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

**Infecção e colonização de goiabas por *Colletotrichum
gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* sob diferentes
temperaturas e períodos de molhamento**

Ana Raquel Soares

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Agronomia. Área de concentração:
Fitopatologia

Piracicaba
2008

**Ana Raquel Soares
Engenheiro Agrônomo**

**Infecção e colonização de goiabas por *Colletotrichum gloeosporioides* e
Colletotrichum acutatum sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento**

Orientadora:
Prof^a. Dr^a. **LILIAN AMORIM**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Agronomia. Área de concentração:
Fitopatologia

**Piracicaba
2008**

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

Soares, Ana Raquel

Infecção e colonização de goiabas por *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento / Ana Raquel Soares.

- - Piracicaba, 2008.

85 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2008.

Bibliografia.

1. Antracnose 2. Fungos fitopatogênicos 3. Germinação 4. Goiaba 5. Temperatura

I. Título

CDD 634.421

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

Ao meu marido, Júnior

*Por estar sempre ao meu lado nos momentos bons e nos
difíceis, pelo companheirismo, carinho, paciência e amor!
Só tenho a agradecer tudo o que faz por mim
Amo muito você!*

*À minha família:
Meus pais: Célia e Francisco,
E minha irmã Vivian,*

*Por sempre me apoiarem e estarem sempre dispostos a ajudar
no que for preciso*

Obrigada por tudo!

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela minha vida, pelas oportunidades e por tudo de bom que já me aconteceu;

À minha família, pelo apoio e incentivo: Jú, Mãe, Pai, Vi, Vó Hilda, Tio Rodolfo, Tia Bia, Tia Nê e Tio Cyro.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP e ao Setor de Fitopatologia pela oportunidade de realização do Mestrado.

À Professora Dra. Lilian Amorim, pela amizade, incentivo, apoio, paciência e confiança em mim depositada, que foram fundamentais para meu desenvolvimento pessoal e profissional e pelo exemplo de pessoa e profissional que vou levar por toda a vida;

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

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

À Casa da Uva, em especial ao Edmilson, pelo fornecimento de goiabas da variedade Pedro Sato (polpa vermelha);

A todos os professores do Setor de Fitopatologia pelo grande aprendizado proporcionado durante o curso de Mestrado;

À Marise, pelo apoio, amizade, e por tudo que me ensinou desde o início da minha trajetória na Fitopatologia;

Ao Hugo, pelo auxílio na execução do PCR para diferenciação das espécies de *Colletotrichum*;

À Carol, pelo fornecimento da colônia de *C. acutatum* e pela amizade durante todos esses anos;

Às amigas Silvia, Liliane, Sthela, Sylvia e aos estagiários, Felipe, Danilo, Diego, pela amizade e grande apoio na realização de todos os experimentos;

Aos amigos do Mestrado pelos bons momentos, pela ajuda nos trabalhos e pela amizade em especial, Maria Eugênia, Luciano, Júlio e Carol.

Aos amigos Maria Cândida, Fabrício, Davi, Ivan, Silvio, Rock por me ajudarem durante a análise de dados e realização da tese e pela amizade;

Aos amigos Nívea, Marisa, Maria Cristina, Maurício, Marizete, Adriana, Fabiana, Júlia, Lílian, Laura, Ana Paula, Eliane, Pastora e Adriana 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 Carmem da limpeza e ao Jéferson e à Linda da secretaria;

Aos funcionários da biblioteca, em especial à Eliana e Silvia, 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!

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
1 INTRODUÇÃO	14
1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Aspectos gerais da cultura da goiaba	17
2.1.1 Variedades	21
2.1.2 Estádios de maturação	22
2.2 Antracnose em frutos de goiabeira	23
2.2.1 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	24
2.2.2 <i>Colletotrichum acutatum</i>	25
2.2.3 Quiescência	26
2.3 Doença e ambiente	28
2.3.1 Temperatura	29
2.3.2 Umidade	30
3 MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1 Obtenção dos isolados e preparo da suspensão fúngica	32
3.2 Influência da combinação de diferentes temperaturas e períodos de molhamento contínuos na germinação e na formação de apressórios em conídios de <i>C. gloeosporioides</i> e <i>C. acutatum in vitro</i>	34
3.3 Influência da combinação de diferentes temperaturas e períodos de molhamento descontínuos na germinação e na formação de apressórios em conídios de <i>C. gloeosporioides</i> e <i>C. acutatum in vitro</i>	35
3.4 Influência da combinação de diferentes temperaturas e períodos de molhamento na infecção e na colonização de <i>C. gloeosporioides</i> e <i>C. acutatum</i> em goiabas “Kumagai” e “Pedro Sato”	36
3.4.1 Obtenção e inoculação dos frutos	36
3.5 Análise dos dados	38
4 RESULTADOS	41
4.1 Influência da combinação de diferentes temperaturas e períodos de molhamento contínuos na germinação e na formação de apressórios em conídios de <i>C. gloeosporioides</i> e <i>C. acutatum in vitro</i>	41

4.2 Influência da combinação de diferentes temperaturas e períodos de molhamento descontínuos na germinação e na formação de apressórios em conídios de <i>C. gloeosporioides</i> e <i>C. acutatum in vitro</i>	46
4.3 Influência da combinação de diferentes temperaturas e períodos de molhamento na infecção e na colonização de <i>C. gloeosporioides</i> e <i>C. acutatum</i> em goiabas “Kumagai”	48
4.4 Influência da combinação de diferentes temperaturas e períodos de molhamento na infecção e na colonização de <i>C. gloeosporioides</i> e <i>C. acutatum</i> em goiabas “Pedro Sato”	58
5 DISCUSSÃO	66
6 CONCLUSÕES	72
REFERÊNCIAS	73
ANEXOS	83

RESUMO

Infecção e colonização de goiabas por *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento

Duas espécies de *Colletotrichum* podem causar antracnose em goiabas: *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*. Apesar de ser a principal doença pós-colheita da cultura, a influência de variáveis ambientais no seu desenvolvimento é desconhecida. O objetivo do presente trabalho foi determinar a influência das variáveis ambientais no desenvolvimento *in vitro* e nos processos de infecção e colonização dos fungos *Colletotrichum gloeosporioides* e *C. acutatum* em goiabas. A germinação e a formação de apressórios foram determinadas sob temperaturas de 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 °C, com períodos de molhamento de 6, 12 e 24 horas, sob escuro contínuo. Nos experimentos *in vivo*, goiabas “Kumagai” e “Pedro Sato” foram inoculadas, por ferimento, com suspensão de conídios das duas espécies e incubadas em câmaras de crescimento a 15, 20, 25 e 30 °C e períodos de molhamento de 6 e 24 horas. Avaliou-se a incidência de frutos doentes, o diâmetro das lesões, a taxa de progresso da doença e os períodos de incubação e latência. Nas goiabas “Kumagai” também foi avaliada a influência dos estádios de maturação dos frutos no progresso da doença. Não houve germinação a 40 °C em nenhuma das duas espécies. A faixa favorável à germinação e à formação de apressórios *in vitro* foi de 15 a 30 °C para *C. gloeosporioides*, com máximo a 25 °C e de 20 a 25 °C para *C. acutatum*, com máximo a 20 °C. Para *C. acutatum*, a germinação foi mais sensível a variações no período de molhamento, sendo significativamente menor com 6 horas em relação a 12 e 24 horas. Nos experimentos *in vivo*, temperaturas de 25 e 30 °C e 24 horas de molhamento foram mais favoráveis para as variáveis analisadas em goiaba “Kumagai”. Os diâmetros máximos de lesão foram de 4,0 cm para *C. gloeosporioides* e 4,1 cm para *C. acutatum*, em frutos em ponto de colheita, incubados sob temperatura de 25 °C. A maior incidência da doença (100%) ocorreu 10 dias após a inoculação, a 30°C e 24 horas de molhamento. O menor período de incubação foi de 7 dias para as duas espécies, observado a 30 °C e o menor período de latência foi de 10 e 9 dias para *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, respectivamente, sob temperaturas de 25 ou 30 °C. Em goiabas “Pedro Sato”, as temperaturas entre 20 e 30 °C e 24 horas de molhamento foram mais favoráveis. Os diâmetros máximos de lesão foram de 3,3 cm para *C. gloeosporioides* e 3,2 cm para *C. acutatum* sob temperatura de 25 °C. A maior incidência da doença (100%) ocorreu 10 dias após a inoculação, a 25 e 30°C sob 6 horas de molhamento. O período de incubação foi de 7 dias para as duas espécies entre 20 e 30 °C e o período de latência foi de 8 dias para *C. gloeosporioides* e 9 dias para *C. acutatum* sob temperaturas de 25 e 30 °C. As condições requeridas para as duas espécies fúngicas foram semelhantes, embora o intervalo de favorabilidade seja mais amplo na goiaba “Pedro Sato”.

Palavras-chave: *Psidium guajava*; Doença quiescente; Severidade; Antracnose

ABSTRACT

Infection and colonization of guavas by *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum acutatum* under different temperatures and wetting periods

The main causal agents of Anthracnose in guava are *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. acutatum*. Although anthracnose is the main postharvest disease affecting guava, little is known about the influence of environmental variables on its development. Consequently, the objective of the present study was to determine the influence of environmental factors on *in vitro* development and on colonization and infection processes of *C. gloeosporioides* and *C. acutatum* fungi in guava. The germination and apressorium formation were determined at temperatures of 10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40 °C, with wetness durations of 6, 12 or 24 hours under continuous darkness. The *in vivo* experiments involved puncturing the skin of the Kumagai and Pedro Sato varieties of guava with a needle followed by inoculation with conidial suspensions of *C. gloeosporioides* and *C. acutatum*. Fruits were then incubated in growth chambers at temperatures of 15, 20, 25 and 30 °C with wetness duration of 6 and 24 hours. Assessments were made of the following: incidence of disease, lesion diameter, rate of disease progress, as well as incubation and latency periods. In the Kumagai variety, the influence of maturity on disease progression was also evaluated. There was no germination at 40 °C in any of the species. The germination and apressorium formation rate were rather high in the range of 15 to 30 °C for *C. gloeosporioides*, with a maximum at 25 °C and of 20 to 25 °C for *C. acutatum*, with a maximum at 20 °C. For the species *C. acutatum*, germination rate was more sensitive to variations in wetting periods, thus significantly smaller with 6 hours on 12 and 24 hours. Temperatures of 25 and 30 °C were found to be more favorable for the variables analyzed in the *in vivo* experiments of Kumagai variety. The maximum lesion diameter recorded in this variety was 4.0 cm for *C. gloeosporioides* and 4.1 cm for *C. acutatum* in harvest ready fruit that had been incubated at temperatures lower than 25 °C. The highest incidence of the disease (100%) occurred 10 days after inoculation, at 30 °C and 24 hours of wetting. The lowest incubation period for both species was 7 days at 30 °C and the lowest latency period of 9 days for *C. gloeosporioides* and 10 days for *C. acutatum* at temperatures between 25 and 30 °C. For the Pedro Sato variety, temperatures between 20 and 30 °C with a 24 hour wetness period were found to be the most favorable conditions. The maximum lesion diameter was 3.3 cm for *C. gloeosporioides* and 3.2 cm for *C. acutatum* at temperatures below 25 °C. The highest incidence of the disease (100%) occurred 10 days after inoculation, at 25 and 30 °C and 6 hours of wetting. The lowest incubation period for both species was 7 days at temperatures between 20 and 30 °C and the lowest latency period of 8 days for *C. gloeosporioides* and 9 days for *C. acutatum* at temperatures between 25 and 30 °C. In conclusion, development conditions for *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum acutatum* were similar, although the range of conditions favorable for the Pedro Sato variety was wider than that of the Kumagai cultivar.

Keywords: *Psidium guajava*; Quiescent disease; Severity; Anthracnose

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Goiabas “Kumagai” nos estádios E1 (cor da casca verde-escura), E2 (cor da casca verde-clara) e E3 (cor da casca verde-amarela), feridas com agulha histológica, em potes individualizados e com algodão umedecido simulando uma câmara úmida36
- Figura 2 - Goiabas “Kumagai” (polpa branca) individualizadas, acondicionadas na câmara de crescimento (Ação científica, AC 71)37
- Figura 3 - Superfície de resposta da germinação (%) de conídios de *C. gloeosporioides*, em função da temperatura e do período de molhamento, descrita pela equação $Z = (0,37 * ((T - 9,5)^{0,85}) * ((44,1 - T)^{1,59})) * (0,21 * (1 - (0,46) * \exp(-(0,18) * M)))$, onde Z é a germinação (%), T é a temperatura (°C) e M é o período de molhamento (h). Círculos pretos representam dados do primeiro experimento e brancos representam dados do segundo experimento42
- Figura 4 - Superfície de resposta da formação de apressórios (% relativa aos conídios germinados) de conídios de *C. gloeosporioides*, em função da temperatura e do período de molhamento, descrita pela equação $Z = (1,7 * ((T - 7,8)^{1,32}) * ((35,4 - T)^{1,48})) * (0,04 * (1 - (0,89) * \exp(-(0,09) * M)))$, onde Z é a formação de apressórios (% relativa ao número de conídios germinados), T é a temperatura (°C) e M é o período de molhamento (h). Círculos pretos representam dados do primeiro experimento e brancos representam dados do segundo experimento42
- Figura 5 - Aspecto de conídios de *C. gloeosporioides* sob temperaturas de 30 °C e 12 horas de molhamento (A), 30 °C e 24 horas de molhamento (B), 35 °C e 12 horas de molhamento (C) e 35 °C e 24 horas de molhamento (D), mostrando a formação de mais de um tubo germinativo e apressório por conídio. Observação em microscópio óptico com aumento de 400 X, barra = 10 µm 43
- Figura 6 - Superfície de resposta da germinação (%) de conídios de *C. acutatum*, em função da temperatura e do período de molhamento, descrita pela equação $Z = (0,2e-7 * ((T - (1,84))^{6,35}) * ((42,5 - T)^{5,78})) * (0,3e-6 * (1 - (1,52) * \exp(-(0,13) * M)))$, onde Z é a germinação (%), T é a temperatura (°C) e M é o período de molhamento (h). Círculos pretos representam dados do primeiro experimento e brancos representam dados do segundo experimento45

- Figura 7 - Superfície de resposta da formação de apressórios (% relativa aos conídios germinados) de conídios de *C. acutatum*, em função da temperatura e do período de molhamento, descrita pela equação $Z = (9,39 * ((T - 9,2)^{1,57} * ((35,1 - T)^{1,28})) * (0,44 * (1 - (0,99) * \exp(-(0,001) * M))))$, onde Z é a formação de apressórios (% relativa ao número de conídios germinados), T é a temperatura (°C) e M é o período de molhamento (h). Círculos pretos representam dados do primeiro experimento e representam dados do segundo experimento45
- Figura 8 - Germinação (%) (A) e formação de apressórios (% relativa aos conídios germinados) (B) em conídios de *C. gloeosporioides* sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento descontínuos, sendo um período de molhamento seguido de um período de interrupção molhamento (6+18, 6+12+6, 12+12 e 24 horas). Média de dois experimentos (barras hachuradas - 25 °C e barras brancas - 20 °C). Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si a 20 °C e médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si a 25 °C pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade47
- Figura 9 - Germinação (%) (A) e formação de apressórios (% relativa aos conídios germinados) (B) em conídios de *C. acutatum* sob diferentes períodos de molhamento descontínuos, sendo um período de molhamento seguido de um período de interrupção molhamento (6+18, 6+12+6, 12+12 e 24 horas). Média de dois experimentos (barras hachuradas - 25 °C e barras brancas - 20 °C). Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si a 20 °C e médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si a 25 °C pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade48
- Figura 10 - Diâmetro das lesões (cm) causadas por *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) em goiabas “Kumagai” no estágio 3, sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas - A e B; 24 horas - C e D), 14 dias após a inoculação. Dados referentes a um experimento com 6 horas e a dois experimentos com 24 horas de molhamento49
- Figura 11 - Aspecto das goiabas “Kumagai” no estágio 3, 10 dias após a inoculação com *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, sob diferentes temperaturas e 6 horas de molhamento. A -15 °C; B - 20 °C; C - 25 °C; D - 30 °C. Em cada foto a

- primeira linha corresponde a frutos inoculados com *C. gloeosporioides* e a segunda linha corresponde a frutos inoculados com *C. acutatum*49
- Figura 12 - Aspecto das goiabas “Kumagai” em diferentes estádios, 12 dias após a inoculação com *C. gloeosporioides* (A, C, E e G) e *C. acutatum* (B, D, F e H), sob diferentes temperaturas (15 °C – A e B, 20 °C – C e D, 25 °C – E e F e 30 °C – G e H) e 24 horas de molhamento. Em cada foto a primeira linha corresponde a frutos em estágio 1, a segunda linha frutos em estágio 2 e a terceira linha, frutos em estágio 3.....51
- Figura 13 - Taxas de progresso das lesões (mm/dia) causadas por *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) em goiabas “Kumagai” (estádio 3), sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B; 24 horas – C e D). Dados referentes a um experimento com 6 horas de molhamento e 2 experimentos com 24 horas de molhamento52
- Figura 14 - Curvas das áreas abaixo das curvas de incidência de antracnose causada por *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) em goiabas “Kumagai” (estádio 3) incubadas sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B; 24 horas – C e D). Valores relativos a um experimento sob 6 horas de molhamento e média de dois experimentos sob 24 horas de molhamento com o erro padrão.....53
- Figura 15 - Períodos de incubação de *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) em goiabas “Kumagai” (estádio 3) submetidos a diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B; 24 horas – C e D). Pontos referem-se aos dados de todas as repetições (frutos).....56
- Figura 16 - Períodos de latência de *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) em goiabas “Kumagai” (estádio 3) submetidas a diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B; 24 horas – C e D). Pontos referentes aos dados de todas as repetições (frutos).....57
- Figura 17 - Diâmetro das lesões (cm) causadas por *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) em goiabas “Pedro Sato” no estágio 3, sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B; 24 horas – C e D) , 14 dias após a inoculação. Dados referentes a um experimento com 6 horas de molhamento e a dois experimentos com 24 horas de molhamento.....59
- Figura 18 - Aspecto das goiabas “Pedro Sato”, 10 dias após a inoculação com *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, armazenadas sob diferentes temperaturas e 6

-59
- Figura 19 - Aspecto das goiabas “Pedro Sato”, 12 dias após a inoculação com *C. gloeosporioides* (A, C, E e G) e *C. acutatum* (B, D, F e H), sob diferentes temperaturas (15 °C – A e B, 20 °C – C e D, 25 °C – E e F e 30 °C – G e H) e 24 horas de molhamento.60
- Figura 20 - Taxas de progresso das lesões (mm/dia) causadas por *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) em goiabas “Pedro Sato”, sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B; 24 horas – C e D). Dados referentes a um experimento com 6 horas de molhamento e 2 experimentos com 24 horas de molhamento61
- Figura 21 - Curvas das áreas abaixo das curvas de incidência de antracnose em goiabas “Pedro Sato” causada por *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B; 24 horas – C e D). Valores relativos a um experimento sob 6 horas de molhamento e média de dois experimentos sob 24 horas de molhamento com o erro padrão62
- Figura 22 - Períodos de incubação de *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) em goiabas “Pedro Sato” submetidas a diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B; 24 horas – C e D). Círculos pretos representam dados de todas as repetições64
- Figura 23 - Períodos de latência de *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) em goiabas “Pedro Sato” submetidas a diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B; 24 horas – C e D). Pontos referentes aos dados de todas as repetições. Círculos pretos representam dados de todas as repetições64

1 INTRODUÇÃO

O cultivo da goiabeira (*Psidium guajava* L.) é de grande relevância no contexto da fruticultura brasileira, sendo o Brasil considerado o maior produtor mundial de goiabas vermelhas e a Índia, maior produtor de goiabas brancas, em 2004 (SANTOS-FRANCISCO; BAPTISTELLA; AMARO, 2007). Embora a maior parte da produção seja destinada à indústria, tem ocorrido um ligeiro aumento do consumo *in natura* nos últimos anos (FNP, 2007).

A expansão do consumo de goiaba *in natura* decorre da melhor qualidade dos frutos e do aumento da vida pós-colheita. Porém, a goiaba é uma fruta muito frágil, sendo facilmente danificada por manuseio inadequado durante e após a colheita. Segundo Sigrist (1983), a vida média de prateleira é de uma a duas semanas, dependendo da variedade e condições de armazenamento, e as perdas pós-colheita são estimadas entre 20 a 40%.

A antracnose, também conhecida como mancha chocolate, é a principal doença pós-colheita em goiaba no Brasil (PICCININ et al., 2005). *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz & Sacc. foi, por muito tempo, considerado o único agente causal da doença (PICCININ et al., 2005; JUNQUEIRA; COSTA., 2002). Mais recentemente, no entanto, graças às técnicas moleculares de identificação de espécies de *Colletotrichum*, Peres et al. (2002) identificaram *Colletotrichum acutatum* J. H. Simmonds associado a lesões de antracnose em goiaba. Assim a antracnose da goiaba pode ser causada por infecções simples ou múltiplas dessas duas espécies fúngicas.

Espécies de *Colletotrichum* infectam goiabas em diferentes estádios fenológicos, mesmo na ausência de ferimentos, permanecendo quiescentes até a maturação (BARKAI-GOLAN, 2001; MORAES et al., 2008). Estas espécies apresentam uma ampla distribuição geográfica, particularmente em ambientes quentes e úmidos dos trópicos, onde causam danos em culturas diversas, os quais são principalmente severos em frutas.

Em São Paulo, a incidência de antracnose varia com a época do ano em que a goiaba é produzida. A incidência média da doença em pomares da região de Campinas foi de 5% de frutos doentes, com picos de 10% nos frutos colhidos no final do verão (AMARAL et al., 2007). Levantamento realizado no mercado atacadista paulistano

também mostrou que a antracnose é uma das principais doenças da goiaba, sendo mais freqüente em frutos que foram ensacados na árvore, em relação àqueles que não receberam essa proteção (MARTINS et al., 2007). Como a comercialização no mercado atacadista é feita com frutos muito verdes, a incidência média da doença, nesse elo da cadeia produtiva, é sempre baixa, menor que 1%.

Sabe-se que a maturidade fisiológica do fruto na colheita, a velocidade de amadurecimento e senescência, favorecem a antracnose (PANDEY; ARORA; DUBEY, 1997), bem como a duração do período pré-climatérico da goiaba (BLEINROTH et al., 1992), oferecendo melhores condições para a infecção e colonização do patógeno. Porém, as condições ambientais favoráveis à germinação e à formação de apressórios não foram determinadas para isolados de *Colletotrichum* causadores de antracnose em goiaba. Por sua vez, experimentos realizados com isolados de *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, causadores de antracnose em abacate, mostraram que as temperaturas mínimas para a germinação e formação de apressórios foram sempre maiores em *C. gloeosporioides* que em *C. acutatum*. Enquanto a germinação de conídios de *C. gloeosporioides* foi inibida em temperaturas inferiores a 13,7 °C, após incubação por 24 horas, a germinação de *C. acutatum* só foi inibida em temperaturas menores que 7,1 °C (EVERETT, 2003). Informações sobre as variáveis de ambiente que favorecem os processos de pré-penetração e de infecção são valiosas no desenvolvimento de sistemas de previsão de doenças e podem contribuir para direcionar ações de controle. Essas informações são desconhecidas no sistema *Colletotrichum*-goiaba.

O controle da antracnose, no campo, é feito basicamente com métodos culturais e químicos. O controle cultural é feito por meio de poda de ramos com sintomas, plantios em espaçamento que permitam um bom arejamento das plantas, colheitas freqüentes sem deixar frutos na planta e adubações equilibradas, controlando doses de nitrogênio. O controle químico é realizado com pulverização de fungicidas cúpricos quando os frutos estão com menos de 3 cm de comprimento, seguido de ensacamento (PICCININ et al., 2005), ou de pulverização durante todo o crescimento do fruto (JUNQUEIRA; COSTA, 2002). Entretanto, devido aos efeitos prejudiciais dos fungicidas ao meio ambiente e à saúde humana, e hoje com o enquadramento dos cultivos ao sistema PIF (Produção Integrada de Frutas), a tendência é a redução no uso

de agroquímicos, associada ao uso de sistemas de previsão e estratégias alternativas de controle. Após a colheita, métodos de conservação como refrigeração, uso de ceras, dentre outros, visam manter a qualidade do fruto, reduzindo a taxa respiratória e a síntese e ação do etileno, mantendo os frutos na fase pré-climatérica por período mais longo (KAYS, 1991).

Considerando a importância da antracnose em goiaba pós-colheita e a necessidade de redução no uso de agroquímicos com a implantação de sistemas de previsão de doenças, o objetivo deste trabalho foi determinar as condições ambientais favoráveis à pré-penetração, à infecção e à colonização de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* em goiabas “Kumagai” e “Pedro Sato”.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos gerais da cultura da goiaba

A goiaba (*Psidium guajava* L.), originária da América tropical (entre o México e o Brasil), pertence à família Myrtaceae e encontra-se atualmente muito difundida por todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo (PEREIRA; MARTINEZ JÚNIOR, 1986). Os maiores produtores mundiais de goiaba são Brasil, Índia, Paquistão, México, Estados Unidos, Venezuela, África do Sul, Jamaica, Quênia e Austrália (SANTOS-FRANCISCO; BAPTISTELLA; AMARO, 2007).

A produção brasileira de goiaba em 2004 foi de 408 mil toneladas em 18.778 hectares. O volume cresceu 4% em média desde 2000. Pernambuco produziu 168 mil toneladas, aproximadamente 40% da produção nacional. O Estado de São Paulo é o segundo maior produtor, com uma produção de 120 mil toneladas, respondendo por 29,5% da produção brasileira. A produção paulista se concentra em duas regiões principais: Taquaritinga e Valinhos. A goiaba da região de Taquaritinga é destinada à indústria; na região de Valinhos, produz-se goiaba de mesa, para comercialização *in natura*. O volume de goiaba comercializado na Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP) em 2005 foi de 12.298 toneladas sendo 3.095 de goiaba branca e 9.204 toneladas de goiaba vermelha (FNP, 2007).

Em 2004, a goiaba ocupou o 26º lugar na lista de frutas exportadas, em volume comercializado, atingindo o patamar de US\$ 117 mil (INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA - IEA, 2006). A inexpressividade da exportação brasileira deve-se principalmente à alta perecibilidade pós-colheita do fruto. Tal fato exige exportação apenas via aérea, o que resulta em alto custo operacional (LIMA, 2004). A goiaba destinada à exportação deve apresentar polpa branca, aspecto atraente, aroma e sabor delicados, peso médio, bem como resistência ao transporte e ao armazenamento (GONZAGA NETO; SOARES, 1995; MANICA, 2000).

A goiaba possui aroma e sabor agradáveis e elevado valor nutricional, com altos teores de vitaminas C, A, B₂ e E, aminoácidos tiamina e niacina, nutrientes como fósforo, ferro, bem como fibras e proteína (CASTRO; SIGRIST, 1991) Além disso, em

função das descobertas recentes da ação do licopeno no controle de células cancerígenas, a goiaba tem despertado interesse, pois apresenta teores considerados elevados, entre 4 e 7 mg.100g⁻¹ de polpa (ADSULE; KADAM, 1995). No entanto, os frutos são altamente perecíveis e apresentam uma grande atividade metabólica. Quando mantidos em temperatura ambiente, amadurecem completamente entre 3 a 5 dias (GONGATTI NETTO; GARCIA; ARDITO, 1996). Isso se deve ao fato da goiaba apresentar alta taxa respiratória, alta taxa de etileno e alta sensibilidade a este hormônio, características de frutos climatéricos. Os frutos climatéricos são aqueles que apresentam um aumento da atividade respiratória e da síntese de etileno associado ao amadurecimento (CAVALINI, 2004).

A goiaba é bastante frágil, sendo facilmente danificada por manuseio inadequado durante e após a colheita. Os danos mecânicos, além de depreciarem a aparência da fruta, constituem-se em porta de entrada para patógenos e estimulam a produção de etileno, acelerando o amadurecimento. Pequenos impactos, mesmo que não causem ferimentos, interferem na fisiologia dos frutos, antecipando o amadurecimento dos mesmos. A perda de qualidade pós-colheita está relacionada, além dos danos mecânicos, com a velocidade de amadurecimento e senescência, perda de água e podridões. Em geral, ocorrem na fase de armazenamento, transporte e comercialização inadequados, em função de desconhecimento e falta de adoção de técnicas adequadas de conservação e manuseio (GUTIERREZ; WATANABE; SCHMIDT, 2002). Estima-se que as perdas pós-colheita de goiabas sejam de 20 a 40% (SIGRIST, 1983).

A redução das perdas pós-colheita na cadeia produtiva de frutas representa um constante desafio, considerando que os frutos são órgãos que apresentam um alto teor de água e nutrientes e, mesmo após a colheita até a senescência, mantém vários processos biológicos em atividade, apresentando, muitas vezes, maior predisposição a distúrbios fisiológicos, danos mecânicos e ocorrência de podridões (KADER, 2002 apud SILVEIRA et al., 2005).

Várias precauções, muitas de natureza simples, podem ser adotadas a fim de reduzir substancialmente as perdas pós-colheita, destacando-se a modificação de práticas de manuseio que danificam a superfície da fruta (JOHNSON; HEATHER, 1995). Durante o armazenamento, a temperatura é o fator individual mais importante na

manutenção da qualidade dos frutos, porque as taxas de muitos processos metabólicos são dependentes da temperatura dentro de uma faixa de temperatura fisiológica (INABA, 1993). Por isso, o desenvolvimento de sistemas convenientes de acondicionamento é essencial para a redução de perdas que ocorrem em pós-colheita, principalmente quando os produtos são consumidos em locais distantes da área de produção (COURSEY; PROCTOR, 1975, apud SILVEIRA et al., 2005). Segundo Jacomino et al. (2003), goiabas “Kumagai” armazenadas a 10 ou 12 °C podem ser conservadas por 14 dias e se armazenadas a 8 °C podem ser conservadas por 21 dias.

Outras técnicas utilizadas na conservação pós-colheita são uso de ceras (OJEDA, 2001; COMBRINK; KOCK; VAN EEDEN, 1990), absorvedores de etileno (AHLAWAT; YAMDAGNI; JINDAL, 1980), aplicações de cálcio (XISTO, 2002; SING; SING; CHAUHAN, 1981), reguladores de crescimento (SAHA, 1971), fungicidas (OJEDA, 2001; CASTRO; SIGRIST, 1991), 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.

Além de todo o cuidado com o fruto durante e após a colheita, o cenário mercadológico internacional vem sinalizando que cada vez mais será valorizado o aspecto qualitativo e o respeito ao meio ambiente, na produção de qualquer produto. Os principais países importadores e as principais frutas exportadas pelo Brasil mostram grande potencialidade de mercado ainda existente nesse setor, tendo em vista, principalmente, o aperfeiçoamento dos mercados, a mudança de hábitos alimentares e a necessidade de alimentos seguros (ANDRIGUETO; KOSOSKI, 2005).

Para atender a essas exigências e elevar as exportações brasileiras implantou-se o Sistema de Produção Integrada de Frutas, em 1998/99, embora tenha sido iniciado nos anos 70 pela Organização Internacional para Controle Biológico e Integrado (OILB). O PIF consiste em um sistema de produção de frutas de alta qualidade, priorizando princípios baseados na sustentabilidade, aplicação de recursos naturais e regulação de mecanismos para substituição de insumos poluentes, utilizando instrumentos adequados de monitoramento dos procedimentos e a rastreabilidade de todo o

processo, tornando-o economicamente viável, ambientalmente correto e socialmente justo (ANDRIGUETO; KOSOSKI, 2005).

Até o momento, existem 17 espécies frutíferas e pólos PIF institucionalizados (maçã, uva, manga, mamão, citros, caju, coco, banana, melão, pêssego/nectarina, goiaba, caqui, maracujá, figo, abacaxi, mangaba e morango) com seus respectivos selos de conformidade aprovados e em condições de operacionalização. A goiaba foi validada no início de 2005 e conta com 25 produtores, totalizando uma área de 75 ha e 300 t produzidas (ANDRIGUETO; KOSOSKI, 2005). Em novembro de 2005, a instrução normativa referente às Normas Técnicas Específicas para a Produção de Goiaba entrou em vigor. Portanto, as frutas produzidas em obediência aos princípios consubstanciados nestas Normas poderão receber um certificado que ateste a sua conformidade a elas.

O controle da antracnose, no campo, é feito basicamente com métodos culturais e químicos. O controle cultural é feito por meio de poda de ramos com sintomas, plantios em espaçamento que permitam um bom arejamento das plantas, colheitas freqüentes sem deixar frutos na planta e adubações equilibradas, controlando doses de nitrogênio. O controle químico é realizado com pulverização de fungicidas cúpricos quando os frutos estão com menos de 3 cm de comprimento (PICCININ et al., 2005), seguido de ensacamento ou de pulverização durante todo o crescimento do fruto (JUNQUEIRA; COSTA, 2002). Para goiabas brancas de mesa, além dos métodos mencionados, os produtores fazem o ensacamento de frutos jovens (PIZA, 2007) e para goiabas vermelhas de indústria o controle é feito somente com fungicida.

Embora façam o controle cultural, o tratamento químico no campo ainda é muito utilizado pelos produtores. Entretanto, devido aos efeitos prejudiciais dos fungicidas ao meio ambiente e à saúde humana, e hoje com o enquadramento dos cultivos ao sistema PIF, a tendência é a diminuição destes, associada a estratégias alternativas de controle.

A adoção do sistema PIF tem apresentado resultados de destaque como diminuição dos custos de produção em maçã (40,0% em fertilizantes e 25,0% em inseticidas) e, no mamão, em torno de 44,0% da totalidade - campo e pós-colheita; indicadores significativos de redução em pulverizações; diminuição de resíduos

químicos nas frutas; e melhoria da qualidade do produto consumido, da saúde do trabalhador rural e do consumidor final. Em relação ao uso de agroquímicos, houve uma redução de 63,4% nos pomares brasileiros de manga, de 50% nos de mamão, de 32% nos de uva e de 30% nos de maçã (ANDRIGUETO; KOSOSKY, 2005). Esta redução além de ser um benefício financeiro para o produtor, garante um fruto com menos resíduos, de boa qualidade, controlando as doenças de forma mais racional, e assim, reduzindo a agressão ao meio ambiente.

2.1.1 Variedades

As principais variedades produzidas para obtenção de frutas de mesa são: Kumagai, Pedro Sato e Sassaoka.

A variedade Kumagai, obtida do cruzamento das variedades Australiana e IAC-4, no município de Campinas, foi a mais plantada na década de oitenta, muito produtiva, com frutos que apresentam um bom período de vida pós-colheita. Atualmente é cultivada na região de Campinas e Valinhos e sempre atendeu a um mercado mais exigente, e continua até o momento, sendo produzida da forma tecnicamente mais correta, ou seja, com poda drástica e ensacamento dos frutos (GUTIERREZ; WATANABE; SCHMIDT, 2002).

As goiabas de polpa branca são preferidas no mercado de frutos *in natura* por apresentarem melhor conservação pós-colheita e por exalarem perfume discreto que as torna finas e delicadas. A variedade de polpa branca Kumagai é a mais cultivada no Estado de São Paulo e a principal variedade exportada pelo Brasil (JACOMINO, 1999).

A variedade Kumagai pode ser considerada uma planta de porte e vigor médios, com ramos longos, esparramados e de grande produtividade. Os frutos são grandes, com 280 a 480 gramas, periformes, arredondados a oblongos, firmes, com casca lisa e resistente, de coloração verde-amarelada quando maduros, apresentando polpa branca de boa espessura, firme e consistente, levemente ácida, com a cavidade cheia e poucas sementes (MANICA, 2000). Quando mantidas em temperatura ambiente, atingem o amadurecimento completo entre 5 e 8 dias, entrando em senescência 1 a 2 dias após o amadurecimento (CERQUEIRA, 2007).

As variedades de polpa vermelha de casca rugosa, principalmente a “Pedro Sato” e a “Sassaoka” são, atualmente, as mais plantadas para o consumo *in natura*. O cultivo destas variedades está concentrado na região de Jaboticabal, principalmente nos Municípios de Vista Alegre do Alto, Pirangi, Monte Alto e Taquaritinga, tradicional região produtora de goiaba para indústria. A comercialização nessa região, de mercado pouco exigente, se dá em caixas de madeira aberta, com capacidade de 7 a 14 kg de fruta. Os aspectos qualitativos não são muito considerados em sua produção, que basicamente é feita com poda contínua e sem ensacamento dos frutos. Na região de Campinas e Andradina, essas mesmas variedades são produzidas sob poda drástica e ensacamento dos frutos (GUTIERREZ; WATANABE; SCHMIDT, 2002).

A variedade Pedro Sato é vigorosa e bastante produtiva, produzindo frutos grandes de formato oblongo, com polpa firme, espessa, de cor rosada, sabor agradável, com uma cavidade central cheia e com poucas sementes, sendo a casca bem rugosa. É uma das variedades mais difundidas entre as goiabas de polpa vermelha no Estado de São Paulo (MANICA et al., 2000).

2.1.2 Estádios de maturação

A qualidade da goiaba para o consumo ao natural está relacionada com seus atributos físicos, como aparência, tamanho, forma, cor e firmeza, bem como à sua composição química, responsável pelo sabor e aroma (GONGATTI NETTO; GARCIA; ARDITO, 1996). Essas características variam principalmente de acordo com a variedade, o estágio de maturação, as condições climáticas do local de cultivo e as condições de colheita e manuseio pós-colheita, tendo consequências diretas sobre a conservação e qualidade dos frutos (CARVALHO, 1994).

O amadurecimento do fruto é acompanhado por uma série de processos bioquímicos e físicos que conduzem à síntese e à degradação de pigmentos, transformação do amido em açúcares, perda de firmeza, produção de compostos voláteis e aumento na respiração de frutos climatéricos (ANDREWS; LI, 1994).

O estágio de maturação, em que os frutos são colhidos determina a qualidade do fruto a ser oferecido ao consumidor. Os frutos colhidos imaturos, além de pouca

qualidade, têm alto índice de perda de água e são muito suscetíveis às desordens fisiológicas. Por outro lado, quando colhidos muito maduros, entram rapidamente em senescência (MANICA et al., 2000). Os frutos em estádios de desenvolvimento mais imaturos são mais firmes devido à presença de substância pécticas. O amolecimento é resultante de mudanças degradativas nas substâncias pécticas pela ação de enzimas (HUBER, 1983).

Não existem padronização e consenso do estágio de maturação ideal para a colheita da goiaba, assim como pouco se sabe a respeito dos índices de maturação adequados. As goiabas normalmente são colhidas quando a polpa ainda está firme e a coloração da casca começa a mudar de verde-escuro para verde-claro ou começa a amarelecer (MANICA et al., 2000). Em um estudo recente, Cavalini (2004) afirmou que os índices de maturação mais adequados para goiaba “Kumagai” são cor da casca e firmeza da polpa. As mudanças de coloração são resultantes da degradação de clorofila e da síntese de pigmentos, principalmente carotenóides e antocianinas (TUCKER, 1993 apud AZZOLINI, 2004). Segundo Castro & Sigrist (1991), as condições do fruto na época da colheita determinam seu comportamento e, conseqüentemente sua qualidade final.

2.2 Antracnose em frutos de goiabeira

A penetração do fungo se dá por ferimentos causados por insetos, por lesões que aparecem durante o manuseio do fruto e também pela cavidade floral. Pode ocorrer também a penetração direta pela superfície intacta do fruto, por meio da prévia formação de apressórios (JUNQUEIRA et al., 2001).

Na maioria dos frutos imaturos de plantas tropicais, o fungo *C. gloeosporioides* normalmente penetra a cutícula e fica restrito à camada epidérmica na forma quiescente ou latente, pois o crescimento posterior só é capaz de continuar após o amadurecimento do tecido abaixo adjacente, quando mudanças fisiológicas no hospedeiro estimulam o desenvolvimento posterior do patógeno (LOPEZ, 1999 apud LOPEZ, 2001).

Prusky (1996) relacionou quatro mecanismos que podem atuar na resistência de frutos contra fungos fitopatogênicos, inclusive *Colletotrichum* spp.: 1) falta de nutrientes requeridos pelo patógeno em frutos imaturos, mas que se tornam disponíveis em frutos maduros; 2) presença de substâncias antifúngicas nos frutos imaturos, cujas concentrações diminuem com o amadurecimento dos frutos; 3) presença de compostos em concentrações subtóxicas nos frutos imaturos que podem ser induzidos por elicitores bióticos ou abióticos e 4) presença, nos frutos imaturos, de inibidores de fatores de patogenicidade que desaparecem com o processo de amadurecimento. Esses mecanismos podem atuar isoladamente ou de forma complementar e sua importância relativa varia dependendo da interação considerada.

Os sintomas nos frutos são caracterizados por áreas de formato mais ou menos circulares e de coloração escura. Em condições de umidade elevada, é possível observar, sobre as lesões, uma massa de esporos de cor alaranjada, correspondendo à matriz mucilaginosa do fungo. Os sintomas são mais severos, podendo observar-se o surgimento de pequenas manchas circulares de coloração marrom, que aumentam de tamanho e se tornam deprimidas. As lesões podem coalescer e formar uma grande mancha de formato irregular. Os frutos também podem apresentar sintomas de podridão, ocorrendo um escurecimento a partir do pedúnculo, que pode atingir o fruto todo, em decorrência da penetração do patógeno pelo botão floral (PICCININ; PASCHOLATI; DI PIERO, 2005).

2.2.1 *Colletotrichum gloeosporioides*

Colletotrichum gloeosporioides tem como fase sexuada *Glomerella cingulata*, ainda não constatada no Brasil. Este patógeno tem sido associado a infecções quiescentes e doenças pós-colheita em muitos frutos como abacate, manga, mamão-papaia, goiaba, maracujá, citros, maçã e uva (SIMMONDS, 1965; HARTIL, 1992; TIMMER; BROWN; ZITKO, 1998). Infecções quiescentes são formadas em frutos imaturos e os sintomas não são observados até que os frutos se tornem maduros (WHARTON; DIÉGUEZ-URIBEONDO, 2004).

C. gloeosporioides forma conídios retos cilíndricos com as bordas arredondadas, e, geralmente, forma colônias de cor variável entre cinza claro e cinza escuro (SUTTON, 1992; TOZZE et al., 2007). Espécies de *Colletotrichum* podem invadir o tecido do hospedeiro por vários mecanismos. Geralmente, mas nem sempre, os apressórios estão envolvidos na penetração do tecido cuticularizado (LOPEZ, 1999 apud LOPEZ, 2001). Penetração por hifas não diferenciadas ocorre freqüentemente através de estômatos e ferimentos como ocorre nas infecções de *C. gloeosporioides* em frutos de mamão (LOPEZ, 2001). Em goiaba, *C. gloeosporioides* pode sobreviver na superfície dos frutos de qualquer estágio fenológico na forma de apressório. A infecção, no entanto, só ocorre em frutos próximos à maturação (após 85 dias a contar da queda das pétalas), quando o “peg” de penetração se forma e uma vesícula invagina nas células superficiais da epiderme do fruto (MORAES et al., 2008). Penetração direta pode ocorrer devido à pressão mecânica ou devido à presença de enzimas cutinolíticas secretadas pelo patógeno, como cutinases e pectatolases envolvidas na penetração através da cutícula e parede de células epidérmicas (SKIPP et al., 1995). O desenvolvimento é mais rápido em frutos feridos (JOHNSON; MILIESZKY, 1993).

2.2.2 *Colletotrichum acutatum*

C. acutatum, descrito pela primeira vez para mamão papaia na Austrália, é hoje reconhecido como patógeno cosmopolita, causando antracnose em mais de quarenta hospedeiros mundialmente, como maçã, kiwi, uva, pêra, amêndoa e pecã (PERES et al., 2002).

Uma das características utilizada para distinguir *C. acutatum* de outras espécies de *Colletotrichum* são conídios predominantemente elipsoidais, fusiformes produzidos em massas alaranjadas brilhantes ou originados diretamente do micélio. Colônias com coloração variando de rosa a vermelha também têm sido observadas freqüentemente associadas a *C. acutatum* (GUERBER; CORRELL, 2001). Segundo Vinnere (2004), *C. acutatum* apresenta temperatura ótima de crescimento micelial compreendida entre 25,0 e 26,5 °C enquanto *C. gloeosporioides* entre 26,0 e 28,5 °C. A taxa de crescimento micelial de *C. acutatum* geralmente é mais lenta que a taxa de crescimento em *C.*

gloeosporioides, e esta parece ser uma característica cultural estável e de grande utilidade para separação das duas espécies (VINNERE, 2004).

As similaridades existentes para tamanho e formato dos conídios entre *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* aliadas à freqüente ocorrência de isolados com conídios de tamanho e formatos intermediários, têm demonstrado que características morfológicas dos conídios não representam um atributo consistente na definição destas espécies (SANDERS; KORSTEN, 2003). Desta forma, muitos autores têm utilizado este método em conjunto com métodos moleculares para fins de classificação (SHARMA et al., 2005; ANDRADE et al., 2007).

Em um estudo ultraestrutural sobre o processo de infecção de goiabas por *C. acutatum*, observou-se a penetração através de estômatos ou cutícula, via junção da parede da célula sem a formação de apressórios (DAS; BORA, 1998). O micélio cresceu subcuticularmente e intercelularmente entre e sob as células epidérmicas. O crescimento do fungo no tecido do hospedeiro foi inter e intracelular associado com células aparentemente mortas. A ausência de danos mecânicos e a presença de áreas densas no sítio de infecção indica a possibilidade da ação enzimática do patógeno no tecido de goiabas.

2.2.3 Quiescência

O termo infecção quiescente descreve uma “relação parasítica dormente ou quiescente, a qual, após um período de tempo, se transforma em uma relação ativa” (SWINBURNE, 1983 apud PRUSKY; PLUMBLEY, 1992).

As infecções pós-colheita podem iniciar no campo, durante a ontogenia do fruto conhecida como infecções imediatas, ativas ou não-quiescentes progredindo à medida que as condições ambientais favoreçam o crescimento do patógeno. Os esporos de *Colletotrichum* spp. também podem germinar sobre o fruto verde formando tubo germinativo, o qual penetra a epiderme diretamente ou por meio de ferimentos, permanecendo o micélio em estado quiescente, sem a manifestação de nenhum sintoma, até que o fruto comece a amadurecer (PEREIRA; MARTINEZ JR., 1986; GONGATTI NETTO; GARCIA; ARDITO, 1996).

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

A ocorrência e a manutenção do patógeno em quiescência sobre o hospedeiro ou dentro do mesmo indicam um equilíbrio dinâmico entre 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 parasitismo ativo nos tecidos do hospedeiro (PRUSKY, 1996). Por exemplo, frutos imaturos não possuem nutrientes em níveis adequados para nutrir o patógeno para que desenvolva a doença, enquanto que durante o amadurecimento ocorre a conversão de carboidratos insolúveis em açúcar solúveis necessários ao desenvolvimento do fungo (BARKAI-GOLAN, 2001).

A ativação da infecção quiescente também pode ocorrer diretamente pela quebra de defesa do hospedeiro e indiretamente pela detoxificação de agentes antifúngicos presentes no hospedeiro (PRUSKY; LICHTER, 2007), além de outros fatores, dependendo do patossistema envolvido. Mudanças fisiológicas normais do hospedeiro, manuseio incorreto ou condições ambientais adversas, entre outros fatores, também podem disparar a transição da fase de quiescência para agressiva, promovendo o desenvolvimento da doença (CAPPELLINI; CEPONIS, 1984; JARVIS, 1994). As infecções ativas podem ainda ocorrer quando as frutas já iniciaram ou completaram o processo de maturação, progredindo à medida que as condições ambientais favorecem o crescimento do patógeno. Nessas infecções, a penetração ocorre através de ferimentos que podem ser realizados durante as operações de colheita e armazenamento, tais como injúrias causadas por aquecimento, baixas temperaturas, etileno, e durante a comercialização (BRUTON, 1994). Quando essas infecções ocorrem bem antes da colheita, resultam, normalmente, na eliminação do produto antes da comercialização. No entanto, produtos infectados antes ou durante a colheita freqüentemente entram nos canais de comercialização, devido às infecções não serem claramente visíveis ou as frutas não terem sido descartados pelos agentes de comercialização (CAPPELLINI; CEPONIS, 1984).

2.3 Doença e ambiente

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). Entre as variáveis meteorológicas que mais afetam o desenvolvimento de doenças estão a temperatura e a umidade (umidade relativa do ar, orvalho e chuva) (SUTTON, 1988; VALE; ZAMBOLIM, 1996).

Embora as condições de estocagem afetem o desenvolvimento de doenças pós-colheita, a intensidade das perdas, durante a estocagem, também é influenciada pelas condições ambientais que ocorreram durante o crescimento do vegetal, escolha da variedade, local de produção, sanidade do material, pela nutrição da planta, pelas práticas culturais e pela aplicação de produtos químicos. Esses fatores podem influenciar diretamente o desenvolvimento posterior da doença pela redução da fonte de inóculo ou pela inibição da infecção (SCHROEDER, 2004 apud SILVEIRA et al., 2005).

O conhecimento dos efeitos da interação entre as variáveis climáticas e as diferentes fases do ciclo da doença pode permitir a previsão com maior efetividade da ocorrência de epidemias.

Os processos envolvidos na doença envolvem taxas de mudança e estas envolvem tempo. A inclusão do fator tempo no ciclo de infecção permite a definição de diversos períodos de interesse epidemiológico: período de incubação (período de tempo entre a inoculação e o aparecimento de sintomas), período latente (período de tempo entre a inoculação e a produção de esporos) e período infeccioso (período de tempo, no qual as lesões permanecem esporulantes). Estes fatores são tão influenciados pelas variáveis temperatura e umidade quanto a epidemia como um todo, justificando, assim a utilização desses componentes na avaliação da interação ambiente-patógeno (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996).

2.3.1 Temperatura

O efeito da temperatura sobre as atividades do patógeno é, de modo geral, menos marcante que aquele exercido pela umidade. Patógenos presentes em regiões tropicais e subtropicais são capazes de crescer em uma faixa de temperatura maior do que a umidade. No entanto, a intensidade e a frequência de uma determinada doença são influenciadas pelo grau de desvio de cada condição ambiental do ponto ótimo para o desenvolvimento da doença (AGRIOS, 2005).

A influência da temperatura está relacionada com a maior ou menor duração da etapa de germinação de esporos e, conseqüentemente, de infecção. Também exerce influência nos períodos de incubação e latência, frequência de infecção, tamanho de lesões e na severidade (ROTEM; COHEN; BASHI, 1978). Temperaturas abaixo da ótima reduzem a taxa de desenvolvimento de epidemias pela redução de novos ciclos de infecção (aumento dos períodos de latência e incubação) (COLHOUN, 1973).

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. A inibição do crescimento de muitos microrganismos patogênicos pode ocorrer em temperaturas entre 0 e 5 °C, prevenindo o início de novas infecções e o aumento das infecções existentes. Embora a redução da temperatura possa diminuir a atividade dos patógenos, quando os níveis de temperatura retornam às condições favoráveis à atividade do patógeno, o desenvolvimento de lesões poderá ocorrer. Além disso, a manutenção do sistema de refrigeração na conservação de frutas em pós-colheita apresenta custo significativo, como também muitas frutas tropicais apresentam sensibilidade à temperatura abaixo de 10 °C (BARKAI-GOLAN, 2001; KADER, 2002). A goiaba é muito sensível à baixa temperatura, a qual causa a injúria dos frutos, conhecida por friagem (*chilling*), ocorrendo em frutos armazenados sob temperaturas entre 0 e 5 °C (MANICA et al, 2000).

A temperatura e a umidade relativa do ar no interior das câmaras de frigoconservação têm grande influência na qualidade das frutas armazenadas. Oscilações dessas variáveis causam elevadas perdas de água nas frutas, provocando a formação de água livre no interior das embalagens e/ou na superfície das frutas, que constituem condições propícias à germinação de esporos fúngicos e subsequente penetração (COURSEY, 1983; AWAD, 1993). Em uma análise dos fatores que influenciavam os níveis populacionais de fungos fitopatogênicos em câmaras de frigoconservação de frutas sob condições comerciais, foram constatadas correlações significativas da população fúngica com a temperatura ($r = 0,85$) e a oscilação da umidade relativa do ar ($r = 0,69$) no interior das câmaras (MICHEREFF et al., 2004). Cabe salientar que existe uma forte relação entre as podridões das frutas armazenadas nas câmaras de frigoconservação e os níveis populacionais dos fungos encontrados no ar desses ambientes (VALDEBENITO-SANHUEZA, 1991).

2.3.2 Umidade

A água constitui-se num fator vital para a germinação de esporos e penetração no hospedeiro. Em particular, a água em forma de orvalho tem grande relevância no processo de infecção. Quando a duração do período de molhamento aumenta, ocorre independentemente da temperatura, um aumento na porcentagem de infecção bem sucedida no hospedeiro (SUTTON, 1988). A resposta da duração do período de molhamento na incidência, 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.

Considerando que os períodos diários de umidade não são sempre contínuos e podem ser interrompidos por minutos ou horas, Sutton (1988) concluiu que a habilidade dos patógenos em permanecer 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, e da radiação entre outras

variáveis. Este aspecto pode complicar a previsão de infecções, e muitas vezes justifica investigações em campo (GODOY, 2000).

A temperatura e a umidade relativa são as principais variáveis que influenciam na qualidade das frutas durante o armazenamento e manutenção do produto fresco, sendo a manutenção de temperatura baixa e de umidade relativa alta o meio mais eficaz de reduzir a perda de água. No entanto, a alta umidade relativa favorece a multiplicação de microrganismos e, associado a isso, durante a maturação e senescência, as frutas progressivamente se tornam um substrato excelente para multiplicação de fungos devido à redução de resistência em vista, principalmente da perda progressiva de compostos tóxicos como fenóis e taninos e aumento de substâncias que favorecem a nutrição de fungos. Desta forma, os tratamentos que visam o retardamento do amadurecimento da fruta também atrasam o desenvolvimento de doenças nestas (BENATO, 2002 apud SILVEIRA et al., 2005).

Reduzido número de estudos na área de epidemiologia de doenças pós-colheita tem sido publicado. Diferentemente, em relação às doenças foliares e radiculares, o desenvolvimento de estudos epidemiológicos possibilitou a elaboração de modelos matemáticos e de simulações de progresso das doenças que permitiram o aumento do entendimento dos patossistemas, bem como forneceram bases importantes para o desenvolvimento de estratégias para o manejo dessas doenças (MAFFIA, 2002).

Os estudos relacionados com a influência de fatores ambientais na incidência e severidade de doenças fúngicas em frutas tropicais têm se concentrado principalmente em relação às infecções causadas por *C. gloeosporioides* em abacate, banana, mamão e manga (*Mangifera indica* L.) (FITZELL; PEAK, 1984; FITZELL, 1987; DODD; ESTRADA; JEGER, 1992; PRUSKY; FREEMAN; DICKMAN, 2000).

Nesse contexto, foi observado que a umidade relativa alta, em torno de 100%, aumenta a germinação de conídios e a formação de apressório de *C. gloeosporioides* em manga (ESTRADA; DODD, JEFFRIES, 2000).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Epidemiologia do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo, localizada no município de Piracicaba, SP.

3.1 Obtenção dos isolados e preparo da suspensão fúngica

Os isolados de *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* foram obtidos de frutos doentes, da variedade Kumagai (polpa branca). Os frutos foram higienizados com álcool 70% para desinfestação superficial e, em seguida, o isolamento foi realizado retirando-se fragmentos da região limítrofe entre o tecido sadio e o doente, os quais foram colocados em placas de Petri, inicialmente, contendo meio Ágar-água (AA). Após 48 horas de incubação, em temperatura ambiente ($\pm 25^\circ\text{C}$) e luz contínua, discos de micélio da região mais externa da colônia, foram retirados, com auxílio de um furador, e repicados para Batata-Dextrose-Ágar (BDA). Por último, discos de micélio foram repicados em meio de aveia (TUIE, 1969), o qual favorece a esporulação (DHINGRA; SINCLAIR, 1985). As placas foram mantidas sob luz contínua e temperatura ambiente ($\pm 25^\circ\text{C}$). Como o aspecto da colônia e a morfologia dos conídios não são suficientes para a diferenciação segura das espécies, realizou-se um teste de PCR utilizando-se os pares de primers CgInt/ITS4 e CaInt2/ITS4 e a metodologia descrita por Adaskaveg e Hartin, 1997.

A extração de DNA dos isolados foi realizada a partir do micélio destes isolados, utilizando metodologia proposta por Dellaporta et al. (1983). Para a realização do PCR, primers alvos específicos para espécies foram sintetizados para *C. gloeosporioides* (CgInt) 5'-GGCCTCCCGCCTCCGGGCGG-3' e para *C. acutatum* (CaInt-1) 5'-GGCGCCGGCCCCACACGGGGA-3' e (CaInt-2) 5'-GGCGCCGGCCCC GTCACGGGGG-3' da região ITS (espaçador transcrito interno) do DNA ribossomal (rDNA) baseado nas seqüências de DNA publicadas (MILLS, 1994). Primers alvo foram utilizados em combinação com o primer conservado ITS 4 para a amplificação da região

ITS (WHITE, et al 1990, apud ADASKAVEG; HARTIN, 1997). Os primers foram sintetizados por Oligos Etc., Inc. (WILSONVILLE, OR).

A amplificação do PCR foi realizada em 25 μ L da reação de uma mistura contendo: 1,5 μ L de extrato de DNA (aproximadamente 1 a 5 ng de DNA) ressuspenso em tampão TE; 4 μ L de 200 μ M cada de dATP, dCTP, dGTP e dTTP; 2,5 μ L de 10^x tampão de reação da Taq (500 mM KCl, 100 mM Tris- HCl [pH 9.0], e 1% de Triton X-100); 0,5 μ L de 100 μ M de MgCl₂; 1,0 μ L de 1 μ M do primer alvo; 1 μ L de 1 μ M do primer ITS 4; 0,13 μ L de DNA Taq polimerase (0,65 unidade) e 14,37 μ L de água esterilizada. Um termociclador foi programado para 35 ciclos de desnaturação (94 °C por 1 minuto), anelamento (59 °C por 2 minutos) e extensão do DNA (72 °C por 2 minutos). Após a amplificação, os produtos do PCR e o marcador λ Hind III foram separados usando eletroforese em 1% (peso/vol), gel de agarose em solução tampão Tris-HCl, colorido em brometo de etídeo (0,4 μ g/ml) e visualizado em transiluminador com UV.

Para manutenção e conservação dos isolados, estes foram periodicamente transferidos de frutos inoculados com disco de micélio dos respectivos fungos, para frutos sadios. Os isolados também foram repicados periodicamente em meio de aveia e conservados em óleo mineral (Nujol) esterilizado (TUIE, 1969). Para a conservação do fungo em óleo mineral, colocou-se meio BDA em tubos de ensaio esterilizados deixando-os inclinado até a solidificação, formando uma superfície diagonal. Transferiu-se, com auxílio de uma agulha histológica, um pouco de micélio da cultura para esse tubo e deixou que o micélio crescesse normalmente durante 24 horas. Após este período, cobriu-se o micélio com uma camada de óleo mineral esterilizado em estufa e colocou os tubos na geladeira ($\pm$ 10 °C). O uso do óleo tem a capacidade de limitar as trocas gasosas do micélio com o ar, inibindo o crescimento do micélio por diminuição do metabolismo do fungo.

A suspensão de esporos foi obtida com inóculo produzido em dois frutos (um para cada espécie), sete dias após a inoculação. Esporos foram transferidos dos frutos, com agulha histológica, para um becker contendo 10 mL de água destilada esterilizada. Com uma pipeta graduada foram transferidos 100 μ L da suspensão para a câmara de

Neubauer para realizar a contagem de esporos. Após a contagem, a suspensão foi calibrada para 10^4 conídios/mL.

3.2 Influência da combinação de diferentes temperaturas e períodos de molhamento contínuos na germinação e na formação de apressórios em conídios de *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* in vitro

A germinação dos conídios foi determinada após a deposição de três alíquotas, eqüidistantes, de 50 μ L de suspensão de conídios, na concentração de 10^4 esporos/mL, em cada placa de poliestireno. As placas abertas foram colocadas dentro de um gerbox contendo papel filtro umedecido com 30 mL de água destilada e foram mantidas em câmaras de crescimento (Ação científica, modelo AC 71) nas temperaturas constantes ajustadas para 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 °C e água livre por períodos de 6, 12 e 24 horas de molhamento, sob escuro contínuo. Isto, pois, em estudos realizados por Ahmed (1985), a luz não se mostrou necessária para o crescimento e esporulação de *C. gloeosporioides*. Além disso, testes preliminares foram realizados com as duas espécies para confirmar se não haveria influência na germinação dos conídios.

Para a interrupção do processo de germinação, após o período de molhamento pré-determinado, foram adicionados 20 μ L de lactoglicerol à gota da suspensão fúngica. A avaliação da porcentagem de germinação consistiu na contagem dos 100 primeiros esporos encontrados em cada gota, visualizados sob microscópio óptico em aumento de 400 vezes. Foi considerado germinado, o conídio que apresentou tubo germinativo de tamanho igual ou superior ao comprimento do mesmo, ou aquele que mesmo apresentando tubo germinativo menor, formou apressório. Contou-se também o número de apressórios formados, em porcentagem relativa ao número de esporos germinados.

O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente ao acaso. Foram utilizadas 3 placas, contendo três alíquotas cada uma, para cada combinação de temperatura e molhamento, totalizando 9 repetições por tratamento. O experimento foi realizado duas vezes, simultaneamente para *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*.

3.3 Influência da combinação de diferentes temperaturas e períodos de molhamento descontínuos na germinação e na formação de apressórios em conídios de *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* in vitro

Uma vez determinada a combinação de temperatura e molhamento ideal para a germinação de *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, ensaio semelhante foi realizado, sob temperaturas de 20 e 25 °C, utilizando períodos descontínuos de molhamento, pois, na natureza, raramente ocorrem períodos contínuos de 24 horas de molhamento.

Fixando 24 horas como período final para cessar a germinação, adicionando-se 20 µL de lactoglicerol à suspensão fúngica, foram testadas (i) 6 horas de câmara úmida + 18 horas sem câmara úmida, (ii) 6 horas de câmara úmida + 12 horas sem câmara úmida + 6 horas de câmara úmida, (iii) 12 horas de câmara úmida + 12 horas sem câmara úmida e (iv) 24 horas de câmara úmida.

Em todos os tratamentos, as placas foram mantidas destampadas dentro do gerbox contendo papel de filtro umedecido em 30 mL de água destilada durante o período de molhamento inicial. Em seguida, as placas foram retiradas de dentro do gerbox, colocadas na câmara de exaustão para secagem da gota, durante 30 minutos, permanecendo pelo tempo pré-determinado de secagem dentro das câmaras de germinação, tampadas e sem o gerbox. O período de molhamento foi reestabelecido, colocando-se 50 µL de água destilada, esterilizada sobre os esporos. As placas de poliestireno foram novamente colocadas dentro do gerbox destampadas em câmara úmida pelo período de tempo restante.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Foram utilizadas 3 placas, contendo três alíquotas cada uma, para cada combinação de temperatura e molhamento, totalizando 9 repetições por tratamento. Este experimento foi realizado duas vezes, simultaneamente para as duas espécies de *Colletotrichum*.

3.4 Influência da combinação de diferentes temperaturas e períodos de molhamento na infecção e na colonização de *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* em goiabas “Kumagai” e “Pedro Sato”

3.4.1 Obtenção e inoculação dos frutos

Goiabas da variedade Kumagai (polpa branca) foram obtidas da propriedade do Sr. Ricardo Kumagai, em Campinas, SP, selecionadas de acordo com o estágio de maturação, o qual foi relacionado com a cor do fruto. A cor da casca foi medida com colorímetro Minolta (modelo CR-10). Foram tomadas duas leituras por fruto, em lados opostos de sua região equatorial e os resultados expressos em ângulo de cor ($^{\circ}$ h), de acordo com McGuire (1992 apud CAVALINI, 2004). Os frutos foram separados nos estádios de maturação segundo o seguinte critério: estágio 1, fruto com cor da casca verde-escura, ângulo de cor ($^{\circ}$ h) entre 118 e 119; estágio 2, frutos com quebra da cor verde, ângulo de cor ($^{\circ}$ h) entre 117 e 116; estágio 3, fruto com coloração da casca em início de desenvolvimento de cor amarela, ângulo de cor ($^{\circ}$ h) entre 115 e 114, (CAVALINI, 2004) (Figura 1). As goiabas da variedade Pedro Sato (polpa vermelha), foram adquiridas somente no estágio conhecido como “ponto de comercialização”, correspondente ao estágio 3, na Centrais de Abastecimento de Campinas (CEASA), Campinas, SP.

Figura 1 – Goiabas “Kumagai” nos estádios E1 (cor da casca verde-escura), E2 (cor da casca verde-clara) e E3 (cor da casca verde-amarela), feridas com agulha histológica, em potes individualizados e com algodão umedecido simulando uma câmara úmida

Ao chegar ao laboratório, os frutos foram higienizados, mantendo-os em solução de hipoclorito de sódio 0,5% por 5 minutos e posteriormente lavados em água corrente para retirar o excesso do produto. Em seguida, os frutos secaram em temperatura ambiente e então foram colocados em potes individuais. Colocou-se uma porção de algodão úmido em cada pote e um círculo foi marcado com caneta permanente em cada fruto. No interior deste círculo realizou-se o ferimento com uma agulha histológica, marcando a profundidade de 0,5 cm para todos os frutos.

A suspensão de conídios foi semelhante à utilizada nos experimentos *in vitro*, porém calibrada para 10^5 conídios/mL. Aliquotas de 50 μ L desta suspensão foram depositadas sobre o ferimento realizado. Os potes foram tampados e incubados em câmaras de crescimento (Ação científica, AC 71) sob temperaturas constantes de 15, 20, 25 e 30 °C e períodos contínuos de molhamento de 6 e 24 horas (Figura 2). Em testes preliminares, utilizou-se também incubação a 10 °C. Experimentos com goiabas “Kumagai” nos estádios E1 e E2 somente foram realizados com período de molhamento de 24 horas.

Figura 2 - Goiabas “Kumagai” (polpa branca) individualizadas, acondicionadas na câmara de crescimento (Ação científica, AC 71)

Diariamente, a incidência (porcentagem de frutos doentes) e a severidade (diâmetro da área lesionada) da doença foram avaliados, a partir do aparecimento da primeira lesão até a senescência dos frutos. O diâmetro da área lesionada foi obtido pela média de duas medidas perpendiculares, medido com régua. A incidência foi determinada calculando-se o número de frutos doentes em relação ao número total de frutos, transformado em porcentagem. O período de incubação (tempo entre a inoculação e o aparecimento de sintomas) e o período de latência (tempo entre a inoculação e o aparecimento de lesões esporulantes) foram calculados ao final de cada experimento.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Para cada tratamento utilizaram-se 10 frutos (repetições) totalizando 320 frutos para cada experimento com goiabas “Kumagai” e 160 frutos para cada experimento com goiabas “Pedro Sato”. Foram realizados 2 experimentos para cada variedade de goiaba, simultaneamente para as duas espécies de *Colletotrichum*, com molhamento de 24 horas e 1 experimento com 6 horas.

3.5 Análise dos dados

Os resultados dos experimentos *in vitro* foram analisados estatisticamente por meio de regressões não-lineares, utilizando o software STATÍSTICA 6.0 (Statsoft, Tulsa). Os dados de germinação e formação de apressórios foram ajustados ao modelo beta-monomolecular (HAU; KRANZ, 1990), descrito pela equação $Z = (b_1 * ((T - b_2)^{b_3} * ((b_4 - T)^{b_5}) * (b_6 * (1 - b_7 * \exp(-b_8 * M))))$, onde Z corresponde a germinação de conídios (%) ou formação de apressórios (% relativa ao número de conídios germinados), T corresponde à temperatura (°C), M corresponde ao período de molhamento (horas), b_2 e b_4 representam, respectivamente, as temperaturas mínima e máxima, b_5 representa a amplitude da curva em sua faixa assintótica, b_8 está relacionado à velocidade de aumento da variável dependente em função do molhamento e b_1 , b_3 , b_6 e b_7 são parâmetros do modelo. A adequação do modelo aos dados foi analisada pelos coeficientes de determinação (R^2), obtidos da regressão não-linear. Para cada experimento foi feito um ajuste e todos os parâmetros de cada

experimento foram comparados com o de sua repetição. Quando não houve diferença estatística significativa entre eles, novo ajuste foi realizado, utilizando os dados dos dois experimentos. Os parâmetros b_2 , b_4 , b_5 e b_8 obtidos para *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* foram comparados pelo “teste t” para verificar se houve diferença significativa destes parâmetros entre as espécies.

A análise estatística do período de molhamento descontínuo foi realizada através da análise de variância (teste F), utilizando-se a transformação arco seno da raiz quadrada da porcentagem, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o software STATÍSTICA 6.0.

A relação dos períodos de incubação e de latência com a temperatura foi analisada por meio de regressões não-lineares utilizando o modelo da Lei da Potência (BERGAMIN FILHO et al, 2002) descrito pela equação $y=a*x^b$, onde y é o período (dias), x a temperatura (°C) e a e b são parâmetros do modelo. Modelos lineares, $y=a+b*x$, onde y é a severidade (diâmetro da lesão em cm), x é o tempo (dias) e a e b são parâmetros do modelo, foram ajustados ao progresso da severidade ao longo do tempo.

O progresso da incidência da doença no tempo foi expresso graficamente e as áreas abaixo da curva de cada tratamento foram calculadas por integração trapezoidal (BERGER, 1988). A curva da área abaixo da curva da incidência em função da temperatura foi analisada por meio de regressão não-linear utilizando uma generalização do modelo beta (HAU; KRANZ, 1990), descrito pela equação $Y=(b_1*((T-b_2)^{b_3})*((b_4-T)^{b_5}))$, onde Y corresponde a área abaixo da curva de incidência, T, corresponde à temperatura (°C), b_2 e b_4 representam, respectivamente, as temperaturas mínima e máxima, b_5 representa a amplitude da curva em sua faixa assintótica, b_1 e b_3 são parâmetros do modelo.

A severidade em função do tempo seguiu o modelo linear. A severidade final (14 dias após a inoculação) e a taxa de incremento da severidade (parâmetro b do modelo linear) em função da temperatura foram analisadas por regressão não-linear por meio da generalização do modelo beta (HAU et al., 1990), descrito pela equação $Y=(b_1*((T-b_2)^{b_3})*((b_4-T)^{b_5}))$, onde Y corresponde a severidade final (diâmetro da lesão em cm) ou taxa de incremento da severidade (mm/dia), T, corresponde à temperatura

(°C), b_2 e b_4 representam, respectivamente, as temperaturas mínima e máxima, b_5 representa a amplitude da curva em sua faixa assintótica, b_1 e b_3 são parâmetros do modelo.

4 RESULTADOS

4.1 Influência da combinação de diferentes temperaturas e períodos de molhamento contínuos na germinação e na formação de apressórios em conídios de *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* *in vitro*

Conídios de *C. gloeosporioides* germinaram em todas as temperaturas e períodos de molhamento avaliados, exceto a 40 °C. A faixa favorável à germinação de *C. gloeosporioides* estimada pelo modelo Beta monomolecular ocorreu sob temperaturas de 20 a 25 °C acima de 6 horas de molhamento, correspondendo a germinações acima de 50,0% (Figura 3). Porém, acima de 12 horas, essa faixa se estendeu de 15 a 30 °C. As temperaturas mínima e máxima para germinação do fungo previstas pelo ajuste do modelo foram de 9,5 e 44,1 °C, respectivamente (Tabela 1). O período de molhamento mínimo foi de 6 horas, embora, em testes preliminares, com 2 e 4 horas de molhamento, conídios de *C. gloeosporioides* apresentaram média de germinação de 30% a 25 °C com 4 horas de molhamento. Com 2 horas de molhamento não houve germinação.

Conídios de *C. gloeosporioides* formaram apressórios em todas as combinações de temperaturas e períodos de molhamento, exceto a 40 °C. Porém, a 10 °C com 6 horas de molhamento e a 35 °C, independentemente do período de molhamento, os valores foram muito baixos com médias entre 2,6 e 1,5% de apressórios formados considerando apenas os conídios germinados. Na temperatura de 10 °C, em média, apenas 2,2% dos conídios germinaram e destes observou-se, em média, 2,6% de apressórios. A faixa mais favorável à formação de apressórios (relativa aos conídios germinados), estimada pelo ajuste do modelo Beta monomolecular, ocorreu no intervalo de temperaturas de 15 a 30 °C acima de 6 horas, com germinações superiores a 50%, exceto a 30 °C e 6 horas de molhamento (Figura 4). A formação de apressórios aumentou com o aumento dos períodos de incubação para todas as temperaturas. As temperaturas mínima e máxima para formação de apressórios previstas pelo ajuste do modelo beta monomolecular foram de 7,8 °C e 35,4 °C, respectivamente (Tabela 1). O período de molhamento mínimo foi de 6 horas.

Figura 3 - Superfície de resposta da germinação (%) de conídios de *C. gloeosporioides*, em função da temperatura e do período de molhamento, descrita pela equação $Z = (0,37 * ((T - 9,5)^{0,85} * ((44,1 - T)^{1,59})) * (0,21 * (1 - (0,46) * \exp(-(0,18) * M))))$, onde Z é a germinação (%), T é a temperatura (°C) e M é o período de molhamento (h). Círculos pretos representam dados do primeiro experimento e brancos representam dados do segundo experimento

Figura 4 - Superfície de resposta da formação de apressórios (% relativa aos conídios germinados) de conídios de *C. gloeosporioides*, em função da temperatura e do período de molhamento, descrita pela equação $Z = (1,7 * ((T - 7,8)^{1,32} * ((35,4 - T)^{1,48})) * (0,04 * (1 - (0,89) * \exp(-(0,09) * M))))$, onde Z é a formação de apressórios (% relativa ao número de conídios germinados), T é a temperatura (°C) e M é o período de molhamento (h). Círculos pretos representam dados do primeiro experimento e brancos representam dados do segundo experimento

Houve formação de mais de um tubo germinativo por conídio após 12 horas de molhamento nas temperaturas de 30 e 35 °C (Figura 5), os quais, às vezes, produziram mais de um apressório (Figura 5-B).

Figura 5 - Aspecto de conídios de *C. gloeosporioides* sob temperaturas de 30 °C e 12 horas de molhamento (A), 30 °C e 24 horas de molhamento (B), 35 °C e 12 horas de molhamento (C) e 35 °C e 24 horas de molhamento (D), mostrando a formação de mais de um tubo germinativo e apressório por conídio. Observação em microscópio óptico com aumento de 400 X, barra = 10 µm

Conídios de *C. acutatum* germinaram em todas as temperaturas e períodos de molhamento, exceto a 40 °C. Porém, as germinações a 10 °C com 6 e 12 horas de molhamento e a 35 °C em todos os períodos de molhamento foram, em média, abaixo de 5,0%. A faixa favorável à germinação de *C. acutatum*, estimada pelo ajuste do modelo Beta monomolecular, ocorreu sob temperaturas de 20 a 25 °C acima de 12 horas, correspondendo a germinações acima de 40% (Figura 6). As temperaturas mínima e máxima para a germinação do fungo, previstas pelo ajuste do modelo beta-

monomolecular foram de 1,8 °C e 42,5 °C, respectivamente (Tabela 1). O período de molhamento mínimo foi de 6 horas.

Os conídios de *C. acutatum* formaram apressórios em todas as temperaturas e períodos de molhamento, exceto a 35 e 40 °C e a 10 °C nos períodos de molhamento de 6 e 12 horas. A faixa favorável à formação de apressórios de *C. acutatum*, estimada pelo ajuste do modelo Beta monomolecular, ocorreu sob temperaturas de 20 e 25 °C acima de 6 horas de molhamento, com média acima de 40,0% (Figura 7). Porém, nas temperaturas de 20 a 30 °C acima de 12 horas houve formação de apressórios (relativa ao número de conídios germinados) acima de 40%. As temperaturas mínima e máxima para formação de apressórios previstas pelo ajuste do modelo foram de 9,2 °C e 35,1 °C, respectivamente (Tabela 1). O período de molhamento mínimo foi de 6 horas.

Não houve diferença significativa pelo teste t ($P \leq 0,05$) entre os parâmetros b_2 , b_4 e b_5 , quando se compararam as variáveis germinação e formação de apressórios de *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*.

O parâmetro b_8 do modelo reflete a velocidade de aumento da variável dependente (germinação ou formação de apressórios) em função do período de molhamento. Ele foi significativamente diferente de zero apenas na germinação de conídios de *C. acutatum*. Assim, o aumento do período de molhamento implicou em significativo aumento na germinação de conídios de *C. acutatum*, mas não teve influência na germinação de *C. gloeosporioides*. Em ambas as espécies fúngicas a formação de apressórios foi indiferente ao período de molhamento.

Figura 6 - Superfície de resposta da germinação (%) de conídios de *C. acutatum*, em função da temperatura e do período de molhamento, descrita pela equação $Z = (0,2e^{-7}((T - (1,84)^{6,35})((42,5 - T)^{5,78})) * (0,3e^{-6}(1 - (1,52) * \exp(-(0,13) * M))))$, onde Z é a germinação (%), T é a temperatura (°C) e M é o período de molhamento (h). Círculos pretos representam dados do primeiro experimento e brancos representam dados do segundo experimento

Figura 7 - Superfície de resposta da formação de apressórios (% relativa aos conídios germinados) de conídios de *C. acutatum*, em função da temperatura e do período de molhamento, descrita pela equação $Z = (9,39 * ((T - 9,2)^{1,57})((35,1 - T)^{1,28})) * (0,44 * (1 - (0,99) * \exp(-(0,001) * M)))$, onde Z é a formação de apressórios (% relativa ao número de conídios germinados), T é a temperatura (°C) e M é o período de molhamento (h). Círculos pretos representam dados do primeiro experimento e representam dados do segundo experimento

Tabela 1 - Parâmetros (b_1 a b_8) e coeficientes de determinação (R^2) e da função beta-monomolecular [$Z=(b_1*((T-b_2)^{b_3}*((b_4-T)^{b_5})*(b_6*(1-b_7*\exp(-b_8*M))))$], onde b_2 e b_4 representam, respectivamente, as temperaturas mínima e máxima para o desenvolvimento da doença, b_5 representa a amplitude da curva em sua faixa assintótica, b_8 está relacionada à velocidade de aumento da variável dependente em função do molhamento e b_1 , b_3 , b_6 e b_7 são parâmetros do modelo, Z é a germinação (%) ou formação de apressórios (% relativa ao número de conídios germinados), T é a temperatura em °C e M, o período de molhamento, em horas] ajustada aos dados para as diferentes temperaturas, períodos de molhamento e espécies avaliadas (*C. gloeosporioides* e *C. acutatum*)

Variáveis analisadas	b_1 (erro)	b_2 (erro)	b_3 (erro)	b_4 (erro)	b_5 (erro)	b_6 (erro)	b_7 (erro)	b_8 (erro)	R^2 (erro)
Germinação de <i>C. gloeosporioides</i>	0,37 (-)	9,5 (0,71)	0,85 (0,47)	44,1 (11,86)	1,59 (1,67)	0,21 (-)	0,46 (0,55)	0,18 (0,22)	0,94
Formação de apressórios de <i>C. gloeosporioides</i>	1,70 (-)	7,8 (3,2)	1,32 (0,99)	35,4 (2,68)	1,48 (0,89)	0,04 (-)	0,89 (0,5)	0,09 (0,13)	0,87
Germinação de <i>C. acutatum</i>	$0,2 \times 10^{-7}$ (0,06)	1,84 (5,1)	6,35 (2,15)	42,5 (10,6)	5,78 (5,5)	$0,3 \times 10^{-6}$ (0,06)	1,52 (0,49)	0,13 (0,04)	0,94
Formação de apressórios de <i>C. acutatum</i>	9,39 (0)	9,2 (3,6)	1,57 (1,1)	35,1 (1,87)	1,28 (0,74)	0,44 (0)	0,99 (24,5)	0,001 (0,39)	0,81

4.2 Influência da combinação de diferentes temperaturas e períodos de molhamento descontínuos na germinação e na formação de apressórios em conídios de *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* in vitro

A germinação de conídios de *C. gloeosporioides* submetidos a períodos de seca mostrou que o fungo não suportou interrupções no molhamento e que períodos de molhamento superiores a 12 horas não provocaram incrementos na germinação nem na formação de apressórios (Figura 8-A). Os tratamentos 12 horas de molhamento seguido de 12 horas de seca (12h/12h) e 24 horas de molhamento proporcionaram os maiores valores, com médias entre 87,6 e 90,4% e diferiram estatisticamente dos demais tratamentos pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) nas temperaturas testadas. Os demais tratamentos não diferiram entre si. Tendência semelhante à germinação foi encontrada na formação de apressórios. Nesse caso, porém, a formação máxima de apressórios foi obtida com apenas 6 horas de molhamento (Figura 8-B), não havendo diferenças significativas entre os tratamentos a 20 °C, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Apenas com períodos de molhamento de 24 horas e temperatura de 25 °C houve incremento significativo, proporcionando a máxima formação de apressórios (92,2%).

Figura 8 - Germinação (%) (A) e formação de apressórios (% relativa aos conídios germinados) (B) em conídios de *C. gloeosporioides* sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento descontínuos, sendo um período de molhamento seguido de um período de interrupção molhamento (6+18, 6+12+6, 12+12 e 24 horas). Média de dois experimentos (barras hachuradas - 25 °C e barras brancas - 20 °C). Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si a 20 °C e médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si a 25 °C pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

A germinação de conídios de *C. acutatum* foi mais sensível aos períodos sem molhamento que *C. gloeosporioides*. As maiores porcentagens de germinação (médias entre 69,5 e 76,0%) foram observadas no tratamento 12h/12h e 24 horas, as quais diferiram estatisticamente dos demais tratamentos, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) (Figura 9-A). Os tratamentos 6h/12h/6h e 6h/18h não diferiram entre si e as médias de germinação foram de 21,4 a 23,0%. Não houve diferença estatística entre as temperaturas testadas. Na formação de apressórios não houve diferença estatística entre as temperaturas e o tratamento 24 horas de molhamento apresentou os maiores valores (médias entre 75,9 e 82,6%), diferindo estatisticamente dos demais tratamentos em ambas as temperaturas testadas (Figura 9-B).

Figura 9 - Germinação (%) (A) e formação de apressórios (% relativa aos conídios germinados) (B) em conídios de *C. acutatum* sob diferentes períodos de molhamento descontínuos, sendo um período de molhamento seguido de um período de interrupção molhamento (6+18, 6+12+6, 12+12 e 24 horas). Média de dois experimentos (barras hachuradas – 25 °C e barras brancas – 20 °C). Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si a 20 °C e médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si a 25 °C pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

4.3 Influência da combinação de diferentes temperaturas e períodos de molhamento na infecção e na colonização de *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* em goiabas “Kumagai”

Houve infecção em todas as temperaturas, exceto a 10 °C, em todos os estádios de maturação das goiabas brancas, embora os sintomas tenham sido mais severos em frutos mais maduros. O período de molhamento mínimo necessário para a infecção foi de 6 horas.

A temperatura de 25 °C com período de molhamento de 24 horas foi a combinação mais favorável à infecção e colonização das duas espécies de *Colletotrichum* (Figura 10), sendo a média do diâmetro das lesões de 4,0 cm para *C. gloeosporioides* e 4,1 cm para *C. acutatum*. Com 6 horas de molhamento, frutos em estágio 3 também apresentaram severidades máximas a 25 °C, sendo a média do diâmetro das lesões de 3,8 cm para *C. gloeosporioides* e 3,6 cm para *C. acutatum* (Figuras 10 e 11). Os parâmetros das equações do modelo Beta ajustados aos dados estão apresentados na Tabela 2. Frutos armazenados a 15 °C apresentaram diâmetros de lesões significativamente menores em relação a frutos armazenados a 30 °C, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Figura 10 - Diâmetro das lesões (cm) causadas por *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) em goiabas “Kumagai” no estágio 3, sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B; 24 horas – C e D), 14 dias após a inoculação. Dados referentes a um experimento com 6 horas e a dois experimentos com 24 horas de molhamento

Figura 11 - Aspecto das goiabas “Kumagai” no estágio 3, 10 dias após a inoculação com *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, sob diferentes temperaturas e 6 horas de molhamento. A - 15 °C; B - 20 °C; C - 25 °C; D - 30 °C. Em cada foto a primeira linha corresponde a frutos inoculados com *C. gloeosporioides* e a segunda linha corresponde a frutos inoculados com *C. acutatum*

Ao final da avaliação, 14 dias após a inoculação, frutos do estágio 1 incubados a 15 °C e 20 °C sob 24 horas de molhamento permaneceram verdes, enquanto frutos dos estádios 2 e 3, já estavam completamente maduros (Figura 12). As variáveis da doença em frutos dos estádios 1 e 2 não foram analisadas estatisticamente, pois temperaturas superiores a 25 °C provocaram o amadurecimento repentino dos frutos, impossibilitando a comparação entre os tratamentos. Porém, as médias de cada variável analisada estão apresentadas na Tabela 3.

Figura 12 - Aspecto das goiabas “Kumagai” em diferentes estádios, 12 dias após a inoculação com *C. gloeosporioides* (A, C, E e G) e *C. acutatum* (B, D, F e H), sob diferentes temperaturas (15 °C – A e B, 20 °C – C e D, 25 °C – E e F e 30 °C – G e H) e 24 horas de molhamento. Em cada foto a primeira linha corresponde a frutos em estágio 1, a segunda linha frutos em estágio 2 e a terceira linha, frutos em estágio 3.

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, em cada combinação de molhamento e temperatura foi crescente com o aumento da temperatura (até 25 °C) e do período de molhamento. Houve diferença significativa entre as temperaturas ($P \leq 0,05$). Para *C. gloeosporioides*, independentemente do período de molhamento, o desenvolvimento das lesões, em frutos de estágio 3, foi mais rápido a 25 °C, mais lento a 20 e 30 °C e bastante lento a 15 °C. O comportamento do fungo *C. acutatum* foi semelhante ao *C. gloeosporioides*, porém, com 24 horas de molhamento, a taxa de progresso da doença foi crescente com o aumento da temperatura, alcançando seu máximo a 30 °C (Figura 13). Os parâmetros das equações do modelo Beta ajustados aos dados estão apresentados na Tabela 2.

Figura 13 - Taxas de progresso das lesões (mm/dia) causadas por *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) em goiabas “Kumagai” (estádio 3), sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B; 24 horas – C e D). Dados referentes a um experimento com 6 horas de molhamento e 2 experimentos com 24 horas de molhamento

A incidência de frutos doentes foi crescente com o aumento da temperatura, do período de molhamento e com o amadurecimento do fruto. A maior incidência da doença (100%) ocorreu, 10 dias após a inoculação, sob temperatura de 30 °C e 24

horas de molhamento para ambos os patógenos, em todos os estádios de maturação (Anexos A). Com 6 horas de molhamento, observou-se que a incidência de 100% foi alcançada 12 dias após a inoculação, sob temperaturas de 25 e 30 °C (Anexo B). Porém, nas temperaturas de 25 e 30 °C, frutos dos estádios 1 e 2 amadureceram de forma repentina e igualaram-se aos frutos do estágio 3, impossibilitando a comparação entre os tratamentos. Já sob temperatura de 15 °C, as máximas incidências, alcançadas 14 dias após a inoculação, foram, em média, de 45, 70 e 85% para frutos no estágio 1, 2 e 3, respectivamente. Em testes preliminares, não houve infecção sob temperatura de 10 °C. De forma semelhante, as curvas das áreas abaixo das curvas de progresso da incidência de doença em frutos do estágio 3, aumentaram com o aumento da temperatura até 30 °C, para ambos os fungos (Figura 14). Os parâmetros das equações do modelo Beta ajustados aos dados estão apresentados na Tabela 2.

Figura 14 - Curvas das áreas abaixo das curvas de incidência de antracnose causada por *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) em goiabas “Kumagai” (estádio 3) incubadas sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B; 24 horas – C e D). Valores relativos a um experimento sob 6 horas de molhamento e média de dois experimentos sob 24 horas de molhamento com o erro padrão

Não houve diferença significativa pelo “teste t” ($P \leq 0,05$) entre os parâmetros b_2 , b_4 e b_5 , quando se compararam as variáveis severidade, taxa de progresso e área abaixo da curva da incidência de antracnose para *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*. Porém, os valores de b_5 para *C. gloeosporioides* foram superiores aos valores para *C. acutatum* em todas as variáveis analisadas.

Tabela 2 - Coeficientes de determinação (R^2) e parâmetros (b_1 a b_5) da função beta, $[Z = (b_1 * ((T - b_2)^{b_3}) * ((b_4 - T)^{b_5}))]$, onde b_2 e b_4 representam, respectivamente, as temperaturas mínima e máxima para o desenvolvimento da doença, b_5 representa a amplitude da curva em sua faixa assintótica, b_1 e b_3 são parâmetros da equação, Z é a severidade (diâmetro da lesão, em cm) ou taxa de progresso da lesão (mm/dia) ou área abaixo da curva da incidência (AACI), T é a temperatura em °C e M, o período de molhamento, em horas] ajustada aos dados para as diferentes temperaturas e espécies avaliadas (*C. gloeosporioides* e *C. acutatum*) em goiabas “Kumagai”

Variáveis analisadas	Período de Molhamento	b_1	b_2	b_3	b_4	b_5	R^2
<i>C. gloeosporioides</i>							
Severidade	6 horas	0,01	12,9	1,44	33,60	0,92	0,70
Severidade	24 horas	0,20	10,3	1,03	30,50	0,10	0,96
Taxa de Progresso	6 horas	0,01	10,0	1,86	30,10	0,32	0,99
Taxa de Progresso	24 horas	0,05	10,0	1,55	30,00	0,08	0,87
AACI	6 horas	0,51	10,0	1,86	36,53	0,83	1,00
AACI	24 horas	2,50	10,0	0,81	53,90	1,01	1,00
<i>C. acutatum</i>							
Severidade	6 horas	0,09	10,0	1,18	30,15	0,25	0,60
Severidade	24 horas	0,58	10,0	0,70	30,00	0,02	0,70
Taxa de Progresso	6 horas	0,30	10,0	0,85	30,00	0,07	0,99
Taxa de Progresso	24 horas	0,19	10,0	1,09	30,00	0,01	0,80
AACI	6 horas	9,07	12,9	0,75	43,00	0,80	1,00
AACI	24 horas	9,48	10,0	0,66	55,90	0,71	0,99

Tabela 3 - Diâmetros finais da lesão (cm), incidências de frutos doentes (%) aos 14 dias após a inoculação e taxas de progresso da doença (mm/dia) em goiabas “Kumagai” nos estádios E1 e E2 inoculadas com os fungos *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* submetidos às temperaturas de 15, 20, 25 e 30 °C

Variáveis analisadas	Estádio de maturação	15°C	20 °C	25 °C	30 °C
<i>C. gloeosporioides</i>					
Diâmetro final da lesão (cm)	E1	0,4	0,6	1,6	2,9
Diâmetro final da lesão (cm)	E2	0,5	0,8	2,6	3,3
Taxa de Progresso (mm/dia)	E1	0,4	0,6	1,8	2,9
Taxa de Progresso (mm/dia)	E2	0,4	0,8	2,2	2,8
Incidência final (%)	E1	45	65	75	100
Incidência final (%)	E2	60	100	100	100
<i>C. acutatum</i>					
Diâmetro final da lesão (cm)	E1	0,3	0,5	1,8	3,5
Diâmetro final da lesão (cm)	E2	0,7	1,2	2,3	3,8
Taxa de Progresso (mm/dia)	E1	0,3	0,5	1,7	4,2
Taxa de Progresso (mm/dia)	E2	0,5	1,2	2,4	4,3
Incidência final (%)	E1	45	75	85	100
Incidência final (%)	E2	75	95	100	100

As temperaturas que proporcionaram os menores períodos de incubação e de latência em goiabas no estágio 3 infectadas com *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* foram 25 e 30 °C no período de molhamento de 24 horas (Figuras 15 e 16). Os períodos de incubação para *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* em frutos no estágio 3, obtidos pela média aritmética dos dados dos frutos avaliados, foram de 7 e 8 dias, sob 24 e 6 horas de molhamento, respectivamente. O período de incubação foi mais prolongado para temperaturas abaixo de 20 °C e para frutos em estágio 1 e 2 (Tabela 4).

Os períodos de latência para *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, obtido pela média aritmética dos dados dos frutos avaliados, foi de 10 e 9 dias respectivamente, sob temperaturas de 25 e 30 °C e períodos de molhamento de 6 e 24 em frutos do estágio 3. Para os estádios 1 e 2, os menores períodos de latência foram de 12 e 10

para *C. gloeosporioides* e 12 e 11 dias para *C. acutatum*, a 30 °C e 24 horas de molhamento, respectivamente. Os parâmetros das equações do modelo da Lei da Potência ajustado aos dados estão apresentados na Tabela 5. Para frutos em estágio 1 sob temperatura de 15 e 20 °C e frutos em estágio 2 sob temperatura de 15 °C não foi possível calcular a latência pois durante o período de avaliação não houve esporulação de 50% das lesões dos frutos. As médias das variáveis estão apresentadas na Tabela 4.

Figura 15 - Períodos de incubação de *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) em goiabas “Kumagai” (estádio 3) submetidos a diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B; 24 horas – C e D). Pontos referem-se aos dados de todas as repetições (frutos).

Figura 16 - Períodos de latência de *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) em goiabas “Kumagai” (estádio 3) submetidas a diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B; 24 horas – C e D). Pontos referentes aos dados de todas as repetições (frutos)

Tabela 4 - Períodos de incubação (dias) e Períodos de latência (dias) em goiabas “Kumagai” em diferentes estádios, inoculados com *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, submetidos às temperaturas de 15, 20, 25 e 30 °C

Variáveis analisadas	Estádio de maturação	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C
<i>C. gloeosporioides</i>					
Período de incubação	E1	14	12	12	8
Período de incubação	E2	13	12	10	8
Período de latência	E1	16	14	12	10
Período de latência	E2	14	14	11	10
<i>C. acutatum</i>					
Período de incubação	E1	14	13	10	8
Período de incubação	E2	13	11	9	8
Período de latência	E1	16	14	13	10
Período de latência	E2	14	13	12	10

Tabela 5 - Coeficientes de determinação (R^2) e parâmetros (a e b) da equação do modelo da Lei da Potência [$y=a*x^b$, onde y é o período de incubação ou latência (dias), x a temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e a e b são parâmetros do modelo] ajustada aos dados para as diferentes temperaturas, períodos de molhamento e espécies avaliadas (*C. gloeosporioides* e *C. acutatum*) em goiabas “Kumagai” (estádio 3)

Variáveis analisadas	Período de Molhamento	a	b	R^2
<i>C. gloeosporioides</i>				
Período de incubação	6 horas	103,9	0,77	0,77
Período de incubação	24 horas	85,90	0,75	0,65
Período de latência	6 horas	91,86	0,68	0,72
Período de latência	24 horas	42,30	0,45	0,70
<i>C. acutatum</i>				
Período de incubação	6 horas	65,45	0,65	0,70
Período de incubação	24 horas	74,72	0,70	0,72
Período de latência	6 horas	45,50	0,49	0,50
Período de latência	24 horas	47,65	0,47	0,63

4.4 Influência da combinação de diferentes temperaturas e períodos de molhamento na infecção e na colonização de *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* em goiabas “Pedro Sato”

Em goiabas “Pedro Sato” houve infecção em todas as temperaturas, exceto a 10 $^{\circ}\text{C}$. A faixa mais favorável à severidade foi de 20 a 30 $^{\circ}\text{C}$ (Figura 17). Em frutos submetidos a 6 horas de molhamento e 25 $^{\circ}\text{C}$, as médias de diâmetro das lesões foram de 3,2 e 3,0 cm para *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, respectivamente, 14 dias após a inoculação (Figura 18). Os maiores diâmetros de lesões ocasionados por *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* foram observados 14 dias após a inoculação, a 25 $^{\circ}\text{C}$ e 24 horas de molhamento, com médias de 3,3 e 3,2 cm, respectivamente (Figura 19). Os parâmetros das equações que geraram os gráficos que relacionam diâmetro de lesão à temperatura de incubação estão apresentados na Tabela 6.

Figura 17 - Diâmetro das lesões (cm) causadas por *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) em goiabas “Pedro Sato” no estágio 3, sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B; 24 horas – C e D), 14 dias após a inoculação. Dados referentes a um experimento com 6 horas de molhamento e a dois experimentos com 24 horas de molhamento

Figura 18 - Aspecto das goiabas “Pedro Sato”, 10 dias após a inoculação com *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, armazenadas sob diferentes temperaturas e 6 horas de molhamento. A -15 °C; B – 20 °C; C – 25 °C; D – 30 °C. Em cada foto, a primeira linha corresponde ao *C. gloeosporioides* e a segunda linha ao *C. acutatum*

Figura 19 - Aspecto das goiabas “Pedro Sato”, 12 dias após a inoculação com *C. gloeosporioides* (A, C, E e G) e *C. acutatum* (B, D, F e H), sob diferentes temperaturas (15 °C – A e B, 20 °C – C e D, 25 °C – E e F e 30 °C – G e H) e 24 horas de molhamento.

As taxas de progresso do crescimento das lesões foram semelhantes em todas as combinações de temperaturas e períodos de molhamento (Figura 20). Não houve regressão significativa entre as temperaturas para os diferentes tratamentos avaliados, indicando não haver diferença entre as taxas nas diferentes temperaturas.

Figura 20 - Taxas de progresso das lesões (mm/dia) causadas por *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) em goiabas “Pedro Sato”, sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B; 24 horas – C e D). Dados referentes a um experimento com 6 horas de molhamento e 2 experimentos com 24 horas de molhamento

A maior incidência de doença (100%) ocorreu 10 dias após a inoculação, sob temperaturas de 25 e 30 °C em ambos os períodos de molhamento para as duas espécies de *Colletotrichum*. Porém, com 6 dias a incidência média foi acima de 40% em todos os tratamentos (Anexo C). A área abaixo da curva de incidência da doença foi crescente com o aumento da temperatura com maiores valores para as temperaturas de 20 a 30 °C e menores para os frutos armazenados a 15 °C (Figura 21). Somente para frutos armazenados a 15 °C a incidência foi maior com 24 horas de molhamento, em relação a 6 horas. Nas demais temperaturas, para ambos os períodos de molhamento, os valores foram próximos. Os parâmetros das equações do modelo Beta ajustados aos dados estão apresentados na Tabela 6.

Figura 21 - Curvas das áreas abaixo das curvas de incidência de antracnose em goiabas “Pedro “Sato” causada por *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B; 24 horas – C e D). Valores relativos a um experimento sob 6 horas de molhamento e média de dois experimentos sob 24 horas de molhamento com o erro padrão

Tabela 6 - Coeficientes de determinação (R^2) e parâmetros (b_1 a b_5) da função beta, $[Z=(b_1*((T-b_2)^{b_3})*((b_4-T)^{b_5}))]$, onde b_2 e b_4 representam, respectivamente, as temperaturas mínima e máxima para o desenvolvimento da doença, b_5 representa a amplitude da curva em sua faixa assintótica, b_1 e b_3 são parâmetros da equação, Z é a severidade (diâmetro da lesão, em cm) ou área abaixo da curva da incidência (AACI), T é a temperatura (°C) e M , o período de molhamento (horas)] ajustada aos dados para as diferentes temperaturas, períodos de molhamento e espécies avaliadas (*C. gloeosporioides* e *C. acutatum*) em goiabas “Pedro Sato”

Variáveis analisadas	Período de Molhamento	b_1	b_2	b_3	b_4	b_5	R^2
<i>C. gloeosporioides</i>							
Severidade	6 horas	1,22	14,6	0,29	31,8	0,16	0,87
Severidade	24 horas	0,75	10,0	0,46	30,0	0,15	0,86
AACI	6 horas	442,5	14,9	0,14	35,0	0,06	0,99
AACI	24 horas	135,9	14,6	0,24	47,4	0,37	0,99
<i>C. acutatum</i>							
Severidade	6 horas	0,30	9,55	0,84	30,0	0,07	0,85
Severidade	24 horas	1,33	12,5	0,25	30,8	0,15	0,75
AACI	6 horas	507,6	14,9	0,11	35,0	0,04	0,99
AACI	24 horas	548,1	14,9	0,08	35,1	0,05	0,99

Os menores períodos de incubação e latência foram observados nas temperaturas de 20 a 30 °C. Para *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, o menor período de incubação, obtido pela média aritmética dos dados dos frutos avaliados, foi de 7 dias, em ambos os períodos de molhamento, observado a 30 °C (Figura 22). A menor latência observada para *C. gloeosporioides*, obtida pela média aritmética dos dados dos frutos avaliados, foi de 8 dias, observada a 25 e 30 °C com 24 horas de molhamento. Para *C. acutatum*, o menor período de latência foi de 9 dias, sendo observado a 25 e 30 °C em ambos os períodos de molhamento (Figura 23). Os parâmetros das equações do modelo da Lei da Potência ajustado aos dados estão apresentados na Tabela 7.

Figura 22 - Períodos de incubação de *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) em goiabas “Pedro Sato” submetidas a diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B; 24 horas – C e D). Círculos pretos representam dados de todas as repetições

Figura 23 - Períodos de latência de *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D) em goiabas “Pedro Sato” submetidas a diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B; 24 horas – C e D). Pontos referentes aos dados de todas as repetições. Círculos pretos representam dados de todas as repetições

Tabela 7 - Coeficientes de determinação (R^2) e parâmetros (a e b) da equação do modelo da Lei da Potência [$y=a*x^b$, onde y é o período de incubação ou latência (dias), x a temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e, a e b são parâmetros do modelo] ajustada aos dados para as diferentes temperaturas, períodos de molhamento e espécies avaliadas (*C. gloeosporioides* e *C. acutatum*) em goiabas “Pedro Sato”

Variáveis analisadas	Período de Molhamento	a	b	R^2
<i>C. gloeosporioides</i>				
Período de incubação	6 horas	94,28	0,79	0,78
Período de incubação	24 horas	29,95	0,45	0,60
Período de latência	6 horas	81,40	0,68	0,86
Período de latência	24 horas	34,43	0,42	0,60
<i>C. acutatum</i>				
Período de incubação	6 horas	120,8	0,89	0,85
Período de incubação	24 horas	26,29	0,41	0,60
Período de latência	6 horas	68,74	0,63	0,83
Período de latência	24 horas	41,23	0,46	0,66

5 DISCUSSÃO

De modo geral, os requerimentos para o crescimento *in vitro* de ambos os fungos foram similares. É importante observar que, embora a temperatura e molhamento favoráveis à germinação e formação de apressórios para *C. gloeosporioides* estejam entre 20 e 25 °C acima de 6 horas de molhamento, com 15 e 30 °C e 6 horas de molhamento obtém-se médias em torno de 40% de germinação, significativa para a doença em campo.

Diferentemente de isolados causadores de antracnose em abacate, para os quais se demonstrou maior tolerância de *C. acutatum* a temperaturas baixas, significativamente diferente de *C. gloeosporioides*, neste trabalho não foi constatada diferença estatística entre as espécies. A rápida germinação e formação de apressórios em ampla faixa de temperatura indicam habilidade das duas espécies 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.

Além da temperatura, o período de molhamento mostrou influência na germinação, principalmente de *C. acutatum*. Comparando-se com *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* é mais sensível a períodos de molhamento mais curtos. Por outro lado, Estrada et al (2000) constataram que a formação de apressórios de isolados de *C. gloeosporioides* de manga era altamente inibida em curtos períodos de molhamento e mostraram incremento significativo quando o período passava de 12 para 24 horas de molhamento. A duração do período de molhamento influencia o estabelecimento da infecção. Assim, molhamentos curtos podem impedir a ocorrência do fenômeno. A temperatura, por sua vez, determina rapidez e extensão da infecção, sendo, portanto, de influência quantitativa (LEITE; AMORIM, 2002).

Com 24 horas de molhamento e temperaturas de 30 e 35 °C observou-se a formação de ramificações do tubo germinativo e formação de mais de um apressório por tubo germinativo somente em *C. gloeosporioides*. Dinh et al. (2003) também observaram, em estudo *in vivo* com frutos de manga que conídios de *C.*

gloeosporioides apresentaram ramificações no tubo germinativo e produziram mais de um apressório após 48 horas de molhamento.

Nenhum dos patógenos recuperou a germinação após interrupção do molhamento. O efeito da interrupção do período de molhamento no desenvolvimento da doença depende de quando o período seco ocorre durante a infecção. A infecção pode não ocorrer se o período seco sobrevir o início da germinação, antes da formação de apressórios. Para *Mycosphaerella pinodes*, a umidade é essencial para a germinação, mas a formação de apressórios, a penetração e o desenvolvimento da doença podem progredir durante períodos secos (ROGER; TIVOLI; HUBER, 1999).

O conhecimento das condições que favorecem a germinação e a formação de apressórios *in vitro* é importante para se comparar com o que ocorre no fruto. 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. Os patógenos apresentaram comportamento semelhante para as variáveis testadas, desenvolvendo-se melhor nos frutos sob altas temperaturas e períodos de molhamento prolongados. Por isso, no campo, incidências elevadas da doença são esperadas durante períodos prolongados de chuva, correspondente ao verão, época de colheita dos frutos. Em temperaturas elevadas, com apenas 10 dias de incubação, 100% dos frutos mostraram sintomas. Porém, em frutos do estágio 3, por exemplo, a redução na temperatura de 30 para 15 °C reduziu a incidência de 100 para 50% no mesmo período.

Os períodos de incubação e latência, nas duas variedades testadas, foram bastante curtos em temperaturas acima de 20 °C (6 a 7 dias). Então, é importante que, durante a colheita, os frutos não sejam deixados no pomar, nem tampouco no chão, pois embora possam não apresentar sintomas inicialmente, estes aparecem em poucos dias, contribuindo como fonte de inóculo para os novos frutos. Temperaturas extremas ou limítrofes são responsáveis por aumentar o tempo para iniciar uma epidemia ou ainda atuam de maneira direta nos seus componentes, como, por exemplo, aumentando o período latente e de incubação (ROTEM, 1978). Sob temperatura de 15 °C, o período de incubação em ambas variedades testadas, foi mais prolongado (12 e 11 dias, respectivamente) em relação às demais temperaturas testadas.

Baixas temperaturas proporcionaram um efeito direto adverso na germinação e na formação de apressórios de *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* e conseqüentemente reduziram a incidência e aumentaram os períodos de incubação e latência. Em geral, *C. acutatum* foi mais tolerante a baixas temperaturas em relação ao *C. gloeosporioides*, causando lesões de maior diâmetro e maiores taxas de progresso da doença em frutos armazenados a 15 °C. Resultados semelhantes foram observados por Everett (2003), em experimento com frutos de abacate, no qual observou lesões causadas por *C. acutatum* maiores em frutos armazenados a 5,5 °C em relação a *C. gloeosporioides*. Segundo Jacomino, (1999), goiabas “Kumagai” armazenadas a 10 e 12 °C foram conservadas por 14 dias e frutos armazenados a 8 °C, por 21 dias, embora tenha sido verificado início de sintomas pelo frio. Por outro lado, goiabas armazenadas a 2 °C apresentaram danos fisiológicos, aos 14 dias de armazenamento, representados por enrugamento da casca, pouco desenvolvimento da cor amarela e alterações na composição química (redução na acidez total titulável e no teor de vitamina C).

Assim como o armazenamento sob baixas temperaturas, alguns métodos de controle de antracnose pós-colheita em goiabas como 1-MCP, atmosfera modificada/controlada e cera de carnaúba são eficientes em retardar o amadurecimento e o aparecimento de doenças pós-colheita, porém não impedem o desenvolvimento de patógenos (BASSETTO et al., 2002; JACOMINO et al., 2003).

A severidade da antracnose neste estudo foi elevada em uma ampla faixa de temperatura (20 a 30 °C), a qual coincide com temperaturas nas regiões onde se planta goiaba, que abrangem de 25 a 35 °C durante a estação das chuvas. Esta variação parece ter um efeito direto no desenvolvimento da lesão e expressão do sintoma. Aparentemente, a umidade livre e umidade relativa em pomares de goiaba durante a estação chuvosa é alta e prolongada suficiente para permitir uma rápida infecção. Além disso, as temperaturas noturnas podem moderar o efeito das altas temperaturas do dia para fornecer as condições ambientais que levam à infecção e ao desenvolvimento de lesões (PANDEY; AURORA; DUBEY, 1997). Estudos anteriores mostraram que *Colletotrichum* spp. causaram severa infecção em diferentes hospedeiros sob temperaturas que se estendem de 24 a 31 °C (DILLARD, 1989; WILSON; MADDEN; ELLIS, 1990; JOHNSON; MILIESZKY, 1993).

Frutos imaturos (E1 e E2) de goiaba “Kumagai”, antes de se igualarem ao ponto de maturação do estágio 3, apresentaram lesões menores e um atraso no desenvolvimento das mesmas comparado com frutos em ponto de colheita, mostrando a relação entre o desenvolvimento da doença e estágio de maturação. A susceptibilidade de frutos tropicais e subtropicais ao *Colletotrichum* está relacionada ao nível de inibidores antifúngicos presentes nestes frutos (PRUSKY; PLUMBLEY, 1992). Vercesi et al. (1997 apud WAHID, 2001) demonstraram que exsudatos dos frutos podem afetar o crescimento do patógeno significativamente nos estágios mais precoces da infecção.

Estudos com goiabas das variedades Shambati, Pakistani, Shendi e Ganib mostraram que o conteúdo total e individual de açúcar aumentou gradualmente durante os estágios de desenvolvimento iniciais e significativamente nos estágios mais maduros. Houve decréscimo de polifenol com o desenvolvimento do fruto. Compostos fenólicos estavam presentes em alta quantidade em frutos verdes imaturos e quando alcançaram o estágio de consumo somente traços foram observados (EL BULK; EL BABIKER; EL TINAY, 1997). Bashir e Abu-Goukh (2003) estudaram as mudanças na composição durante o amadurecimento de goiabas de polpa branca e rosada e também verificaram que os compostos fenólicos na polpa e casca de ambos os tipos de goiaba diminuíram com o amadurecimento do fruto e conseqüente redução da firmeza. Além disso, o teor encontrado na casca foi maior em relação ao da polpa, podendo ter influência na proteção contra doenças e pragas.

O diâmetro das lesões de antracnose em goiabas “Pedro Sato” sob período de molhamento de 24 horas foi semelhante em todas as temperaturas testadas, para ambos os fungos, diferentemente dos resultados observados para goiabas “Kumagai”. O processo de amadurecimento da goiaba de polpa vermelha pode ter sido mais curto, favorecendo a colonização dos fungos em todas as temperaturas, enquanto o processo de amadurecimento da goiaba branca foi mais lento nas temperaturas mais amenas, desfavorecendo o desenvolvimento dos fungos. Em estudos com goiabas da variedade Pedro Sato, Azzolini et al. (2004), observaram que a cor da casca apresentou uma diminuição dos valores do ângulo ($^{\circ}$ h) durante o armazenamento a 25 °C, indicando a mudança dos frutos da cor verde para amarela. Além disso, ocorreu redução na

firmeza, no peso e aumento do °Brix. A perda de massa fresca do fruto é um dos principais problemas durante o armazenamento do fruto, pois, a perda de água leva ao amolecimento dos tecidos, tornando os frutos susceptíveis à deterioração.

A relação de dependência da temperatura e do número de horas de molhamento com a porcentagem de doença, estabelecida em condições controladas, nem sempre pode ser observada no campo, principalmente devido a variações da temperatura e do período de molhamento dentro da cultura e também, devido a variáveis que existem no campo que não são consideradas em estudos em condições controladas, como frutos em estádios diferentes, condições fisiológicas (SUTTON, 1988).

Porém, o conhecimento dos processos de infecção e colonização das espécies de *Colletotrichum*, assim como dos fatores que influenciam tais processos, é um pré-requisito para o desenvolvimento de estratégias efetivas de controle. Uma alternativa para o controle de doenças em campo é a previsão da severidade da doença a partir de variáveis climáticas (LALANCETTE et al., 1988 apud GODOY, 2000). O emprego de sistemas de previsão tem se destacado como uma alternativa para otimizar o uso de produtos químicos, uma vez que auxiliam o processo de tomada de decisão, indicando períodos de condições favoráveis ao desenvolvimento das doenças e determinando o momento adequado para as aplicações de fungicidas (PITBLADO, 1988 apud SILVEIRA, 2005). Os calendários de pulverização adotados pelos produtores são, na maioria das vezes, excessivos e não discriminatórios, desconsiderando a interação entre aspectos biológicos do ciclo de vida do patógeno e as condições climáticas. Além disso, apenas eventualmente apresentam controle efetivo e racional da doença. No presente trabalho, embora a faixa favorável à doença tenha sido bastante ampla, o período de molhamento favorável foi a partir de 6 horas, nos experimentos *in vivo*, limitando a ocorrência na doença. Neste caso, considerando que, através da poda e irrigação, os produtores de fruta de mesa colhem a goiaba o ano todo, poder-se-ia propor um sistema de previsão para realizar a aplicação de agroquímicos apenas nas épocas favoráveis à doença, associando a outros métodos de controle como recolhimento de frutos com sintomas do pomar, modificação das práticas de manuseio para diminuir o risco de infecções causadas por ferimentos, higienização dos frutos em soluções de hipoclorito para reduzir a população de propágulos do fungo, sistemas de

acondicionamento refrigerado, entre 10 e 15 °C, dependendo do período tempo entre armazenamento e consumo, para manter a qualidade e estender o período de vida pós-colheita do fruto.

Estudos epidemiológicos envolvendo doenças pós-colheita podem permitir um maior entendimento de patossistemas, bem como fornecer informações importantes para o desenvolvimento de estratégias de manejo que minimizem o uso de agrotóxicos, atendendo às normas de controle ambiental, melhorem a qualidade do produto e a qualificação dos trabalhadores envolvidos na cadeia produtiva. Além disso, os produtores também estarão se adequando às normas do PIF, exigido por muitos países importadores, garantindo melhores preços e conseqüente valorização do seu produto no mercado.

6 CONCLUSÕES

C. gloeosporioides e *C. acutatum* germinaram, formaram apressórios e desenvolveram-se em goiabas em intervalos de temperatura e período de molhamento semelhantes.

A infecção e a colonização de goiabas “Kumagai e ”Pedro Sato” foram favorecidas por períodos de molhamento acima de 6 horas. Temperaturas entre 25 e 30 °C foram mais favoráveis para o desenvolvimento da antracnose em goiabas “Kumagai” e intervalos entre 20 a 30 °C foram mais favoráveis em goiabas “Pedro Sato”. Estes dados podem auxiliar na elaboração de sistemas de previsão e de estratégias de manejo da doença.

O armazenamento sob temperatura de 15 °C reduziu significativamente o diâmetro das lesões e a incidência de antracnose em goiabas “Kumagai”, bem como prolongou os períodos de incubação e latência. Para goiabas “Pedro Sato” o armazenamento deve ser realizado abaixo de 15 °C.

REFERÊNCIAS

- ADASKAVEG, J.E.; HARTIN, R.J. Characterization of *Colletotrichum acutatum* isolates causing anthracnose of almond and peach in California. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 87, p. 979-987, 1997.
- ADSULE, R.N.; KADAM, S.S. Guava In: SALUNKHE, D.K.; KADAM, S.S. (Ed.). **Handbook of fruit science and technology, production, composition, storage and processing**. New York: Marcel Decker, 1995. chap. 9, p. 419-433.
- AGRIOS, G. N. Environmental effects on the development of infectious plant disease. In: _____. **Plant Pathology**. 5th ed. Burlington: Elsevier, 2005. chap. 7, p. 249-263.
- 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.
- AHMED, K.M. Effect of temperature and light on the growth and sporulation of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. **Bangladesh Journal of Botany**, Dhaka, v. 14, n. 2, p. 155-159, 1985.
- AMARAL, C.S.; SALVAIA, A.; FERREIRA, A.F.G.; MARTINS, M.C.; AMORIM, L. Condições favoráveis à germinação e avaliação de meios de cultura e da idade da colônia na esporulação de *Guignardia psidii*. **Summa Phytopathologica**, v. 33(Supl.), p. 32. 2007. Resumo
- ANDRADE, E.M.; UESUGI, C.H.; UENO, B.; FERREIRA, M.A.S.V. Caracterização morfo cultural e molecular de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* patogênicos ao mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 2, p. 21-31, 2007.
- ANDREWS, P.K.; LI, S. Partial purification and characterization of β -D-galactosidase from sweet cherry, a nonclimateric fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 42, n. 10, p. 2177-2188, 1994.
- ANDRIGUETO, J.R.; KOSOSKI, A.R. Desenvolvimento e Conquistas da Produção Integrada de Frutas no Brasil – até 2004. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PRODUÇÃO INTEGRADA DE FRUTAS, 7., 2005, Fortaleza, 2005. **Anais ... Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical**, 2005. v. 1, n. 1, p. 28-36.
- AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Nobel, 1993. 114 p.
- AZZOLINI, M.; JACOMINO, A.P.; SPOTO, M.H.F. Estádios de maturação e qualidade pós-colheita de goiabas 'Pedro Sato'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, p. 29-31, 2004.

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

BASHIR, H.A.; ABU-GOUKH, A.A. Compositional changes during guava fruit ripening. **Food Chemistry**, London, v. 80, p. 557-563, 2003.

BASSETTO, E.; SESSO, T.; 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, n. 2, p. 122-127, 2002.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais**: epidemiologia e controle econômico. São Paulo: Ceres, 1996. 289 p.

BERGAMIN FILHO, A.; HAU, B., AMORIM, L.; LARANJEIRA, F.F. Análise espacial de epidemias. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 10, p. 155-218, 2002.

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.

BLEINROTH, E. W.; SIGRIST, J.M.M.; ARDITO, E.F.; CASTRO, J. V.; SPAGNOL, W. A.; NEVES FILHO, L. C. **Tecnologia de pós-colheita de frutas tropicais**. Campinas: ITAL, 1992. 203 p.

BRUTON, B. D. Mechanical injury and latent infections leading to postharvest decay. **HortScience**, Alexandria, v. 29, p. 747-749, 1994.

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 Califórnia, Agricultural Experiment Station, 1984. p. 24-30.

CARVALHO, V.D. Qualidade e conservação pós-colheita de goiabas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 179, p. 48-54, 1994.

CASTRO, J.V., SIGRIST, J.M.M. Matéria Prima In: MEDINA, J.C., CASTRO, J.V., SIGRIST, J.M.M. **Goiaba**: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. 2.ed. Campinas: ITAL, 1991. p. 121-177.

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. **Recobrimentos comestíveis em goiabas cv. 'Kumagai'**. 2007. 69 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

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

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.

COURSEY, D. G. Post-harvest losses in perishable foods of the developing world. In: MORRIS, L. (Ed.). **Post-harvest physiology and crop preservation**. New York: Plenum, 1983. p. 485-513.

DAS, M.; BORA, K.N. Ultrastructural studies on infection precesses by *Colletotrichum acutatum* on guava fruit. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v. 51,n. 4, p. 353-356, 1998.

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.

DHINGRA, O.D.; SINCLAIR, J. B. **Basic plant pathology methods**. Boca Raton: CRC Press, 1985. 355 p.

DILLARD, N.R. Effect of temperature, wetness duration and inoculum density an infection and development of *Colletotrichum coccodes* on tomato fruits. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 68, p. 389-393, 1978.

DINH, S.Q.; CHONGWUNGSE, J.; PONGAM, P.; SANGCHOTE, S. Fruit infection by *Colletotrichum gloeosporioides* and anthracnose resistance of some mango cultivars in Thailand. **Australasian Plant Pathology**, Camberra, v. 32, p. 533-538, 2003.

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

EL-BULK, R.E.; EL BABIKER, F.E.; EL TINAY, A.H. Changes in chemical composition of fruits during development and ripening. **Food Chemistry**, London, v. 59, p. 395-399, 1997.

ESTRADA, A.B.; DODD, J.C.; JEFFRIES, P. Effect of humity 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**, Camberra, v. 32, p. 441-448, 2003.

FITZELL, R. D. Epidemiology of anthracnose disease of avocados. **South African Avocado Growers' Association Yearbook**, Pretoria, v. 10, p. 113-116, 1987.

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 2007: anuário da agricultura brasileira**. São Paulo, 2007. p. 329-332.

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

GODOY, C.V. **Influência de variáveis climáticas no desenvolvimento da ferrugem polysora na cultura do milho**. 2000. 79 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

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.

GONZAGA NETO, L.; SOARES, J.M. **A cultura da goiaba**. Petrolina: Embrapa Semi-árido, 1995. 75 p.

GUERBER, J.C.; CORRELL, J.C. Characterization of *Glomerella acutata*, the teleomorph of *Colletotrichum acutatum*. **Mycologia**, New York, v. 93, n. 1, p. 216-229, 2001.

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.

HARTIL, W.F.T. Postharvest rots of avocado in New Zealand and their control. In: BRIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCE, 1992. p. 1157-1162.

HAU, B.; KRANZ, J. Mathematics and statistics for analyses in epidemiology. In: Kranz, J. (Ed.) **Epidemics of plant disease: mathematics analyses and modeling**. Berlin: Springer-Verlag, 1990. p. 12-52.

HUBER, D. J. The role of cell-wall hydrolysis in fruit softening. **Horticultural Review**, Westport, v. 5, p. 169-219, 1983.

INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA. **A cultura da goiaba em São Paulo.**
Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?codTexto=1902>>. Acesso em: 11 nov. 2006.

INABA, A. Recent studies on postharvest physiology and technology of horticultural crops in Japan. **Postharvest News and Information**, London, v. 4, n. 4, p. 101N-104N, 1993.

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.

JACOMINO, A. P.; OJEDA, R. M.; KLUGE, R.A.; SCARPARE FILHO, J.A. Conservação de goiabas tratadas com emulsões de cera de carnaúba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 401-405, 2003.

JARVIS, W.R. Latent infection in pré and postharvest environment. **HortScience**, Alexandria, v. 29, 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, D.A.; MILIESKY, E.R. Effect of wounding and wetting duration on infection of potato foliage by *Colletotrichum cocodes*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 77, p. 13-17, 1993.

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

JUNQUEIRA, N.T.V.; COSTA, H. Controle das doenças da goiabeira In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; MONTEIRO, A.J.A.; COSTA, H. (Ed.) **Controle de doenças de plantas: fruteiras**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002. v. 2, p. 1247-1277.

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. (Ed.). **Postharvest technology of horticultural crops**. 3nd ed. Riverside: UC Regents, 2002. 535 p.

KAYS, J. S. **Postharvest physiology of perishables plant products**. New York: AVI, 1991. 543 p.

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.

LIMA, A.V. **Qualidade pós-colheita da goiaba “Pedro Sato” tratada com Ca ‘CI IND.2’ e 1-MCP em condições ambiente**. 2004. 67 p. Lavras, Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

LOPEZ, A.M.Q. Taxonomia, patogênese e controle de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 9, p. 291-337, 2001.

MAFFIA, L. A. Epidemiologia de doenças em pós-colheita. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS: PATOLOGIA PÓS-COLHEITA DE FRUTOS E HORTALIÇAS, 2., 2002, Lavras, MG. **Anais ...** Lavras : UFLA; FAEPE, 2002. v. 1, p. 31-39.

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.

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.

MICHEREFF, S.J.; ALBUQUERQUE, H.S.; SILVA, J.A.; SILVEIRA, N.S.S.; GEBER, D.A. Ocorrência e controle de fungos contaminantes em câmaras de frigoconservação de frutos na cidade de Recife. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, n. 2, p. 198-203, 2004.

MILLS, P.R.; SREENIVASAPRASAD, S.; BROWN, A.E. Detection of the anthracnose pathogen *Colletotrichum*. In: SCHOTS, A.; DEWEY, F.M.; OLIVER, R. (Ed.). **Modern assays for plant pathogenic fungi**: identification, detection e quantification. Oxford: CAB International, 1994. p. 183-189.

MORAES, S.R.G.; MASSOLA Jr., N.S; TANAKA, F.A.O. Estudos ultraestruturais da penetração de *Colletotrichum gloeosporioides* em goiabas com diferentes idades. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, p. 27, 2008. Resumo

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.

PANDEY, R.R.; AURORA, D.K.; DUBEY, R.C. Effect of environmental conditions and inoculum density on infection of guava fruits by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Mycopathologia**, Den Haag, v. 137, p. 165-172, 1997.

PEREIRA, F.M.; MARTINEZ JÚNIOR, M. Goiabas para industrialização. Editora Legis Suma, Jaboticabal, 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.

PIZA Jr., C.T. **A produção integrada de goiaba: uma introdução ao assunto**. Disponível em: <http://www.nutricaoeplantas.agr.br/site/ensino/pos/Palestras_William/Livrogoiaba_pdf/10_Producaointegrada.pdf>. Acesso em: 03 out. 2007.

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.; LICHTER, A. Activation of quiescent infections by postharvest pathogens during transition from the biotrophic to the necrotrophic stage. **FEMS Microbiological Letters**, Amsterdam, v. 268, p. 1-8, 2007.

PRUSKY, D.; PLUMBLEY, R.A. Quiescent infections of *Colletotrichum* in tropical and subtropical fruits. In: BAILEY, J.A.; JEGER, 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.

ROGER, C.; TIVOLI, B.; HUBER, L. Effects of interrupted wet periods and different temperatures on the development of ascochyta blight caused by *Mycosphaerella pinodes* on pea (*Pisum sativum*) seedlings. **Plant Pathology**, Oxford, v. 48, p. 10-18, 1999.

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.

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.

SANCHEZ, M.; DIANESE, J. C.; COSTA, C. L. Fatores determinantes do dano de *Phoma caricae-papayae* ao fruto do mamoeiro (*Carica papaya*) e detecção de resistência ao fungo em *Carica gaudotiana*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 16, p. 121-129, 1991.

SANDERS, G.M.; KORSTEN, L. A comparative morphological study of South African avocado and mango isolates of *Colletotrichum gloeosporioides*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 81, p. 877-885, 2003.

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.

SHARMA, P.N.; KAUR, M.; SHARMA, O.P.; SHARMA, P.; PATHANIA, A. Morphological, pathological and molecular variability in *Colletotrichum capsici* the cause of fruit rot of chilies in the subtropical region of north-western. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 153, p. 232-237, 2005.

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.

SILVA, C.F.B.; MICHEREFF, S.J.; ALBUQUERQUE, H.S.; SILVA, J.A.; OLIVEIRA, S.M.A.; DANTAS, S.A.F. Epidemiologia de enfermidades fúngicas de postcosecha en frutos de papaya. **Boletín Micológico**, Chile, v. 17, p. 1-7, 2002.

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.

SIMMONDS, J.H. A study of the species *Colletotrichum* causing ripe fruit rots in Queensland. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, Brisbane, v. 22, p. 437-459, 1965.

SING, B.P.; SING, H.K.; CHAUHAN, K.S. Effect of post-harvest calcium treatments on the storage life of guava fruits. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, New Delhi, v. 51, n. 1, p. 44-47, 1981.

SKIPP, R.A.; BEEVER, R.E.; SHARROCK, K.R.; RIKKERINK, E.H.A.; TEMPLETON, M.D. *Colletotrichum*. In: KOHMOTO, K. SINGH, U.S.; SINGH, R.P. (Ed.). **Pathogenesis and host specificity in plant diseases**. Oxford: Pergamon; Elsevier Science, 1995. v. 2, p. 119-142.

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

_____. Predictive value of weather variables in the epidemiology and management of foliar disease. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 13, p. 305-312, 1988.

TIMMER, L.W.; BROWN, G.E.; ZITKO, S.E. The role of *Colletotrichum* spp. in postharvest anthracnose of citrus and survival of *C. acutatum* on fruit. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 82, p. 415-418, 1998.

TOZZE Jr., H.J.; FISCHER, I.H.; MASSOLA Jr., N.S. **Taxonomia e caracterizações morfológicas, culturais, patogênicas e moleculares das espécies de *Colletotrichum* associadas a solanáceas e maracujá**. In: I Workshop Regional sobre *Colletotrichum*. Recife. 2007. 1 CD-ROM

TUITE, J. **Plant pathological methods: fungi and bacteria**. Minneapolis: Burgess Publ., 1969. 239 p.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. **Desinfecção da água e das câmaras frigoríficas para diminuição do inóculo de *Penicillium expansum***. Pelotas: EMBRAPA, CNPFT, 1991. 16 p. (EMBRAPA. CNPFT. Boletim de Pesquisa, 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.

VINNERE, O. Approaches to species delineation in anamorphic (mitosporic) fungi: A study on two extreme cases. **Comprehensive Summaries of Uppsala dissertations from the Faculty of Science and Technology**, Uppsala, v. 917, 2004. 72 p. Disponível em: <http://www.diva-portal.org/diva/getDocument?urn_nbn_se_uu_diva-3902-1__fulltext.pdf>. Acesso em: 05 set. 2007.

WAHID, O.A.A. Occurrence of *Colletotrichum* anthracnose disease of guava fruit in Egypt. **International Journal of Pest Management**, London, v. 47, n. 2, p. 147–152, 2001.

WHARTON, P.S.; DIÉGUEZ-URIBEONDO, J. The biology of *Colletotrichum acutatum*. **Anales Jardín Botánico de Madrid**, Madrid, v. 61, p. 3–22, 2004.

WILSON, L.L.; MADDEN, L.V.; ELLIS, M.A. Influence temperature and wetness duration on infection of immature and mature strawberry fruits by *Colletotrichum acutatum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 80, p. 11-116, 1990.

XISTO, A.L.R.P. **Conservação pós-colheita de goiaba “Pedro Sato” com aplicação de cloreto de cálcio em condições ambientais.** 2002. 47 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

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.

ANEXOS

Anexo A – Incidência de goiabas “Kumagai” com antracnose (%) causada por *C. gloeosporioides* (A, C e E) e *C. acutatum* (B, D e F), em diferentes estádios (E1 – A e B, E2 – C e D e E3 – E e F), diferentes temperaturas e período de molhamento de 24 horas, no período avaliado (6 a 14 dias após a inoculação)

Anexo B – Incidência de goiabas “Kumagai” com antracnose (%) causada por *C. gloeosporioides* (A) e *C. acutatum* (B), armazenadas sob diferentes temperaturas e período de molhamento de 6 horas durante 14 dias. Frutos no estágio 3

A

B

Anexo C – Incidência de goiabas “Pedro Sato” com antracnose (%) causada por *C. gloeosporioides* (A e C) e *C. acutatum* (B e D), armazenadas sob diferentes temperaturas e períodos de molhamento (6 horas – A e B e 24 horas – C e D) durante 14 dias

A

B

C

D