DEVLIEGHERE, F.; DEBEVERE, J.; ARTÉS, F.; Effect of super atmospheric oxygen packaging on sensorial quality, spoilage, and *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas caviae* growth in fresh processed mixed salads. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 65, p. 1565–1573, 2002.

ALLENDE, A.; MARÍN, A.; BUENDÍA, B.; TOMÁS-BARBERÁN, F.; GIL, M.I. Impact of combined postharvest treatments (UV-C light, gaseous O₃, super atmospheric O₂ and high CO₂) on health promoting compounds and shelf-life of strawberries. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 46, n. 3, p. 201-211, 2007.

ANDRIGUETO, J.R.; KOSOSKY, A.R. Desenvolvimento e conquistas da produção integrada de frutas no Brasil. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PRODUÇÃO INTEGRADA DE FRUTAS, 7., 2005, Fortaleza. p. 28-36. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT-2010/9126/1/Dc-099.pdf>>. Acesso em: 16 maio 2012.

BARKAI-GOLAN, R. **Postharvest diseases of fruits and vegetables**: development and control. Amsterdam: Elsevier Science, 2001. 418 p.

BENATO, E.A.; CIA, P.; SOUZA, N.L. Manejo de doenças de frutas pós-colheita.

Revisão Anual de Patologia de plantas, Passo Fundo, v. 9, p. 403-440, 2001.

BRACKMANN, A.; ANESE, R.O.; BOTH, V.; THEWES, F.R.; FRONZA, D. Atmosfera controlada para o armazenamento de goiaba cultivar 'Paluma'. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n. 2, p. 151-156, abr. 2012 .

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Fruticultura: políticas, cenários, demandas e desafios. **Informativo CGPCP Fruticultura**, Brasília, v. 51, 2011. 6 p. Disponível em:

<[http://www.sebrae.com.br/setor/fruticultura/acesse/noticias/Inform%20CGPCP%2051_jun11_Fruticultura%20\(1\).pdf](http://www.sebrae.com.br/setor/fruticultura/acesse/noticias/Inform%20CGPCP%2051_jun11_Fruticultura%20(1).pdf)>. Acesso em: 25 mar. 2012.

BROUGHTON, W.J.; LEONG, S.F. Maturation of Malaysian fruits. III. Storage conditions and ripening of guava (*Psidium guajaba* L. var. GU3 and GU4). **Mardi Research Bulletin**, Malasia, v. 7, p. 12–26, 1979.

CALBO, A.G. Adaptação de um fluxocentro para estudos de trocas gasosas e um método de aferição de capilares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 24, p. 733-739, 1989.

CARVALHO, C.R.L.; MANTOVANI, D.M.B.; CARVALHO, P.R.N.; MORAES, R.M.M. **Análises químicas de alimentos**, Campinas: ITAL, 1990. 121 p. (Manual Técnico).

CASTRO, J.V.; SIGRIST, J.M.M. Matéria-prima. In: INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Goiaba: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos**. Campinas, 1988. p. 121-139.

CAVALINI, F.C. **Índices de maturação, ponto de colheita e padrão respiratório de goiabas 'Kumagai' e 'Paluma'**. 2004. 69 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

CERQUEIRA, T.S.; JACOMINO, A.P.; SASAKI, F.F.; AMORIM, L.; Controle do amadurecimento de goiabas “Kumagai” tratadas com 1-metilciclopropeno. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 31, n. 3, p. 687-692, 2009.

CHOUDHRY, M.M.; COSTA, T.S. da; ARAÚJO, J.L.P. Agronegócio da goiaba. In: CHOUDHRY, M.M. (Ed.). **Goiaba: pós-colheita**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2001. cap. 1, p. 9-15. (Frutas do Brasil, 19).

CIA, P.; BENATO, E.A. Controle alternativo com atmosferas modificada e controlada. In: OLIVEIRA, S.M.A.; TERAPO, D.; DANTAS, S.A.F.; TAVARES, S.C.C.H.. (Org.). **Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. v. 1, p. 245-264.

CINTRA, R.F.; VITTI, A.; BOTEON, M. Análise dos impactos da certificação das frutas brasileiras para o mercado externo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL, 51., 2003, Juiz de Fora. **Anais...** Disponível em: <<http://cepea.esalq.usp.br/pdf/certificacao.pdf>>. Acesso em: 05 maio 2012.

CLAYPOOL, L.L.; KEEFER, R.M. A colorimetric method for CO₂ determination in respiration studies. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 40, p. 177-176, 1942.

CRUVINEL, P.E.; MASCARENHAS, S. Rumo às boas práticas. **Agroanalysis: A Revista de Agronegócios da FGV**, 2007. Disponível em: <http://www.agroanalysis.com.br/materia_detalhe.php?idMateria=183>. Acesso em: 17 abr. 2012.

DAY, B.P.F. High oxygen MAP for fresh prepared produce. **Postharvest News and Information**, Wallingford, v. 7, n. 3, p. 31-34, 1996.

DEWEY, D.H. Controlled atmospheres for the storage and transport of perishable agricultural commodities. In: NATIONAL CONTROLLED ATMOSPHERE RESEARCH CONFERENCE, 2., 1977, East Lansing. **Proceedings...** East Lansing: Michigan State University, 1977. p. 137-141. (Horticultural Report, 28).

DO, J.Y.; SALUNKHE, D.K. Almacenamiento em atmosfera controlada. In: PANTASTICO, E.B. (Ed.) **Fisiología de la postrecolección, manejo y utilización de frutas y hortalizas tropicales y subtropicales**. México: Compañía Editorial Continental, 1979. p. 209-221.

EL-GOORANI, M.A.; SOMMER, N.F. Effects of modified atmospheres on postharvest pathogens of fruits and vegetables. **Horticultural Reviews**, Westport, v. 3, p. 412-461, 1981.

ESCANFERLA, M.E. **Pré-penetração de *Guignardia psidii* em goiaba: influência da temperatura, duração do molhamento, idade dos frutos e concentração de etileno e dióxido de carbono**. 2007. 85 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

FAO **Agricultural production**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 13 maio 2012.

FATH, D.; SOUDAIN, P.; BORDES, M. **Procédé de traitement de conservation de produits alimentaires végétaux frais**. The Hague, 1990. European Patent Office Netherlands, n°. 90402748.9.

FONSECA, M.J.O.; LEAL, N.R.; CENCI, S.A. Padrão de ocorrência de doenças em mamão armazenado sob atmosfera controlada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 547-549, 2004.

GOFFINGS, G.; HERREGODS, M. Storage of leeks under controlled atmospheres. **Acta-Horticulturae**, Den Hague, n. 258, p. 481-484, 1989.

HAMADA, N.A.; KATSURAYAMA, Y.; DANTAS, A.C.M. Sensibilidade *in vitro* ao benomyl por isolados de *Colletotrichum* spp. associados à mancha da gala em macieira. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 5, p. 347-351, 2009.

JEFFRIES, C.J.; DODD, N.J.; PLUMBLEY, R.A. The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruit crops. **Plant Pathology**, Oxford, v. 39, p. 343-366, 1990.

JUNQUEIRA, N.T.V.; ANDRADE, L.R.M.; PEREIRA, M.; LIMA, M.M.; CHAVES, R.C. **Doenças da goiabeira no Cerrado**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2001. 31 p. (Circular Técnica, 15).

KADER, A.A. **Postharvest technology of horticultural crops**. 2nd ed. Oakland: University of California, Division of Agricultural and Natural Resources, 1992. 296 p.

_____. **Postharvest technology of horticultural crops**. 3rd ed. Riverside: UC Regents, 2002. 535 p.

_____. **Guava**: recommendations for maintaining postharvest quality. Produces facts. California, 2009. Disponível em: <<http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Fruit/Guava.shtml>> Acesso em: 05 abr. 2012.

KADER, A.A.; BEM-YEHOSHUA, S. Effects of superatmospheric oxygen levels on postharvest physiology and quality of fresh fruits and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 20, p. 1–13, 2000.

KADER, A.A.; ZAGORY, D.; KERBEL, E.L. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Davis, v. 28, n. 1, p. 1-33, 1989.

KAYS, S.J. **Postharvest physiology of perishable plant products**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991. 453 p.

McGUIRRE, R.G. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, Alexandria, v. 27, n. 12, p. 1254-1255, 1992.

NIGRO, F.; IPPOLITO, A.; LATTANZIO, V.; VENERE, D.; SALERNO, M. Effect of ultraviolet-C light on postharvest decay of strawberry. **Journal of Plant Pathology**, Bologna, v. 82, p. 29-37, 2000.

PICCININ, E.; PASCHOLATI, S.F.; DI PIERO, R.M. Doenças da goiabeira (*Psidium guajava* L.). 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. 401-405.

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

PRUSKY, D.; PERES, A.; ZUTKHI, Y.; BEN-ARIE, R. Effect of modified atmosphere for control of black spot, caused by *Alternaria alternata*, on stored persimmon fruits. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 87, n. 2, p. 203-208, 1997.

PRUSKY, D.; KOBILER, I.; JACOBY, B.; SIMS, J.J.; MIDLAND, S.L.; Inhibitors of avocado lipoxygenase: their possible relationship with latency of *Colletotrichum gloeosporioides*. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 27, p. 269-279, 1985.

QADIR, A.; HASHINAGA, F. Nitrous oxide inhibits *in vitro* growth of multiple postharvest fungi. **HortScience**, Alexandria, v. 36, p. 1302-1304, 2001a.

_____. Inhibition of postharvest decay of fruits by nitrous oxide. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 22, p. 279-283, 2001b.

SOMMER, N.F. Role of controlled environments in suppression of postharvest diseases. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ontario, v. 7, p. 331-339, 1985.

SPONHOLZ, C.; BATISTA, U.G.; ZAMBOLIM, L.; SALOMÃO, L.C.C.; CARDOSO, A.A. Efeito do tratamento hidrotérmico e químico de frutos de banana 'Prata' no controle da antracnose em pós-colheita. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 5, p. 480-485, out. 2004.

USALL, J.; TEIXIDÓ, N.; FONS, E.; VIÑAS, I. Biological control of blue mold on apple by a strain of *Candida sake* under several controlled atmosphere conditions. **International Journal of Food and Microbiology**, Amsterdam, v. 58, p. 83-92, 2000.

VAN DER STEEN, C.; DEVLIEGHERE, F.; DEBEVERE, J. High oxygen concentration in combination with elevated carbon dioxide to affect growth of fresh-cut produce microorganisms. **Acta Horticulturae**, Den Hague, n. 599, p. 141-147, 2003.

VIEIRA, D.G.; SILVA, R.M.; SILVA, O.F.; FONSECA, M.J.O.; SOARES, A.G.; COSTA, R.A. Crescimento in vitro de fungos (*Colletotrichum gloeosporioides* e *Cladosporium cladosporioides*) isolados de frutos do mamoeiro, sob atmosfera controlada e refrigeração. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 3, p. 387-390, dez. 2006.

WELLS, J.M.; UOTA, M. Germination and growth of five fungi in low-oxygen and high carbon dioxide atmospheres. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 60, p. 50-53, 1970.

WSZELAKI, A.L.; MITCHAM, E.J. Effects of superatmospheric oxygen on strawberry fruit quality and decay. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 20, p. 125-133, 2000.

ZHENG, Y.; YANG, Z.; CHEN, X. Effect of high oxygen atmospheres on fruit decay and quality in Chinese bayberries, strawberries and blueberries. **Food control**, London, v.19, p.470-474, 2008.

ZHENG, Y.; WANG, S.Y.; WANG, C.Y.; ZHENG, W. Changes in strawberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity in response to high oxygen treatments. **Food Science and Technology**, London, v. 40, n. 1, p. 49-57, 2007.