

## SEVERIDADE DA PODRIDÃO DOS FRUTOS DE MAMÃO EM PÓS-COLHEITA INFLUENCIADA PELO TIPO DE INOCULAÇÃO E ESTÁDIO DE MATURAÇÃO

Thiago Alves Santos de Oliveira<sup>1</sup>, Luiz Eduardo Bassay Blum<sup>2</sup>, Elizabeth Amélia Alves Duarte<sup>1</sup>, Daniel Diego Costa Carvalho<sup>3</sup> e Edna Dora Martins Newman Luz<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB/CCAA), Rua Rui Barbosa, 710, Centro, Cruz das Almas-BA, 44380-000. oliveira.tas@gmail.com; elizabethaad@gmail.com. <sup>2</sup>Universidade de Brasília/Departamento de Fitopatologia, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Asa Norte, Brasília-DF, 70910-700. luizblum@unb.br. <sup>3</sup>Universidade Estadual de Goiás/Laboratório de Fitopatologia. Rodovia GO 330, km 241, Anel Viário. Setor Universitário, Ipameri-GO, 75780-000. daniel.carvalho@ueg.br. <sup>4</sup>Comissão Executiva de Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC/CEPEC/Seção de Fitopatologia), Rodovia Ilhéus - Itabuna Km 22, Ilhéus-BA, 45600-970. ednadora@ceplac.gov.br.

Das doenças pós-colheita que acometem o mamão, a podridão-dos-frutos (*Phytophthora palmivora* L.) é recorrente nas principais regiões produtoras do Brasil (nordeste e sudeste), especialmente pelas características edafoclimáticas que propiciam o estabelecimento de patógenos atrelado às características peculiares da fruta, como o amadurecimento. Tais fatores caracterizam a necessidade de estudos que abordem aspectos relacionados com a fruta, o patógeno e o ambiente para que possam ser direcionadas medidas eficazes de prevenção e controle da doença. Portanto, este trabalho avaliou o efeito da concentração de inóculo, do tipo de inóculo e de métodos de inoculação (isolados 356, 363 e 1060 de *P. palmivora*) na severidade da podridão de *Phytophthora* no mamão 'Sunrise Solo' coletados no extremo sul da Bahia, Brasil que são destinados à exportação. Os tratamentos consistiram em: T1-T3: discos de meio cenoura-água (CA) contendo estrutura do patógeno com e sem fita adesiva e algodão, respectivamente; T4-T13: diferentes concentrações de suspensão de zoósporos ( $10^4$ ;  $5 \times 10^4$ ;  $10^5$ ;  $5 \times 10^5$  e  $10^6$  zoósporos  $\text{mL}^{-1}$ ), sendo: T4-T8: aplicação de 20  $\mu\text{L}$  de cada concentração de suspensão de zoósporos; T9-T13: discos de papel filtro de 5 mm $\phi$  de diâmetro embebidos em suspensão de zoósporos em diferentes concentrações; T14-T16: testemunhas usando discos de CA com e sem fita adesiva e algodão, respectivamente; T17: testemunha com aplicação de 20  $\mu\text{L}$  de água destilada esterilizada; T18: testemunha usando discos de papel filtro de 5 mm $\phi$  embebidos em água destilada esterilizada. Frutas inoculadas com discos de meio CA, fermentos e uso de fita adesiva apresentaram maiores lesões (6.335,45; 5.687,45 e 6.866,31  $\text{mm}^2$  para os isolados 356, 363, 1060, respectivamente). Nos mamões onde se usou papel de filtro embebido em suspensão de zoósporos, também foi observada quantidade significativa de doença para os três isolados, no entanto, o isolado 356 provocou maior lesão (4.815,19  $\text{mm}^2$ ) quando as frutas foram tratadas com suspensão, sem fermentos e concentração de  $5 \times 10^5$  zoósporos  $\text{mL}^{-1}$ .

**Palavras-chave:** Inóculo, Zoósporo, *Carica papaya* L., medidas de controle

**Severity of papaya fruit rot in postharvest influenced by inoculation type and maturity stage.** The papaya fruit rot (*Phytophthora palmivora*) is recurrent in the main producing regions of Brazil (Northeast and Southeast), especially due to the edaphoclimatic characteristics that favor the establishment of pathogens linked to the peculiar characteristics of the fruit as ripening. These factors characterize the need for studies that approach issues related to the fruit, the pathogen and the environment so that may be recommended effective measures to prevent and control the disease. Therefore, this study evaluated the effect of inoculum concentration, inoculum type and inoculation methods (356, 363 and 1060 isolates of *P. palmivora*) in severity of *Phytophthora* rot in papaya fruit 'Sunrise Solo' collected in the extreme south of Bahia. The treatments consisted of T1-T3: carrot-agar medium disks (CA) containing pathogen structure with and without tape and cotton, respectively; T4-T13: different concentrations of zoospores suspension ( $10^4$ ;  $5 \times 10^4$ ;  $10^5$ ;  $5 \times 10^5$  and  $10^6$  zoospores  $\text{mL}^{-1}$ ); T4-T8: application of 20  $\mu\text{L}$  for each concentrations of zoospores suspension; T9-T13: Filter paper discs (5 mm $\phi$ ) soaked in different concentrations of zoospores suspension; T14-T16: Control using CA disks with and without tape and cotton, respectively; T17: control application of 20  $\mu\text{L}$  of sterile distilled water; T18: control using filter paper discs soaked in sterile distilled water. Fruit inoculated with CA medium disks, with wounds and tape showed higher lesions (6335.45, 5687.45 and 6866.31  $\text{mm}^2$  for isolates: 356, 363 and 1060 respectively). In papaya inoculated with filter paper soaked in zoospore suspension, significant amount of disease was observed for the three isolates, however, isolate 356 caused the bigger lesion (4815.19  $\text{mm}^2$ ) when the fruits were treated with zoospore suspension, without injuries and at the concentration of  $5 \times 10^5$  zoospores  $\text{mL}^{-1}$ .

**Key words:** Inoculum, Zoospores, *Carica papaya*,

## Introdução

A demanda mundial por frutas e hortaliças vem crescendo expressivamente nos últimos anos com destaque para o mamão (*Carica papaya* L.) umas das mais importantes frutas tropicais cultivadas no mundo e também no Brasil (Santana et al., 2004; Sentanin; Amaya, 2007). O mamoeiro é cultivado na quase totalidade do território brasileiro, sendo o Nordeste a maior região produtora, destacando-se a Bahia, seguida pela região Sudeste, destacando-se o Espírito Santo. Estas regiões são responsáveis por cerca de 70% da produção nacional (IBGE, 2015).

O mamão é uma fruta altamente perecível devido ao rápido amadurecimento pós-colheita, portanto, com vida de prateleira relativamente curta, completando o amadurecimento em aproximadamente uma semana sob armazenamento à temperatura ambiente (Jacomino et al., 2003). Neste aspecto, Chitarra e Chitarra (2005) observaram que colheitas precoces - antes da completa maturação fisiológica da fruta - e tardias - fruta totalmente madura - afetam a qualidade, causam baixa resistência física e perdas quantitativas, permitindo, sobretudo a ação de patógenos. Geralmente o ponto de colheita do mamão em plantios comerciais é determinado por características externas subjetivas como, por exemplo, a mudança de cor na casca (Vieira et al., 2000). Assim, no mamão o amadurecimento é caracterizado pela mudança gradual e desuniforme na cor da casca de verde para amarela, com estrias amarelas partindo da região estilar para a inserção penduncular da fruta (Oliveira, 2002).

O mamão é climatérico, fator relevante que o torna suscetível a doenças que se manifestam principalmente na pós-colheita, apesar das infecções ocorrerem na pré-colheita (Dantas et al., 2006). Tais doenças representam 60% de perdas, principalmente em virtude de danos mecânicos os quais favorecem a incidência de doenças aumentando as perdas e tornando-se um entrave para comercialização interna e externa (Chitarra; Chitarra, 2005). A magnitude das perdas em pós-colheita de produtos hortícolas é preocupante, principalmente nas regiões tropicais, por apresentar condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento de doenças (Oliveira et al., 2006; Oliveira et al., 2014). Em mamão, uma das principais doenças é a podridão-dos-frutos causada por *Phytophthora palmivora*

(Butler) Butler, cujas perdas podem atingir 20% da produção nas principais regiões produtoras como: Bahia e no Espírito Santo (Liberato et al., 1993; Silva et al., 1999; Trindade e Poltronieri, 2002). Porém, existem poucos estudos para este patossistema fazendo-se necessário o conhecimento das condições favoráveis aos patógenos na interação com o hospedeiro, assim como o estágio fenológico em que o hospedeiro torna-se mais susceptível para o estabelecimento da doença (Borges Neto et al., 2000). O hospedeiro exerce forte influência sobre o sucesso ou fracasso da infecção pelo patógeno, motivo pelo qual deve ser investigada a influência do tipo de inóculo, tipo de inoculação e estágio de maturação da fruta na severidade da doença. Essas práticas ou técnicas aplicadas à pós-colheita podem contribuir para a extensão da vida útil e manutenção das características desejáveis do produto, conforme as exigências dos mercados consumidores (Balbino, 2003). Adicionalmente, é preciso entender a relação fruta/patógeno para cada patossistema considerando os fatores supracitados, para que seja estabelecida relação custo/benefício, uma vez que problemas fitossanitários são inevitáveis, porém, podem ser minimizados com o controle de doenças na pós-colheita (Eckert, 1993).

Diante da posição de destaque do Brasil na produção e exportação de mamão, trabalhos que contribuem para melhorar as condições fitossanitárias, principalmente em pós-colheita, são cruciais para manter esta posição e estabelecer medidas preventivas e de controle de doenças que acometem esta fruta. Diante do exposto, este estudo avaliou a influência da concentração do inóculo, do tipo de inoculação de *P. palmivora* e do estágio de maturação das frutas na severidade da podridão de *Phytophthora* em mamão na pós-colheita.

## Material e Métodos

### Obtenção dos isolados

Os experimentos foram realizados no Laboratório de *Phytophthora*, Seção de Fitopatologia do Centro de Pesquisa do Cacau (CEPLAC/CEPEC), Bahia, Brasil. Foram utilizados os isolados de *P. palmivora* 356, 363 e 1060, cedidos pela Coleção de *Phytophthora* Arnaldo Gomes Medeiros, sediada no CEPEC. Os isolados foram repicados para placas de

Petri (9 cmØ), contendo meio seletivo PARPH (Kannwischer; Mitchell, 1978) e mantidos por cinco dias a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  ao abrigo da luz. Posteriormente foram repicados discos de 5 mm de diâmetro destas culturas para o meio de cultivo cenoura-ágar (CA). As placas foram mantidas sob luz contínua a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , durante nove dias, visando à esporulação. Após a inoculação em frutas de mamoeiro e manifestação dos sintomas, os isolados foram reisolados no meio seletivo PARPH e as culturas mantidas em tubos de ensaio contendo CA e preservadas pelo método de Castellani (1963) até sua utilização nos ensaios.

As suspensões de *P. palmivora* foram obtidas a partir de 20 placas de Petri (9 mmØ com meio CA) contendo esporângios do patógeno. A cada placa foram adicionados 8 mL de água destilada esterilizada (ADE) a  $4^\circ\text{C}$ . Para liberação dos zoósporos, as placas foram submetidas a choque térmico ( $5 \pm 2^\circ\text{C}$ ) por 20 minutos seguidos de ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) por 25 minutos. Posteriormente, a concentração de zoósporos foi determinada em câmara de Neubauer adicionando-se a ela 20 µL de solução fixadora FAA (formol, álcool e ácido acético) para a paralisação e contagem dos zoósporos.

Em todos os experimentos foram utilizadas frutas sadias de mamão da variedade “Sunrise Solo” provenientes de pomares da Fazenda Alegria (Vera Cruz - BA). Inicialmente, todas as frutas de mamão foram previamente lavadas com sabão e água corrente e desinfestadas com hipoclorito de sódio (NaClO) a 1% e secas em temperatura ambiente.

### Influência dos tipos de inóculo e método de inoculação na podridão das frutas

Para fins de padronização do método mais eficaz visando à inoculação de *P. palmivora* em mamão, foram testados diferentes tipos de inóculo e métodos de inoculação em mamões no estágio 2 de maturação (Ritzinger e Souza, 2000), na região equatorial da epiderme das frutas (Tabela 1). Os dois tipos de inóculo consistiram em: 1) disco de meio CA com 5 mmØ, contendo estruturas do patógeno (Tabela 1), com diferentes métodos de aplicação nas frutas (com e sem fita adesiva e algodão embebido em água destilada; 2) suspensão de zoósporos em cinco concentrações ( $10^4$ ;  $5 \times 10^4$ ;  $10^5$ ;  $5 \times 10^5$  e  $10^6$  zoósporos  $\text{mL}^{-1}$ ) inoculadas nas frutas com discos de papel filtro de 5 mmØ,

embebidos em 20 µL das supracitadas suspensões de zoósporos. Para todos os tratamentos foi testado o efeito de ferimento na profundidade de 2 mm, feitos com furador de cinco estiletos. Os tratamentos foram submetidos à câmara úmida com duas frutas e incubadas por 72h a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Nos tratamentos-testemunha utilizou-se apenas aplicação de ADE.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 18 tratamentos, 2 métodos de inoculação, três isolados e 10 repetições por tratamento, e uma fruta como unidade amostral, totalizando 1080 frutas avaliadas. Foram realizados dois experimentos distintos para comprovação de dados em diferentes períodos.

### Influência do estágio de maturação das frutas na severidade da doença

Foram testadas frutas nos estágios de maturação 0 a 5 (0 = fruta crescida e desenvolvida (100% verde); 1 = fruta com até 15% da superfície amarela; 2 = fruta com até 25% da superfície amarela; 3 = fruta com até 50% da superfície amarela; 4 = fruta com 50 a 75% da superfície amarela; 5 = fruta com 76 a 100% da superfície amarela), como proposto por Ritzinger e Souza (2000). A inoculação foi feita com discos de papel filtro esterilizado embebidos em suspensão de  $5 \times 10^5$  zoósporos  $\text{mL}^{-1}$  e depositados na superfície intacta da região equatorial da fruta.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos, três isolados e 10 repetições, uma fruta como unidade amostral, totalizando 180 frutas. Foram realizados dois experimentos distintos para comprovação de dados em diferentes períodos. A mensuração da área de lesão provocada pelo patógeno (severidade da infecção) foi realizada depois de retirada a câmara úmida, 72 horas após a inoculação, diariamente durante seis dias. As áreas de lesão foram medidas em dois sentidos diametralmente opostos, pela fórmula:

$$S = (\pi \times D1 \times D2) / 4;$$

Sendo: S = área da colônia; D1 = diâmetro 1; D2 = diâmetro 2.

### Análise estatística

As médias dos valores obtidos foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ), utilizando o programa SISVAR 5.6 (Ferreira, 2011). Os dados

Tabela 1. Diferentes tipos de inóculo e métodos de inoculação com e sem ferimento testados para avaliar a severidade da podridão dos frutos de mamoeiro causada por *Phytophthora palmivora* na pós-colheita

Tratamentos	Método de aplicação	Tipo de inoculação
T01	Com fita adesiva	Discos de meio CA <sup>x</sup> contendo estruturas do patógeno
T02	Sem fita adesiva	
T03	Com algodão	
T04	Aplicação de 20 µL	Suspensão a 10 <sup>4</sup> zoósporos mL <sup>-1</sup>
T05		Suspensão a 5x10 <sup>4</sup> zoósporos mL <sup>-1</sup>
T06		Suspensão a 10 <sup>5</sup> zoósporos mL <sup>-1</sup>
T07		Suspensão a 5x10 <sup>5</sup> zoósporos mL <sup>-1</sup>
T08		Suspensão a 10 <sup>6</sup> zoósporos mL <sup>-1</sup>
T09	Discos de papel filtro esterilizados de 5 mmØ	Suspensão a 10 <sup>4</sup> zoósporos mL <sup>-1</sup>
T10		Suspensão a 5x10 <sup>4</sup> zoósporos mL <sup>-1</sup>
T11		Suspensão a 10 <sup>5</sup> zoósporos mL <sup>-1</sup>
T12		Suspensão a 5x10 <sup>5</sup> zoósporos mL <sup>-1</sup>
T13		Suspensão a 10 <sup>6</sup> zoósporos mL <sup>-1</sup>
T14	Com fita adesiva	Testemunha com discos de meio CA
T15	Sem fita adesiva	Testemunha com discos de meio CA
T16	Com algodão	Testemunha com discos de meio CA
T17	Aplicação de 20 µL de ADE <sup>2</sup>	Testemunha
T18	Discos de papel filtro esterilizados de 5 mmØ embebidos em ADE	Testemunha

<sup>x</sup>Meio cenoura-água; <sup>2</sup>Água destilada esterilizada

obtidos nos experimentos foram submetidos à análise de regressão linear e não linear, para selecionar os modelos com os melhores ajustes às curvas de severidade da podridão da fruta, com base no coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) e no quadrado médio do resíduo (QMR), e a significância das regressões verificada pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ). Todas as análises de regressão foram efetuadas pelo programa Sigma PlotTM 11.

## Resultados e Discussão

Todos os isolados de *P. palmivora* estudados foram patogênicos às frutas de mamão. Os sintomas da doença constituíram-se na formação de lesão úmida típica, com podridão inicial evoluindo para lesões cobertas por massa esbranquiçada de aspecto

cotonoso, constituída pelo micélio do fungo. Não houve diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ) entre as duas conduções do experimento, sendo possível, portanto, utilizar dados combinados e análise conjunta.

### Influência do método de inoculação na podridão das frutas

A inoculação com disco contendo estruturas de *P. palmivora* e ferimentos (T1, T2 e T3) para os três isolados estudados (356, 363 e 1060) resultou em maiores lesões sobre o hospedeiro (Tabela 2), diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, mesmo naqueles com maiores concentrações de zoósporos. Esse resultado pode estar associado às variações existentes na agressividade de cada isolado (Oliveira et al., 2016). Isso pode ser explicado por fatores externos, como as diferenças edafoclimáticas das regiões de onde

Tabela 2. Influência do tipo de inóculo e do método de inoculação na severidade (área lesionada) da podridão dos frutos inoculados com três isolados de *Phytophthora palmivora* (356; 363e 1060) na pós-colheita, seis dias após a retirada da câmara úmida

Tratamentos	Área lesionada (mm <sup>2</sup> )					
	Com Ferimento			Sem Ferimento		
	356	363	1060	356	363	1060
T01 <sup>k</sup>	6335,45 gD <sup>xy</sup>	5687,45 fC	6866,31 gD	4947,48 dB	4214,91 dA	5536,80 eC
T02	5429,32 fC	4911,32 eC	6029,22 fD	3199,92 bB	2467,35 cA	3789,24 dB
T03	4176,55 eC	4836,55 eC	5304,45 fC	3121,26 bB	2388,69 cA	3710,58 dB
T04	2494,58 cC	1454,58 bB	1934,58 bB	0,00 aA	0,00 aA	742,12 aB
T05	3016,63 cD	1656,63 bC	2456,31 cD	771,61 aB	0,00 aA	1261,04 bC
T06	4603,82 eE	3663,82 dD	4043,23 eD	2816,42 bC	816,42 bA	1919,46 bB
T07	4395,81 eC	3985,81 dC	4067,83 eC	3846,98 cC	1846,98 cA	2950,02 cB
T08	4645,70 eC	3825,70 dC	4317,42 eC	4058,72 cC	2058,72 cA	3161,76 cB
T09	1710,16 bB	1073,16 bB	1445,52 bB	413,90 aA	0,00 aA	1413,90 bB
T10	3403,59 dC	2766,59 cA	3138,99 dC	2331,08 bA	1207,54 bA	3331,08 cC
T11	3874,05 dC	3237,05 cB	3609,36 dC	3104,80 bB	1981,26 cA	4104,80 dC
T12	4561,07 eA	4278,07 dA	4464,12 eA	4815,19 dA	4181,19 dA	4677,33 eA
T13	4255,57 eA	3972,57 dA	4158,83 eA	5236,87 dB	4602,87 dA	5099,01 eB
T14	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
T15	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
T16	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
T17	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
T18	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
<b>C.V.(%)</b>	<b>9,28</b>	<b>11,00</b>	<b>9,98</b>	<b>15,14</b>	<b>17,57</b>	<b>13,50</b>

<sup>x</sup>Médias de 10 repetições. <sup>y</sup>Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal foram agrupadas estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ). <sup>k</sup>T1-T3: Discos de meio CA contendo estruturas do patógeno, com e sem fita adesiva e algodão, respectivamente; T4-T13: diferentes concentrações da suspensão de zoósporos ( $10^4$ ;  $5 \times 10^4$ ;  $10^5$ ;  $5 \times 10^5$  e  $10^6$  zoósporos mL<sup>-1</sup>); T4-T8: aplicação de 20 µL de cada concentração da suspensão de zoósporos; T9-T13: discos de papel filtro 5 mmØ embebidos em cada concentração da suspensão de zoósporos; T14-T16: testemunhas usando discos de meio cenoura-água, com e sem fita adesiva e algodão, respectivamente; T17: testemunha com aplicação de 20 µL de água destilada esterilizada; T18: testemunha usando discos de papel filtro 5 mmØ embebidos em água destilada esterilizada.

foram obtidos os isolados ou por fatores internos, em que um isolado dentro da mesma espécie difere de outro devido a suas características genéticas. Situação similar ocorreu com diferentes isolados de *P. Infestans* em batata que apresentaram diferenças significativas quanto a agressividade entre os isolados da mesma região e distintas (Mejeed et al., 2014).

As injúrias provocadas nas frutas facilitaram a penetração do patógeno e, portanto, o processo de infecção ocorreu precocemente nestes tratamentos. Além disso, os tecidos injuriados aumentaram a atividade metabólica das células feridas (Guzmán et al., 1999) provocando elevação da taxa de respiração, indução da síntese de etileno e aumento da perda de água que resultou na acelerada deterioração das frutas (Oliveira et al., 2006). Porém, quando os tratamentos foram submetidos à inoculação sem ferimentos,

somente o T1 (disco de meio contendo estruturas do patógeno) e os tratamentos T12 e T13 (disco de papel filtro embebidos em suspensão de zoósporos) não diferiram entre si, sobretudo nas concentrações de  $5 \times 10^5$  e de  $10^6$  zoósporos mL<sup>-1</sup> que apresentaram lesões maiores sobre o hospedeiro, diferindo dos demais tratamentos (Tabela 2). Fungos como *P. palmivora* que penetram por meio da superfície intacta da planta mostram-se aptos para degradar enzimaticamente essa barreira pela produção de cutinase, o que se constitui, para alguns, em fator-chave na patogenicidade.

Estudos com outros patossistemas na pós-colheita (manga x *Lasioidiplodia theobromae* e *Fusicoccum parvum*, banana x *Colletotrichum musae*, cacau x *Phytophthora palmivora*) reportam que há influência da inoculação com disco de meio de cultura contendo estruturas dos fitopatógenos, inclusive são responsáveis



por maiores áreas de lesões em frutas (Oliveira et al., 2008). Esta resposta está diretamente relacionada à presença de fonte extra de substrato (meio de cultura com patógeno), embora tal situação não seja observada com frequência na natureza.

A inoculação utilizando suspensão de zoósporos justifica-se pela padronização na quantidade de inóculo depositada sobre a superfície do hospedeiro. Estudo realizado por Oliveira et al. (2014) verificou que a severidade da doença em frutas de mamoeiro quando inoculados nas concentrações  $10^6$  e  $10^7$  zoósporos  $\text{mL}^{-1}$  de *P. palmivora* não diferiu significativamente. O aumento da severidade da podridão dos frutos com a elevação da concentração de inóculo do patógeno destaca a importância da redução do inóculo para minimizar os riscos de epidemias na pós-colheita (Oliveira et al., 2006), uma vez que a disponibilidade e a quantidade de inóculo são pré-requisitos para o surgimento de infecções. Em vários patossistemas a ocorrência de epidemias em um curto espaço de tempo está diretamente ligada ao número de propágulos do patógeno dentro ou próximo dos campos com plantas hospedeiras (Sussel et al., 2011).

Para testes de patogenicidade, bem como para estudos genéticos, citológicos e taxonômicos, torna-se necessária grande quantidade de esporos para permitir uma adequada padronização da concentração das suspensões para inoculação. Assim, deficiências na inoculação têm sido apontadas como a principal causa da alta variabilidade de dados obtida em experimentos realizados em ambiente controlado (Pereira et al., 1998; Pereira et al., 2006; Oliveira et al., 2008; Majeed et al., 2014; Oliveira et al., 2016).

### **Efeito do estágio de maturação na severidade da podridão das frutas**

Os três isolados de *P. palmivora* provocaram infecção nas frutas nos diferentes estádios de maturação sem diferença estatística entre eles (Tabela 3). Contudo, as maiores áreas de lesão foram observadas no estágio 5 para os isolados 356 (7450,92  $\text{mm}^2$ ); 363 (6851,09  $\text{mm}^2$ ) e 1060 (7226,60  $\text{mm}^2$ ). Este resultado sugere que houve influência direta do estágio de maturação com o avanço da doença, ou seja, o ARR (*Age Related Resistance*) que relaciona a reação de resistência ao estágio fenológico ou resistência relacionada à idade em vários patossistemas (Panter & Jones, 2002;

Whallen, 2005; Alcazar et al., 2012). Adicionalmente, com o avançar dos estádios de maturação ocorrem mudanças na superfície da fruta as quais são fator chave na resistência e suscetibilidade do hospedeiro aos fitopatógenos. Nos patossistemas *Colletotrichum musae* e banana (*Musa* spp.) foi observada a relação direta do ARR com aumento de doença (Chillet et al., 2006; Pessoa et al., 2007). Entretanto, nos estudos com pepino infectado por *P. capsici* houve influência do ARR com a superfície da fruta em um estágio de maturação avançado que sugere uma associação entre a transição de suscetibilidade e a resistência (Ando et al., 2015). Nos estudos com manga (*Mangifera indica* cv. Tomy) inoculadas com *Lasiodiplodia theobromae* e *Fusicoccum parvum* as lesões aumentavam à medida que o estágio de maturação avançava, independentemente do tipo de inóculo e local de inoculação (Oliveira et al., 2008).

Ou seja, as variações biológicas decorrentes do estágio de maturação são intrínsecas a cada hospedeiro (fruta) os quais implicam na severidade da doença de forma particular em cada patossistema com influência direta na pós-colheita. Portanto, com o avanço da maturação de frutas ocorrem diminuições na produção e/ou liberação de determinados compostos fenólico e fitoalexinas diretamente relacionados a quebra de resistência e aumento da suscetibilidade (Chitarra e Chitarra, 2005); mudanças na composição das camadas celulares das frutas (cutículas e ceras) que exercem importantes funções protetoras a danos bióticos e abióticos (Matas et al., 2004; Matas et al., 2005); diminuição da firmeza da fruta como consequência da perda da adesão celular acompanhada de aumento da solubilidade e despolimerização (Wakabayashi, 2000); diferenciação das estruturas da parede celular primária incluindo pectina, hemicelulose e celulose (Huber et al, 2001; Ali et al., 2004).

A interação entre o estágio de maturação e isolados do patógeno foi significativa. O modelo polinomial quadrático:  $y = a + bx + cx^2$

onde  $y$  = área lesionada e  $x$  = o estágio de maturação, proporcionou ajuste da curva de progresso da severidade da doença em função do estágio de maturação da fruta, com coeficientes de determinação ( $R^2$ ) variando entre 95,93 (1060) e 97,27 (363) (Figura 1). Daí conclui-se que o estágio

Tabela 3. Efeito do estágio de maturação de mamão 'Sunrise solo' na severidade da podridão dos frutos inoculados com três isolados de *Phytophthora palmivora* (356; 363e 1060), seis dias após a retirada da câmara úmida

Isolados	Estádio de Maturação					
	0 <sup>z</sup>	1	2	3	4	5
356	445,39 aA <sup>xyk</sup>	3508,53 aB	4815,19 aC	5236,87 aD	7126,28 bE	7450,92 aE
363	313,59 aA	2822,33 aB	4181,19 aC	4602,87 aC	5718,98 aD	6851,09 aE
1060	381,45 aA	3433,09 aB	4677,33 aC	5099,01 aC	6103,28 aD	7226,60 aE
C.V(%)	6,59					

<sup>x</sup>Médias de dez repetições. <sup>y</sup>Médias seguidas pela mesma letra minúscula na vertical e maiúscula na horizontal foram agrupadas estatisticamente pelo teste de Scott-Knott ( $p = 0,05$ ). <sup>k</sup>Médias das áreas lesionadas em mm<sup>2</sup>; <sup>z</sup>estádio de maturação: 0- fruto crescido e desenvolvido (100% verde); 1- fruta com até 15% da superfície amarela; 2- fruta com até 25% da superfície amarela; 3- fruta com até 50% da superfície amarela; 4- fruta com 50 a 75% da superfície amarela; 5- frutas com 76 a 100% da superfície amarela.

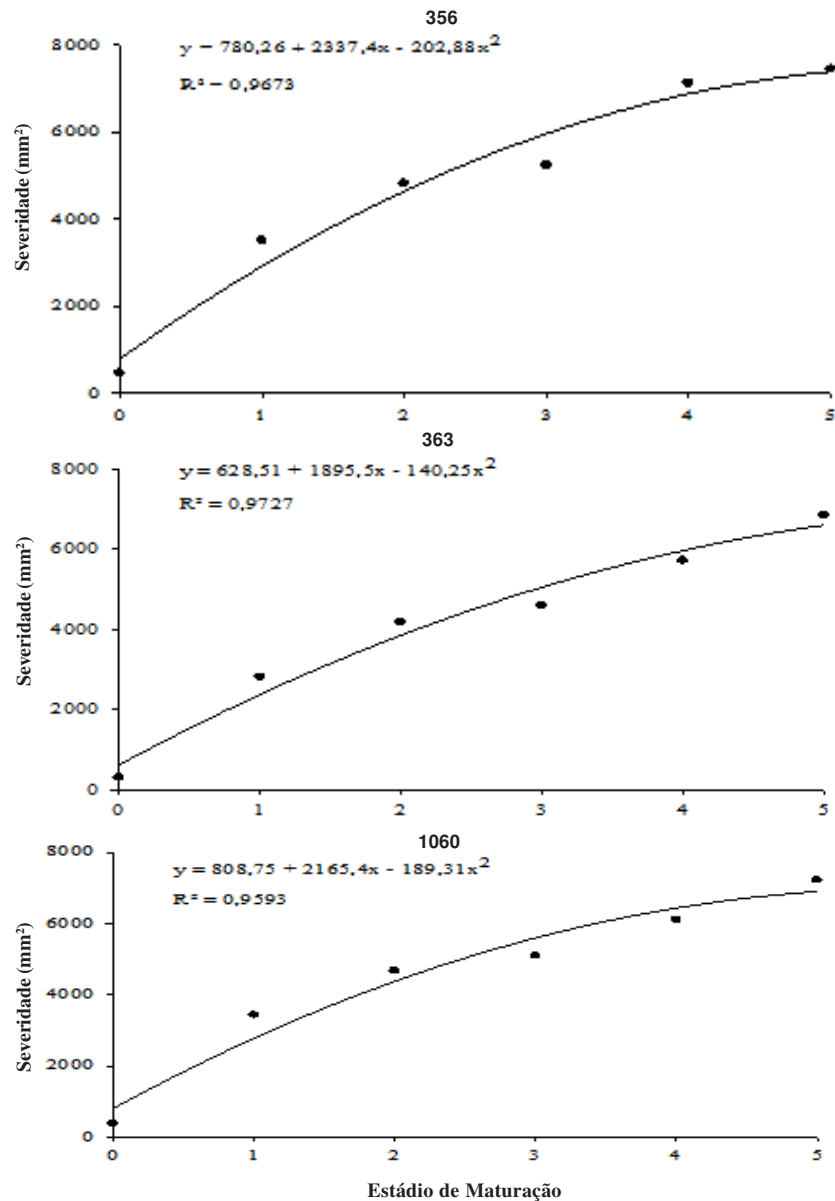


Figura 1. Influência dos estádios de maturação na severidade da podridão dos frutos de mamoeiro inoculados com três isolados de *Phytophthora palmivora*, seis dias após a retirada da câmara úmida.

de maturação mais avançado está associado ao aumento da infecção, e que é um fator preponderante neste patossistema.

A redução das perdas em pós-colheita na cadeia produtiva de frutas representa um constante desafio, considerando que as frutas são órgãos que apresentam alto teor de água e nutrientes e, mesmo depois da colheita até a senescência, mantêm vários processos biológicos em atividade, apresentando desta forma maior predisposição a distúrbios fisiológicos, danos mecânicos e à ocorrência de podridões. A aparência das frutas é o primeiro fator responsável por sua aceitação e pode ser limitante à sua comercialização. Tanto a aparência quanto suas características de sabor e aroma podem ser severamente comprometidas por infecções fúngicas.

### Conclusões

1) As inoculações usando discos de meio CA contendo estruturas de *P. palmivora* e ferimentos resultaram no desenvolvimento de lesões maiores para qualquer isolado considerado.

2) Para qualquer isolado o estágio de maturação influenciou significativamente na ocorrência da podridão das frutas do mamoeiro e contribuiu para o aumento da severidade das lesões.

### Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de doutorado e bolsas PQ. Ao proprietário da Fazenda Alegria pelo fornecimento das frutas utilizados neste trabalho e a Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), Centro de Pesquisa do Cacau pelo apoio logístico e técnico que permitiu a realização desta pesquisa.

### Literatura Citada

- ALCAZAR, R. et al. 2012. Genetic and evolutionary perspectives on the interplay between plant immunity and development. *Current Opinion in Plant Biology* 12:378-384.
- ALI, Z. M.; CHIN, L. H.; LAZAN, H. A. 2004. Comparative study on wall degrading enzymes, pectin modifications and softening during ripening of selected tropical fruits. *Plant Science* 167: 317-327.
- ANDO, K. et al. 2015. Exocarp properties and transcriptomic analysis of cucumber (*Cucumis sativus*) fruit expressing age-related resistance to *Phytophthora capsici*. *Plos One* 10:1-20.
- BALBINO, J. M. S. 2003. Colheita, pós-colheita e fisiologia de amadurecimento do mamão. In: Martins, D. S.; Costa, A. F. S. A cultura do mamoeiro: tecnologia de produção. Vitória, ES, INCAPER. pp. 405-439.
- BORGES NETO, C. R. et al. 2000. Influência da idade da planta, período de molhamento de umidificação e concentração de inóculo no desenvolvimento de sintomas provocados por *Cercospora caricis* em tiririca. *Fitopatologia Brasileira* 25:138-142.
- CASTELLANI, A. 1963. The “water cultivation” of pathogenic fungi. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 66:283-284.
- CHILLET, M. et al. 2006. Effects of the physiological age of bananas on their susceptibility to wound anthracnose due to *Colletotrichum musae*. *Plant Disease* 90:1181-1185.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. 2005. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manejo. 2. ed. Lavras, MG, UFLA. 785p.
- DANTAS, S. A. F.; OLIVEIRA, S. M. A. 2006. Doenças do mamão. In: Oliveira, S. M. A.; Terao, D.; Dantas, S. A. F.; Tavares, S. C. C. O. Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais. Brasília, DF, Embrapa Informação Tecnológica. pp. 695-727.
- ECKERT, J. W. 1993. Post-harvest diseases of citrus fruits. *Agriculture Outlook* 54:225-232.
- FERREIRA, D. F. 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia (Brasil)* 35: 1039-1042.
- GUZMÁN, I. L.; CANTWELL, M.; BARRETT, D. M. 1999. Fresh-cut cantaloupe: effects of CaCl<sub>2</sub> dips and heat treatments on firmness and metabolic activity. *Postharvest Biology and Technology* 17:201-213.



- HUBER, D. J.; KARAKURT, Y.; JEONG, J. 2001. Pectin degradation in ripening and wounded fruits. *Revista Brasileira Fisiologia Vegetal* 13: 224-241.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA-IBGE. Produção agrícola municipal. IBGE, 2015. Disponível em: <<http://www.ibge.com.br>> Acesso em: 07 Mar. 2016.
- JACOMINO, A. P.; BRON, I. U.; KLUGE, R. A. 2003. Avanços em tecnologia pós-colheita de mamão. In: Martins, D. S. *Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno*. Vitória, ES, INCAPER. pp. 277-289.
- KANNWISCHER, M. E.; MITCHELL, D. J. 1978. The influence of a fungicide on the epidemiology of black shank of tobacco. *Phytopathology* 68: 1760-1765.
- LIBERATO, J. R. et al. 1993. Ocorrência de *Phytophthora* em mamoeiro (*Carica papaya* L.) no Estado do Espírito Santo. *Fitopatologia Brasileira* 18:324-324.
- MAJEED, A.; CHAUDHRY, Z.; MUHAMMAD, Z. 2014. Variability of the aggressiveness of *Phytophthora infestans* pathotypes collected from different potato fields of Khyber Pakhtunkhwa (Pakistan). *International Journal of Agriculture & Biology* 16:807-812.
- MATAS, A. J.; CUARTERO, J.; HEREDIA, A. 2004. Phase transitions in the biopolyester cutin isolated from tomato fruit cuticles. *Thermochimica Acta* 409:165-168.
- MATAS, A. J.; LOPEZ-CASADO, G.; CUARTERO, J.; HEREDIA, A. 2005. Relative humidity and temperature modify the mechanical properties of isolated tomato fruit cuticles. *American Journal of Botany* 92:462-468.
- OLIVEIRA, M. A. B. et al. 2002. Caracterização do estágio de maturação do papaia 'Golden' em função da cor. *Revista Brasileira de Fruticultura* 24:569-561.
- OLIVEIRA, S. M. A. et al. 2006. Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais, Brasília, DF, Embrapa Informação Tecnológica. 855p.
- OLIVEIRA, T. A. S. et al. 2008. Efeito do estágio de maturação, tipo de inóculo e local de inoculação na severidade da podridão peduncular em manga. *Tropical Plant Pathology* 33:409-414.
- OLIVEIRA, T. A. S. et al. 2014. Fatores epidemiológicos de *Phytophthora palmivora* afetando a severidade da podridão-dos-frutos do mamoeiro na pós-colheita. *Summa Phytopathologica (Brasil)* 40:256-263.
- OLIVEIRA, T. A. S. et al. 2016. Variability of aggressiveness and virulence of *Phytophthora palmivora* influencing the severity of papaya fruit rot in postharvest in Bahia, Brazil. *Científica (Brasil)* 44:185-195.
- PANTER, S. N.; JONES, D. A. 2002. Age-related resistance to plant pathogens. *Advances in Botanical Research* 38:251-280.
- PEREIRA, J. C. R. et al. 1998. Efeito de diferentes meios de cultura sobre a esporulação e o potencial de inóculo de *Colletotrichum lindemuthianum*. *Summa Phytopathologica (Brasil)* 24:186-188.
- PEREIRA, A. L.; SILVA, G. S.; RIBEIRO, V. Q. 2006. Caracterização fisiológica, cultural e patogênica de diferentes isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. *Fitopatologia Brasileira* 31:572-578.
- PESSOA, W. R. L. S. et al. 2007. Efeito da temperatura e período de molhamento sobre o desenvolvimento de lesões de *Colletotrichum musae* em banana. *Summa Phytopathologica (Brasil)* 33:147-151.
- RITZINGER, C. H. S. P.; SOUZA, J. S. 2000. Mamão: Fitossanidade. Cruz das Almas, BA, EMBRAPA. 91p.
- SANTANA, L. R. R. et al. 2004. Genótipos melhorados de mamão (*Carica papaya* L.): avaliação sensorial e físico-química dos frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 24:217-222.
- SENTANIN, M. A.; AMAYA, D. B. R. 2007. Teores de carotenóides em mamão e pêssego determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. *Ciência e Tecnologia de Alimentos (Brasil)* 27:13-19.
- SILVA, G. S.; URBEN, A. F.; DOIHARA, I. P. 1999. Ocorrência de *Phytophthora palmivora* em mamoeiro no Estado do Maranhão. *Fitopatologia Brasileira* 18:32.

- SUSSEL, A. A. B. et al. 2011. Incidência e severidade do mofo-cinzento-da-mamoneira sob diferentes temperaturas, períodos de molhamento e concentração de conídios. *Summa Phytopathologica (Brasil)* 37:30-34.
- TRINDADE, D. R.; POLTRONIERE, L. S. 2002. *Phytophthora palmivora* causando podridão dos frutos em mamoeiro no Pará. *Fitopatologia Brasileira* 27:422.
- VIEIRA, G. et al. M. B. 2000. Influência da cultivar e do estágio de maturação em algumas características de frutos de mamão durante a pós-colheita. *Revista Brasileira de Fruticultura* 22:244-247.
- WAKABAYASHI, K. 2000. Changes in cell wall polysaccharides during fruit ripening. *Journal Plant Research* 113:231-237.
- WHALLEN, M. C. 2005. Host defense in a developmental context. *Molecular Plant Pathology* 6:347-360.
-