



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E CIÊNCIAS AMBIENTAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA



MANEJO PÓS-COLHEITA DE *Colletotrichum gloeosporioides* EM MANGA
‘TOMMY ATKINS’

LEONARDO DANTAS MARQUES MAIA

Areia, PB

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E CIÊNCIAS AMBIENTAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA



**MANEJO PÓS-COLHEITA DE *Colletotrichum gloeosporioides* EM MANGA
‘TOMMY ATKINS’**

LEONARDO DANTAS MARQUES MAIA

Dissertação submetida como requisito para obtenção do grau de Mestre em Agronomia, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal da Paraíba.

Areia, PB

2015

*Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, Campus II, Areia – PB.*

M217m Maia, Leonardo Dantas Marques.

Manejo pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em manga
'Tommy Atkins' Leonardo Dantas Marques Maia. - Areia: UFPB/CCA,
2015.

67 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias.
Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2015.

Bibliografia.

Orientadora: Luciana Cordeiro do Nascimento.

*1. Manga 2. Pós-colheita 3. Antracnose I. Nascimento, Luciana
Cordeiro do (Orientadora) II. Título.*

*UFPB/CCA
634.441(043.3)*

CDU:

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

MANEJO PÓS-COLHEITA DE *Colletotrichum gloeosporioides* EM MANGA
'TOMMY ATKINS'

AUTOR: LEONARDO DANTAS MARQUES MAIA

COMISSÃO EXAMINADORA:

Luciana C. do Nascimento

Profª Dra. Luciana Cordeiro do Nascimento PPGA/CCA/UFPB
Orientadora

Jean de Oliveira Souza

Dr. Jean de Oliveira Souza - PNPD/PPGA

Breno Oliveira

Dr. Breno Oliveira de Souza - PNPD/PPGA

Data da realização: 10 de fevereiro de 2015.

Preocupe-se e pense antes de tomar qualquer decisão, porém, uma vez tomada, siga seu caminho, livre de preocupações e pensamentos; haverá mil outras decisões ainda à sua espera. É assim a maneira do guerreiro.

Carlos Castaneda: Uma Estranha Realidade

Aos meus pais,

Antônio Marques Maia e Sônia Maria Dantas Marques

Aos meus irmãos,

Marcos Alexandre Dantas Marques e Anderson Vinícius Dantas Marques Maia

A minha companheira

Adna Maelly Telles dos Santos

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a minha família, todos foram de extrema importância para a realização dessa conquista. Antônio Marques Maia, pai e exemplo de vida, você é o meu herói; minha mãe Sônia Maria Dantas Marques, a senhora me guiou durante toda a minha vida, sempre esteve presente em todos os momentos; Marcos Alexandre Dantas Marques, meu grande irmão, sempre esteve disposto a me auxiliar em tudo, nunca vou esquecer todos os conselhos e alertas na vida; Anderson Vinícius Dantas Marques Maia, você vai longe brodim, sempre compartilhando sonhos e me auxiliando em momentos difíceis. Muito obrigado por sempre me ajudarem, essa conquista também é de vocês.

A Adna Maelly Telles dos Santos, minha companheira, por sempre me ajudar nos momentos difíceis, dividir os momentos felizes e ter paciências nos momentos de aflição. Maelly, te admiro muito, não sei como seria minha vida sem você.

A professora e orientadora Luciana Cordeira do Nascimento, por me guiar durante essa jornada, com amizade, paciência e grande sabedoria. Obrigado pela confiança, serei sempre grato a senhora pela oportunidade!

Ao professor Erbs Cintra de Souza Gomes, pela confiança e por acreditar em meu trabalho, o senhor mostrou o caminho. Sou grato por tudo!

A Wilza Carla Oliveira, Paulo Nogueira, Marciano Costa Nunes e Francisca Maria (Francisca), vocês foram de extrema importância nesse trabalho, não sei como agradecer toda a ajuda.

Aos colegas do Laboratório de Fitopatologia (LAFIT), sempre compartilhando conhecimento e me ajudando na obtenção do conhecimento.

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (UFPB) pela oportunidade da realização do Cursos de Mestrado; ao CNPq pela concessão das bolsas de estudo.

Aos amigos de graduação: Brunão, Andrezo, Marcão, Elbson e Lúcia. Sempre lembrarei de vocês!

Aos companheiros de casa: Guilherme, Emanoel e Diogo, não poderia ter morado com pessoas melhores, valeu!

MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

	Pag.
CAPÍTULO 1	
CONSIDERAÇÕES GERAIS	12
RESUMO	13
ABSTRACT	14
INTRODUÇÃO GERAL	15
OBJETIVOS	17
REFERENCIAL TEÓRICO	18
A cultura da mangueira	18
Antracnose da mangueira	20
Métodos alternativos para o manejo de doenças de plantas	21
Quitosana	22
Melão de são Caetano	24
Indução a resistência de plantas a patógenos	25
REFERÊNCIAS	28
 CAPÍTULO 2	
MANEJO PÓS-COLHEITA DE <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> EM FRUTOS DE MANGUEIRA ‘TOMMY ATKINS’	35
RESUMO	36
ABSTRACT	37
INTRODUÇÃO	38
MATERIAL E MÉTODOS	39
Coleta e obtenção do extrato de folhas de <i>Momordica charantia</i> L.	39
Preparação da Quitosana em ácido acético à 1%	40
Obtenção de isolados de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> de frutos de mangueira ..	40
Obtenção frutos de mangueira e tratamentos utilizados	40
Análise pós-colheita de frutos de manga ‘Tommy Atkins’ tratados com extrato vegetal de melão-de-são-caetano, quitosana, acibenzolar-S-metil e fungicida	41
Incidência natural de manga tratadas com extrato vegetal de melão-de-são-caetano, quitosana, acibenzolar-S-metil e fungicida	41

Severidade de antracnose em frutos de mangueira tratados com extrato vegetal de melão-de-são-caetano, quitosana, acibenzolar-S-metil e fungicida.....	42
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
Qualidade pós-colheita	42
Ocorrência dos patógenos causadores de doenças pós-colheita em manga sob infecção natural.....	46
Severidade de antracnose em frutos de mangueira tratados com extrato vegetal, quitosana, indutor de resistência e fungicida	47
CONCLUSÕES	51
REFERÊNCIAS	52

CAPÍTULO 3

ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM FRUTOS DE MANGUEIRA ‘TOMMY ATKINS’ CONTRA <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	55
RESUMO.....	56
ABSTRACT	57
INTRODUÇÃO.....	58
MATERIAL E MÉTODOS.....	59
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61
Análise enzimática de frutos de mangueira tratados com extrato vegetal de melão-de-são-caetano, quitosana, acibenzolar-S-metil e fungicida.....	61
CONCLUSÕES	65
REFERÊNCIAS	66

LSTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Porcentagem de perda de massa acumulada de frutos de manga ‘Tommy Atkins’ tratados com extrato de melão-de-são-caetano (EMSC), quitosana, indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM) e fungicida (Tiabendazol) durante 5 dias de armazenamento 43

Tabela 2. Avaliação de firmeza (N), pH, sólidos solúveis totais (SST em °Brix), acidez total titulável (ATT em % de ácido cítrico), SST/ATT de frutos de mangueira ‘Tommy Atkins’ no dia da coleta (dia 0) e frutos tratados com extrato de melão-de-são-caetano (EMSC), quitosana, indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM) e fungicida (Tiabendazol) 44

Tabela 3. Avaliação da severidade de *Colletotrichum gloeosporioides* inoculado artificialmente na região próximo ao pedúnculo em frutos de mangueira ‘Tommy Atkins’ tratados com extrato de melão-de-são-caetano (EMSC), quitosana, indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM) e fungicida (Tiabendazol), durante 8 dias de armazenamento 48

Tabela 4. Avaliação da severidade de *Colletotrichum gloeosporioides* inoculado artificialmente na região basal de frutos de manga ‘Tommy Atkins’ tratados com extrato de melão-de-são-caetano (EMSC), quitosana, indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM) e fungicida (Tiabendazol), durante 8 dias de armazenamento 49

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Atividade enzimática de Peroxidase, Polifenoloxidase e Fenilalanina amônia-liase ($UA \cdot min^{-1} \cdot mg^{-1}$ de proteína) em frutos de mangueira ‘Tommy Atkins’ no dia da coleta (dia 0) e frutos tratados com extrato de melão-de-são-caetano (EMSC), quitosana, indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM) e fungicida (Tiabendazol), armazenados por 8 dias 62

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

- Figura 1. Incidência de fungos isolados de frutos possíveis causadores de doenças pós-colheita em frutos de manga ‘Tommy Atkins’ tratados com extrato de melão-de-são-caetano (EMSC) a 1000 ppm (1), 1500 ppm (2), 2000 ppm (3), quitosana a 1% (4), 1,5% (5), 2% (6), indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM) (7), fungicida (Tiabendazol) (8) e controle (ADE) (9), durante 5 dias de armazenamento **46**

CAPÍTULO 1

MANEJO PÓS-COLHEITA DE *Colletotrichum gloeosporioides* EM MANGA
‘TOMMY ATKINS’

CONSIDERAÇÕES GERAIS

MAIA, L. D. M. Manejo pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em manga ‘Tommy Atkins’. Areia: CCA/UFPB, 2015. (Dissertação de Mestrado em Agronomia) p. 67.

RESUMO

A antracnose é a principal doença na cultura da mangueira, causada pelo patógeno *Colletotrichum gloeosporioides*. Formas alternativas ao controle químico, rotineiramente usado, tem sido empregado para minimizar os custos e diminuir os resíduos. Entre as alternativas, destaca-se o uso de indutores utilizando extratos vegetais e biológicos. O objetivo do trabalho foi avaliar a incidência natural de antracnose em frutos de mangueira tratados com extrato de melão-de-são-caetano (*Momordica charantia*) e quitosana, a severidade da doença, assim como avaliar a qualidade pós-colheita e a produção de enzimas relacionadas a defesa de plantas. As folha de melão-de-são-caetano foram coletadas na cidade de Areia-PB, preparadas no laboratório de fitopatologia, no campus II, da UFPB, e encaminhada para o laboratório de Química de Produtos Naturais, Campus I, UFPB, para extração etanólico. Os tratamentos foram compostos pelo extrato de *M. charantia* nas concentrações de 1000, 1500 e 2000 ppm, quitosana nas concentrações de 1%, 1,5% e 2%, o produto comercial acibenzolar-S-metil (ASM) (0,1 g.L⁻¹), fungicida (Tiabendazol) (4 mL.L⁻¹) e água destilada esterilizada (controle), com quatro repetições e três frutos por repetição. As análises enzimáticas foram realizadas no dia da coleta dos frutos e oito dias após a aplicação dos tratamentos, avaliando-se as enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase. O uso de quitosana diminuiu a severidade da antracnose causada por *C. gloeosporioides*, em relação aos demais tratamentos. Na incidência natural de doenças nos frutos de mangueira, tanto a quitosana como o ASM inibiram o surgimento de patógenos. Na análise enzimática, a atividade da peroxidase aumentou em todos os tratamentos, quando comparados com o controle. Apenas os tratamentos com quitosana, em todas as concentrações testadas, como o extrato de *M. charantia* na maior concentração, propiciaram um aumento na atividade da enzima polifenoloxidase. A atividade de fenilalanina amônia-liase foi estimulada pelo tratamento de quitosana a 2%. O uso de quitosana influenciou positivamente na pós-colheita dos frutos, e estimulou a produção de todas as enzimas estudadas, sendo recomendada a aplicação da quitosana como tratamento alternativo ao controle convencional.

Palavras chaves: *Mangifera indica* L., antracnose, qualidade pós-colheita

MAIA, L. D M. Postharvest management of *Colletotrichum gloeosporioides* in 'Tommy Atkins'. Areia: CCA/UFPB, 2015. (Thesis: Master in Agronomy), p. 67.

ABSTRACT

Anthracnose is the main disease in the culture of mango, caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. Alternative forms to chemical control, routinely used, has been used to minimize costs and reduce waste. Among the alternatives, we highlight the use of inductors using plant extracts and other biological inducers. The objective was to evaluate the natural incidence of anthracnose in mango fruits treated with *Momordica charantia* and chitosan, the disease severity, as well as to evaluate the postharvest quality and the production of enzymes related to plant defense. The leaf of *M. charantia* were collected in the city of Areia-PB, Brazil, prepared in plant pathology lab on Campus II, UFPB, and forwarded to the Natural Products Chemistry Laboratory, Campus I, UFPB, for extraction ethanol. The treatments consisted of *M. charantia* extract at concentrations of 1000, 1500 and 2000 ppm chitosan in concentrations of 1%, 1.5% and 2%, the commercial product acibenzolar-S-methyl (ASM) (0.1 g.L⁻¹), fungicide (Thiabendazole) (4 mL.L⁻¹) and sterile distilled water (control), with four replications and three fruits per replication. Enzymatic assays were performed on the day of collection of fruit-eight days after treatment application, evaluating enzymes: peroxidase, polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase. The use of chitosan decreased the severity of anthracnose caused by *C. gloeosporioides*, compared to other treatments. On the incidence of diseases in mango fruits, both chitosan as ASM inhibited the emergence of pathogens. In enzymatic analysis, the peroxidase activity increased in all treatments compared with control. Only the treatments with chitosan, in all tested concentrations, such as *M. charantia* extract the highest concentration, results in an increase in PPO activity. Phenylalanine ammonia-lyase activity has only been stimulated by treatment of 2% chitosan. The use of chitosan positive influence in post-harvest, and stimulated the production of all studied enzymes. The application of chitosan as an alternative treatment to conventional control is recommended.

Key-words: *Mangifera indica* L., anthracnose, post-harvest quality

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil, com 43.912.143 toneladas, ocupa o terceiro lugar do mundo em produção de frutas, ficando apenas atrás da China (224.816.750 toneladas) e da Índia (83.032.580 toneladas) em 2012 (SANTOS et al., 2014). Já na produção de manga (*Mangifera indica* L.) o Brasil ocupa o sétimo lugar, ficando atrás de Índia, China, Tailândia, Indonésia, Paquistão e México, sendo o estado de São Paulo o maior produtor de manga. Em relação a exportação o Brasil é o quarto maior exportador da fruta, ficando atrás da Índia, México e Holanda. Sendo o Vale do Submédio São Francisco, entre os estados de Bahia e Pernambuco, o maior exportador da fruta. (FAO, 2014; LIMA et al., 2013).

A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc, é considerada uma das doenças mais importantes nas áreas de produção de manga no mundo (BATISTA, 2010). O patógeno causa danos tanto na pré como na pós-colheita em várias culturas de regiões tropicais e subtropicais. Ao infectar uma planta o *C. gloeosporioides* causa sintomas como lesões grandes e arredondadas, necróticas e com o centro da lesão levemente deprimidos, ocorrendo podridões que causam grandes prejuízos na comercialização dos frutos. Normalmente o controle da antracnose se torna difícil de ser realizada, pois o patógeno inicia sua infecção ainda na floração e permanece latente, sem causar danos ou demonstrar sintomas, sendo detectados após o amadurecimento do fruto (BONETT et al., 2011; MACHADO et al., 2013).

O uso do controle químico tem sido o método mais empregado para o controle da antracnose na manga, bem como utilizado de forma preventiva contra outras doenças na pós-colheita. Esse tipo de controle pode ser eficiente quando utilizado de forma correta e seguindo os devidos cuidados, no entanto na prática isso não se aplica. O uso indiscriminado de produtos químicos vem acarretando uma série de problemas, tanto para o homem como para o meio ambiente. Atrelado a isso a exigência do mercado consumidor por produtos livres de insumos químicos e de alta qualidade, traz a necessidade de se buscar tecnologias alternativas ao uso dos agrotóxicos (MIGLIORINI et al., 2012; LEITE et al., 2013).

Dentre as alternativas ao controle convencional, a indução a resistência (elicidores bióticos e abiótico) e a ação fungistática, vem se tornando alternativas promissoras, possibilitando a produção de frutos de qualidade e livres de contaminações por agrotóxicos (NEGREIROS et al., 2013; TERAO et al., 2014).

Como forma de eliciar a defesa da planta, o uso de plantas medicinais vem se tornando, nos últimos anos, um método alternativo ao controle químico bastante estudado entre os cientistas. Através de extratos dessas plantas, novos compostos capazes de controlar ou inibir o desenvolvimento dos fitopatógenos vêm sendo descobertos. Esses produtos naturais, tais como extratos e óleos vegetais, normalmente não são prejudiciais à saúde do homem e nem ao meio ambiente. Além de poder diminuir ou até mesmo parar o uso de defensivos químicos, e a possibilidade de se adquirir produtos livres de resíduos. O uso de produtos naturais possibilita a utilização em sistemas orgânicos de cultivo (FERNANDES et al., 2008; SANTOS et al., 2014).

A espécie *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae), conhecida como melão-de-são-caetano, é considerada com uma planta espontânea, muito encontrada na região Nordeste do Brasil (PEREIRA et al., 2010). Muitas pesquisas comprovam as ações farmacológicas da *M. charantia*, estando presentes em vários compostos químicos importantes para a utilização tanto na farmacologia como na agricultura, tais como, alcalóides, esteróides, saponinas, triterpenos e também proteínas relacionadas a patogênese (COUTINHO et al., 2009).

A quitosana, outro composto que apresenta propriedades que podem atuar no manejo de doenças, é obtida a partir da desacetilação da quitina presente no exoesqueleto dos artrópodes, onde pode apresentar ação direta sobre o patógeno ou ativação dos mecanismos de defesa da planta. Por se tratar de uma substância atóxica, biodegradável e abundante na natureza, se torna uma alternativa promissora no tratamento de doenças em plantas, tanto nas sementes, como nos frutos ou na própria planta (MAIA et al., 2012).

2. OBJETIVOS

Avaliar a incidência natural e severidade de doenças pós-colheita em frutos de mangueira ‘Tommy Atknis’, tratadas com extrato vegetal de melão-de-são-caetano, quitosana, acibenzolar-S-metil e fungicida (Tiabendazol).

Avaliar a qualidade pós-colheita, e produção de enzimas ligadas à indução de resistência em frutos de mangueira ‘Tommy Atkins’ tratados com extrato vegetal de melão-de-são-caetano, quitosana, acibenzolar-S-metil e fungicida (Tiabendazol).

3. REFERENCIAL TEÓRICO

A cultura da mangueira

A mangueira (*Mangifera indica* L.), é uma espécie originária do sul da Ásia, especificamente da Índia. Foi introduzida na costa oriental africana pelos Árabes, ficando conhecida desde o Século X. No Brasil, seu cultivo teve início no século 16, através dos portugueses, sendo o primeiro país das Américas a cultivar essa espécie frutífera (PEREIRA et al., 2005). Atualmente, a mangueira é cultivada em pelo menos 87 países ao redor do mundo, entre as latitude 20° Norte e 20° Sul (SILVA, 2007).

Pertence à classe Dicotiledônea e à família Anacardiaceae, o gênero *Mangifera* inclui cerca de 60 espécies, das quais *M. indica* é a mais importante. Sua árvore é frondosa de porte médio a grande, com copa simétrica, formato arredondado na parte de baixo e piramidal na parte superior, folhas grandes e verdes. As flores são hermafroditas e masculinas na mesma panícula, constituindo uma inflorescência poligâmica. O número de flores por panícula pode variar de 500 a mais de 4 mil. O fruto são drupas que possuem tamanho, forma e peso variado. Sua coloração varia de amarelo, laranja e vermelho, sendo mais rosada no lado que sofre insolação direta. Sua polpa pode ser muito ou pouco fibrosa, e em seu interior encontra-se a semente ou caroço (PEREIRA et al., 2005).

A manga além de ser umas das principais frutas de exportação brasileira, possui, também, grande participação no mercado interno. Em 2013, ocorreu um aumento de 7,3% em relação a 2012, tendo obtido uma receita em negociações com o exterior de US\$ 147,5 milhões contra US\$ 137,5 milhões obtidos em 2012. Foram embarcadas 122 mil toneladas de frutas em 2013. Desse total, 74% é destinada a União Europeia, principal importador das mangas brasileiras, e 23% para os Estados Unidos (SANTOS et al., 2014).

No ano de 2013 foram produzidas aproximadamente 1.163.000 toneladas de manga no brasil, com um rendimento médio por hectares de 16.526 kg, onde foram colhidos 70.372 hectares dos 70.718 destinados a produção da manga. Desse total produzido, o nordeste representa 65% da produção e a região sudeste 30%, sendo as duas regiões mais produtoras do Brasil. Entre os maiores estados produtores estão Bahia e Pernambuco, São Paulo e Minas Gerais (IBGE, 2013).

A grande produção da manga vem de pequenos produtores, com até 3 hectares cultivadas. Assim a cultura da mangueira reveste-se de especial importância socioeconômica, pois apresentam um elevado coeficiente de geração de empregos e

grandes negociações no mercado interno e externo, gerando renda e movimentação de capital nas pequenas regiões produtoras (SILVA; CORREIA, 2004).

Para fins de comercialização, a variedade Haden, foi durante algum tempo a que possuía a maior aceitação do mercado pela sua excelente qualidade, porém essa variedade foi sendo substituída por outras, mais produtoras e mais resistentes a doenças (MATOS, 2000). A variedade Tommy Atkins é a cultivar mais produzida e a que possui a maior participação no volume comercializado no mundo, devido principalmente a sua coloração intensa, produção elevada e resistência ao transporte a longas distâncias (COSTA; SANTOS, 2004).

Além da Tommy Atkins, existem outras variedades cultivadas no mundo, elas podem ser divididas entre o local de origem. A tommy entra nas variedades americanas, nesse grupo se enquadra a Haden, Keitt, Kent, Palmer e a Van Dyke. Entre as sul-africanas estão a Heidi, Joa e Néldica. As Indianas são a Alphonso, Amrapali, Dashehari, Langra, Mallika, Mulgaba e Neelum. As variedades nacionais não são muito comerciais, mas possuem boa aceitação em algumas regiões do mercado interno, como a Espada, Rosa, Ubá e Carlotinha. Dentre todas essas variedades, as americanas são as mais cultivadas comercialmente no Brasil (PEREIRA et al., 2005).

Sendo a manga reconhecida como o fruto fresco mais consumido em todo o mundo, seu cultivo merece atenção especial a fim de se evitar problemas durante o seu ciclo. Por exemplo, o florescimento da mangueira é fortemente afetado pelo clima. A umidade do ar estimula a brotação das flores e as chuvas são desfavoráveis nesta fase, porém valores muito elevados de umidade podem ser favoráveis à ocorrência de doenças fúngicas, e quando são associados com temperaturas do ar, também elevadas, a produção é seriamente afetada (TEIXEIRA et al., 2010).

A floração e fase inicial de desenvolvimento do fruto é um momento delicado na produção comercial de manga, uma vez que doenças como o oídio (*Oidium mangiferae* Berthet), antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) e malformação floral (*Fusarium subglutinans*), podem afetar esta etapa do desenvolvimento (GALLI et al, 2012). Sendo a fase de formação do fruto a mais crítica, pois é quando ocorrem infecções fúngicas, que permanecem em repouso no interior do tecido, desenvolvendo os sintomas da podridão durante o transporte e armazenamento, podendo causar sérios prejuízos aos produtores e exportadores (TAVARES et al., 2005; TERAO et al., 2014).

No fruto, problemas como podridões, causadas principalmente por fungos, provocam deterioração fisiológica devido ao amadurecimento, diminuindo rapidamente

sua vida pós-colheita (BARROS et al., 2010). Portanto, a incerteza quanto a sanidade do fruto e para evitar o aparecimento destas doenças tem sido utilizado, preventivamente e/ou empiricamente, fungicidas no tratamento pré e pós-colheita, o que pode causar, através do uso inadequado dos produtos, a contaminação química do alimento (TERAO et al., 2013).

Antracnose da mangueira

A antracnose é causada pelo fungo *Glomerella cingulata* (Stonem) Spauld. & Schrenck *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., que também pode infectar culturas como abacateiro (*Persea americana* Mill.), videira (*Vitis vinifera* L.), banana (*Musa* spp.), macieira (*Malus domestica* Borkh.), cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), goiabeira (*Psidium guajava* L.), citros, cana-de-açucar (*Saccharum officinarum* L.), Sendo um patógeno de ampla diversidade de hospedeiros, o mesmo possui uma ampla variabilidade morfológica e patogênica (KIMATI et al., 2005; SERRA et al., 2011). Essa doença é considerada uma das mais frequentes e representam as maiores perdas econômicas em áreas de produção de manga no mundo, exigindo, por vezes, o tratamento pós-colheita (BATISTA, 2010). Sua distribuição é generalizada, ocorrendo em todas as regiões produtoras de manga no Brasil, em períodos quentes e úmidos (ZAMBOLIM; JUNQUEIRA, 2004).

O agente *G. cingulata* pertence à subdivisão Ascomycotina cuja à espécie *C. gloeosporioides* corresponde a sua fase imperfeita. Sua ordem é a Melanconiales, família Melanconiaceae. Seus acérvulos subepidérmicos, são dispostos em círculos. Seus conídios são hialinos e gutulados, uninucleados, arredondados nas extremidades e levemente curvos (KIMATI et al., 1997; SERRA et al., 2011).

O *C. gloeosporioides* requer umidade relativa acima de 90% por no mínimo de 10h a 12 horas e uma temperatura acima de 25°C para a germinação do conídio e formação do apressório (ZAMBOLIM; JUNQUEIRA, 2004; SOUZA, 2011). A temperatura entre 20°C a 30°C, com períodos chuvosos e/ou encobertos por orvalhos intensos, principalmente no período noturno é ideal para o desenvolvimento do patógeno e consequentemente da doença (SALES JUNIOR et al., 2004).

Além de auxiliar no desenvolvimento do patógeno, a água da chuva, irrigação ou orvalho, transportam esporos do fungo até o fruto, que germinam e são capazes de

penetrar na epiderme, entrando em um estado latente até o desenvolvimento do fruto, onde no início do amadurecimento o patógeno deixa o estado de latência (SILVA, 2007)

O fungo do gênero *Colletotrichum* infecta praticamente todas as partes da mangueira como folhas, panículas, ramos, flores e frutos. Sendo os frutos afetados em todos os estágios de desenvolvimento, mesmo após a colheita (SALES JUNIOR et al., 2004; ROSSETTO, 2006).

Nos frutos, os sintomas típicos da doença são manchas necróticas grandes e arredondadas com depressão na superfície da casca, progredindo para a polpa. Nas folhas os sintomas caracterizados por manchas necróticas irregulares ou circulares de tamanho variado, já na inflorescência os sintomas são necroses nas flores e engaço ou raque, de coloração escura e salteadas (BAILEY et al., 1992; TAVARES et al., 2001).

Sendo um patógeno que possui preferência por temperaturas elevadas e alta umidade relativa, a doença possui uma maior ocorrência nos países tropicais e subtropicais, causando assim perdas na qualidade e na produtividade, acarretando em aumento de custo de produção com a necessidade de controle, tanto no campo como na pós-colheita (LIMA, 2013).

Métodos alternativos para o manejo de doenças de plantas

O controle químico é o manejo mais utilizado no controle das doenças. Por meio de aplicações de fungicidas o efeito obtido é mais rápido e eficaz. Porém um problema entre os produtores se intensificou como, o uso indiscriminado ou a não alternância do ingrediente ativo podem levar a indução de resistência dos patógenos aos fungicidas utilizados (TAVARES, 2004).

O aumento da utilização de produtos químicos na produção de alimentos, associado com o aumento da resistência dos fitopatógenos, com impacto sobre o ambiente causado resíduos deixados pelo controle convencional fez com que a busca por alimentos sem resíduos de agrotóxicos aumentasse consideravelmente, acarretando na busca por alternativas ao controle químico das doenças (RODRIGUES et al., 2006; CARVALHO; PIVOTO, 2011).

Os compostos secundários produzidos pelas plantas ou a ação fungitóxica direta, ativadas ou produzidas, respectivamente, por produtos naturais, tem se tornado uma alternativa no controle de fitopatógenos. O uso de extratos e óleos vegetais, bem como

produtos bioativos tem se mostrado uma promissora alternativa ao emprego dos produtos sintéticos (VENTUROSO et al., 2011; GARCIA et al., 2012).

Exemplos do uso de extratos e óleos vegetais contra patógenos pode ser observado em pesquisas de Venturoso et al., (2011) que demonstraram que extratos de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry), extrato aquoso de alho (*Allium sativum* L.) e extrato de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) conferiram atividade antifúngica e fungistática contra *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *C. kikuchii*, *Colletotrichum* sp., *F. solani* e *Phomopsis* sp.. Já Carnelossi et al. (2009), utilizando óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), eucalipto (*Eucalyptus citriodora*), menta (*Mentha arvensis*) e estragão (*Artemisia dracunculus*) contra *C. gloeosporioides*, demonstraram atividade potencial na redução da doença, possibilitando um menor uso de fungicidas comerciais.

Tanto na indução pré como na pós-colheita, já se observa que o uso de extratos tem trazido bons resultados na indução de resistência, tendo destaque para a indução de frutos a patógenos na pós-colheita. Em trabalhos conduzidos por Dantas et al. (2004), utilizando indutores de resistência, foram capazes de eliciar respostas de defesa na pós colheita de frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) contra fungos causadores de podridões. Brito et al. (2011), observaram a influência do extrato de manjericão no controle da podridão negra, causada por *Chalara paradoxa*, uma doença pós-colheita responsável por perdas elevadas em frutos de abacaxizeiro (*Ananas comosus* L.) para consumo in natura

Quitosana

A quitina é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, ficando atrás apenas da celulose em disponibilidade. As principais fontes de extração são as cascas de camarões e carapaças de caranguejos. Para a obtenção da quitina são necessários três processos, a desmineralização, desproteinização e a despigmentação (GOY et al., 2004; DELEZUK, 2009). Através da hidrólise dos grupos acetamido, reação de derivatização da quitina, originando grupos amino, o polímero quitosana é gerado, sendo considerado como quitosana apenas quando a média de grupos amino for de 50% a 95% e for solúvel em soluções aquosas diluídas de ácidos (DELEZUK, 2009).

A quitosana, obtida da desacetilação da quitina, é um copolímero de 2-amino-2-desozi-D-glicopiranose e 2-acetamido-e-deoxi-D-glicopiranose, que possui uma

composição variável em função do grau residual de acetilação, onde as unidades estão unidas por ligações β (1 \rightarrow 4). A quitosana é usada para identificar 50% de unidades desacetiladas, enquanto quitina corresponde a produtos muito mais acetilados (CAMPANA e SIGNINI, 2001; GOY et al., 2004; RINAUDO, 2006).

Quanto as propriedades físico-químicas, a quitosana é insolúvel em água, sendo necessário utilizar soluções aquosas de ácido orgânico, como ácido acético, cítrico, fórmico, e também alguns ácidos inorgânicos, como por exemplo o ácido clorídrico diluído (SANTOS et al., 2003). A quitosana é largamente utilizada nas mais diversas áreas, por exemplo, na biomedicina, farmácia, biotecnologia e na agricultura, onde pode ser usada como indutor de resistência, aumentando os níveis de vários compostos de defesa em plantas, incluindo as fitoalexinas, proteínas relacionadas a patogêneses, inibidores proteicos e ligninas (MAZARO et al., 2008; FERREIRA et al., 2009)

Na busca por alternativas no controle de doenças a quitosana vem sendo constantemente estudada. Di Piero e Garda (2008) utilizando quitosana para avaliar o controle de antracnose no feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), observaram que ela apresenta propriedades antifúngicas contra *C. lindemuthianum*, causador da antracnose no feijoeiro. Utilizando quitosana contra patógenos causadores de doenças de mamoeiro in vitro, Lemes et al. (2014), observaram que a quitosana conferiu atividade antifúngica sobre o crescimento, concentração e germinação de conídios de *Alternaria alternata*, *C. gloeosporioides* e *C. capsici*. Gomes e Serra (2013), avaliando o efeito de produtos naturais no controle da antracnose em frutos de pimenteira (*Capsicum* spp.) com aplicações pós-colheita, observaram que a quitosana, apresentou efeitos sobre o tamanho da lesão, recomendando a aplicação dos mesmos para a minimização do uso de fungicidas

Mesmo quando colhido o fruto continua seu metabolismo, podendo sofre mudanças nas suas qualidades físico-químicas com aplicação de produtos para o controle de enfermidades, além de se tornarem mais susceptíveis aos ataques de patógenos ao longo do amadurecimento (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Buscando alternativas ao controle convencional de doenças pós-colheita na bananeira (*Musa* spp.). Negreiros et al. (2013) avaliaram produtos alternativos aos agrotóxicos convencionais no controle da antracnose e observaram que óleo de neem, óleo de alho e quitosana reduziram a intensidade da doença na pós-colheita sem alterar a qualidade do fruto.

Melão de são Caetano

O melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.), Curcubitaceae, também conhecido pela nomenclatura vulgar de erva-de-lavadeira, melãozinho, fruta-de-negro, erva-de-São-Vicente e fruta-de-cobra, é uma planta utilizada pelas propriedades farmacêuticas em vários países, cultivada principalmente na Índia, China, África Oriental e América do Sul. A *M. charantia* possui vários componentes que são conhecidos como saponinas esteroidais, que incluem a charantina, vicina e pp-insulina, que são responsáveis pela redução das ações do açúcar no sangue (WELIHINDA et al., 1986; GONSALVES, 1989; GÜRBÜZ et al., 2000) e seus compostos secundários. Frutos e folhas são usados no tratamento de diabetes, diarreia, reumatismo, parasitoses, cólicas e em processos de cicatrização (PACHECO et al., 2012). A planta de melão-de-são-caetano é uma trepadeira herbácea rasteira, apresenta muitos ramos, flores amarelo-pálidas ou brancas, seus frutos são amarelos quando maduro, apresentando sementes vermelhas ricas em licopeno, com concentrações que chegam a 96% dos carotenoides totais (RODRIGUEZ et al., 1975; MAIA et al., 2008).

O uso do melão-de-são-caetano na medicina caseira já é bastante difundido, por possuir vários compostos secundários (FARIA et al., 2009). O uso de plantas medicinais no controle de fitopatógenos vêm sendo frequentemente estudados, mas não totalmente explorados. As plantas podem constituir fontes úteis de substâncias fungitóxicas, fungistáticas e/ou ativando mecanismos de defesa de plantas a patógenos (CUNICO et al., 2003; CELOTO et al., 2008).

Verificando o potencial para ser utilizado o melão-de-são-caetano no controle do fungo *Sclerotium rolfsii*, Faria et al. (2009), observaram que os extratos hidroetanólico e aquoso, *in vitro*, controlaram 100% dos escleródios, num período de 7 dias. Celoto et al. (2008) verificando a atividade de vários extratos de plantas com potencial ação antifúngica contra a *C. gloeosporioides* observaram que o estrato aquoso e hidroetanólico de melão-de-são-Caetano e o extrato hidroetanólico de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) foram os que proporcionaram maiores inibições no crescimento micelial do patógeno. Lins et al. (2012), testaram a ação de extratos aquosos de alho (*Allium sativum* L.), melão-de-são-caetano e casca de manga cv. Tommy Atkins no controle da podridão peduncular em mangueira, causada por *Lasiodiplodia theobromae* e observaram que todos os extratos apresentaram potencial para o controle da doença.

Estudos realizados com o extrato bruto ou óleo essencial, obtido a partir de plantas medicinais da flora nativa, indicam o potencial para o controle de patógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, como por ação indireta através da produção de compostos com características elicitoras. O fracionamento de metabólitos secundários destas plantas, bem como para determinar a atividade biológica destas moléculas, podem contribuir para a aquisição de novos conhecimentos para aumentar a sua possível utilização como um meio alternativo de controle de doenças de plantas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

Indução a resistência de plantas a patógenos

As plantas produzem muitos compostos orgânicos, que aparentemente não apresentam função no crescimento nem no desenvolvimento vegetal. Tais compostos são conhecidos como metabólitos secundários. Esses metabólitos secundários, são considerados os produtos finais do metabolismo, apresentam características de grande relevância para as plantas que o sintetizam, por se constituir numa das principais funções responsáveis pelo aporte metabólico desempenhando funções importantes na interação planta-patógeno através da ação antimicrobiana direta, ou ativando os mecanismos de defesa das plantas (STANGARLIN et al. 1999; TAIZ E ZAIGER, 2009).

Os metabólitos secundários são biossintetizados por rotas metabólicas específicas, onde ocorre uma estreita relação entre os metabólitos primários (aminoácidos, carboidratos, nucleotídeos e lipídios), elas são interconectadas, onde a primária fornece moléculas para as principais rotas de síntese do metabolismo secundário (CASTRO et al., 2004). Por meio da fotossíntese o metabolismo primário produz as ferramentas para o desenvolvimento do metabolismo secundário. Existe três grandes grupos de metabólitos secundários: os compostos nitrogenados, os compostos fenólicos e os terpenos (PERINI, 2008; BERGAMASCHI, 2010).

Os vegetais produzem uma gama de variedades de produtos secundários que possuem um grupo hidroxila funcional em um anel aromático, tais substâncias são classificadas como compostos fenólicos, muitos agem como compostos de defesa contra patógenos, outros na atração de polinizadores e alguns na dispersão de frutos (TAIZ e ZAIGER, 2009). Esses compostos são biossintetizados por diferentes rotas, contribuindo assim para um grupo bastante heterógeno de compostos, as duas principais rotas que estão

envolvidas na produção desses metabolitos são a rota do ácido chiquímico e a rota do ácido malônico (YAMADA; CASTRO, 2007).

O metabolismo secundário que envolve os mecanismos de defesa pode ser dividido entre bioquímicos e estruturais, e ainda podem ser pré e/ou pós-formados. Em relação ao ataque do patógeno na planta, quando pré-formado a planta já possui, antes do ataque do patógeno, todo aparato de defesa estabelecido, quando o mecanismo é pós-formado, a planta estabelecerá sua defesa somente após o ataque do patógeno (SCHWAN-ESTRADA et al., 2008).

Os mecanismos de resistência induzida podem ser estruturais, como lignificação e formação de papilas, ou respostas bioquímicas, através de mudanças na atividade de enzimas chave, como por exemplo a peroxidase, fenilalanina amônia-liase e polifenoloxidase, onde ativam rotas de defesa possíveis de atrasar ou eliminar a ação do patógeno. O aprofundamento no conhecimento das rotas dessas enzimas se tornar necessário para se entender os mecanismos de defesa vegetal. (PASCHOLATI; LEITE, 1995; SOUZA, 2013).

A peroxidase é a enzima que catalisa a oxirredução entre peróxido de hidrogênio e vários redutores. Essa enzima pode atuar tanto diretamente na defesa de plantas a patógenos, como também nas rotas de sinalização relacionadas a diversos processos fisiológico (PINTO et al., 2011). A peroxidase é responsável pelo reforço da parede celular através da deposição de lignina, formação de suberinas, polissacarídeos ferulicolados e glicoproteínas ricas em hidroxiprolina. A peroxidase é uma das enzimas mais estudadas no processo de defesa, pelo fato da sua atividade está diretamente ligada a redução da severidade de doenças (KUHN, 2007; CURVÊLO et al., 2013)

O ataque de patógenos induz a transcrição do RNA mensageiro, onde através de uma série de sinais, a enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) é codificada e posteriormente estimula a produção de compostos fenólicos. A PAL é uma das enzimas com maior relevância nos estudos que envolvem o metabolismo secundário das plantas. Primeiramente o aminoácido fenilalanina é convertido em ácido *trans*-cinâmico pela ação da PAL, onde esse ácido é o primeiro produto da rota biossintética dos fenilpropanóides em plantas superiores. Os fenilpropanóides, servem como precursores de uma série de polímeros naturais, que possuem a função de defender a planta contra patógenos, servem de atração para polinizadores através de pigmentação e produção de compostos aromáticos nas flores, além de produzirem compostos que absorvem radiação UV. Sendo assim, a PAL é uma enzima chave no indicativo de estresses na planta. Sua atividade

aumenta em relação as respostas aos estresses bióticos e abióticos (KUHN, 2007; VALENTE, 2012; BORSATTI, 2014).

As enzimas polifenoloxidases (PFOs) são responsáveis pela catálise da reação de oxidação de polifenóis, convertendo-os em quinonas. As PFOs elevam sua concentração em tecidos infectados por patógenos. No local da lesão provocada pelo patógeno, as POF causam degradações oxidativas de compostos fenólicos ao redor da lesão e resulta no escurecimento do local proveniente da polimerização oxidativa das quinonas. As PFO permanecem intracelularmente, na sua maioria em estado inativo, ao ocorrer a lesão pelo patógeno elas são liberadas e iniciam o processo de oxidação de compostos fenólicos produzem quinonas que apresentam ação antimicrobiana. Além de atuarem na defesa das plantas as polifenoloxidases participam ativamente da fotossíntese, onde duas quinonas (Plastoquinonas A e B) são peças fundamentais no transporte de elétrons no fotossistema II. (CAMPOS et al., 2004; KUHN, 2007; TAIZ; ZAIGER, 2009; PINTO et al., 2011)

Nesse contexto, existem diversas enzimas envolvidas na resistência induzida. Quando a planta sofre um estresse causado por patógenos, a atividade de enzimas, tais como, peroxidases, polifenoloxidases, fenilalanina amônia liase, β -1,3-glucanases e quitinases, tendem a aumentar em relação aos tecidos não infectados. Sendo então de vital importância o aprofundamento nos estudos dessas enzimas que possibilitando o maior entendimento dos mecanismos de defesa vegetal (BORSATTI, 2014).

REFERÊNCIAS

- BAILEY, J. A.; O'CONNELL, R. J.; PRING, R. J.; NASH, C.; JEGER, M. J. Infection strategies of *Colletotrichum* species. ***Colletotrichum: Biology, pathology and control.***, p. 88-120, 1992.
- BARROS P. N.; SOUZA, W. C. O.; MAIA, L. D. M.; SANTOS JÚNIOR, G. P.; CAVALCANTI, L. S.; GOMES, E. C. S. Aspectos de qualidade de manga 'tommy atkins' do mercado atacadista de juazeiro-BA. ***Anais...: V Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica***. Maceió, AL. 2010.
- BATISTA, D. da C. **Cultivo da Mangueira: Doenças**. Petrolina-PE: EMBRAPA Semiárido, ed. 2, Versão eletrônica, ago, 2010. Disponível em: < http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Manga/CultivodaMangueira_2ed/doencas.htm >. Acessado em: 18 de dez de 2014.
- BERGAMASCHI, K. B. **Capacidade antioxidante e composição química de resíduos vegetais visando seu aproveitamento**. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo – ESALQ, Piracicaba-SP, 2010.
- BONETT, L. P.; ALMEIDA, M.; GONÇALVES, R. G. A.; DE AQUINO, T. F.; BERNARDI-WENZEL, J. Caracterização morfocultural e infecção cruzada de *Colletotrichum gloeosporioides* agente causal da antracnose de frutos e hortaliças em pós-colheita. ***Ambiência***, v. 6, n. 3, p. 451-463, 2011.
- BORSATTI, F. C. **Ácido salicílico na qualidade pós-colheita de frutos, hortaliças folhosas e flores**. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco – PR, 2014.
- BRITO, N. M.; NEVES, C. M. L.; RIBEIRO, V. V.; NASCIMENTO, L. C. ARAÚJO E. Alternativas de controle de *chalara paradoxa* na pós-colheita de abacaxi. ***Revista Caatinga***, Mossoró, v. 24, n. 2, p. 52-58, 2011.
- CAMPANA, S. P. Filho; SIGNINI, R. Efeito de aditivos na desacetilação de quitina. ***Polímeros: ciência e tecnologia***, v. 11, n. 4, p. 169-173, 2001.
- CAMPOS, A. D.; FERREIRA, A. G.; HAMPE, M. M. V.; ANTUNES, I. F.; BRANCÃO, N.; SILVEIRA, E. P. da; OSORIO, V. A.; AUGUSTIN, E. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. ***Pesquisa Agropecuária Brasileira***, v. 39, n. 7, p. 637-643, 2004.
- CARNELOSSI, P. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. ***Revista Brasileira de Plantas Medicinais***, v. 11, n. 4, p. 399-406, 2009.
- CARVALHO, N. L.; PIVOTO, T. S. Ecotoxicologia: conceitos, abrangência e importância agronômica. ***Revista Monografias Ambientais***, v. 2, n. 2, p. 176-192, 2011.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais metabólitos secundários**. 2. ed. Visconde do Rio Branco: Suprema, 113 p. 2004.

CELOTO, M. I. B.; PAPA, M. de F. S.; SACRAMENTO, L. V. S. do; CELOTO, F. J. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá-PR, v. 30, n. 1, p. 1-5, 2008.

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

COSTA, J. G. da; SANTOS, C. A. F. **Cultivo da mangueira**: Cultivares. Petrolina-PE: EMBRAPA Semiárido. Versão eletrônica, Julho, 2004. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Manga/CultivodaMangueira/socioeconomia.htm>>. Acessado em: 16 de dez de 2014.

COUTINHO, D. F.; FLORÊNCIO, J. C.; AGUIAR, L. dos R.; RODRIGUES, K. A. da F.; VILANOVA, C. M.; BORBA, E. R. de C. Estudo farmacobotânico das folhas de *Momordica charantia* L.(cucurbitaceae). **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 10, n. 1, 2009.

CUNICO, M. M.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D.; CARVALHO, J. L. S.; PEITZ, C.; AUER, C. G.; JÚNIOR, A. G. Estudo da atividade antifúngica de *Ottonia martiana* Miq., Piperaceae: um teste in vivo. **Visão Acadêmica**, v. 4, n. 2, 2003.

CURVÊLO, C. R. da S.; RODRIGUES, F. Á.; SILVA, L. de C.; NASCIMENTO, K. J. T.; BERGER, P. G. Mecanismos bioquímicos da defesa do algodeiro à mancha de ramulária mediados pelo silício. **Bragantia**, campinas, v. 72, n. 1, p. 41-51, 2013.

DANTAS, S. A. F.; OLIVEIRA, S. M.A.; BEZERRA NETO, E.; COELHO, R. S. B.; SILVA, R. L. X. Indutores de resistência na proteção do mamão contra podridões pós-colheita. **Summa Phytopathol.**, Vol.30, Nº 3, 2004.

DELEZUK, J. A. de M. **Desacetilação de beta-quitina assistida por ultra-som de alta intensidade: estudo dos efeitos da amplitude e do tempo de irradiação e da temperatura da reação**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo – São Carlos. 2009.

DI PIERO, R. M.; GARDA, M. V. Quitosana reduz a severidade da antracnose e aumenta a atividade de glucanase em feijoeiro-comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 9, p. 1121-1128, 2008.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAOSTAT. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/E>>. Acesso em: 27 dez. 2014.

FARIA, F. A.; BUENO, C. J.; PAPA, M. de F. S. Atividade fungitóxica de *Momordica charantia* Momordica charantia L. no controle de *Sclerotium rolfsii* Sacc. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 31, n. 3, p. 383-389, 2009.

FERNANDES, M. do C. de A.; LEITE, E. C. B.; MOREIRA, V. E. **Manual técnico: Defensivos alternativos**. Niterói : Programa Rio Rural, 2008.

FERREIRA, L. E. J.; FIOROTTI, J. L.; HALASZ, M. R. T.. **Quitosana:** Produção e estudo de parâmetros relevantes através de métodos viáveis. VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, Uberlândia- MG, 2009.

GALLI, J. A.; FISCHER, I. H.; PALHARINI, M. C. D. A. Doenças pré e pós-colheita em variedades de manga cultivadas em sistema orgânico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 34, n. 3, p. 734-743, 2012.

GARCIA, R. Á.; JULIATTI, F. C.; BARBOSA, K. A. G.; CASSEMIRO, T. A. Atividade antifúngica de óleo e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*= Antifungal activity of vegetable oils and extracts against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, 2012.

GOMES, E. C.; SERRA, I. M. R. de S. Eficiência de produtos naturais no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em pimenta na pós colheita. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 39, n. 4, p. 290-292, 2013.

GONSALVES, P. E. **Medicinas alternativas:** os tratamentos não-convencionais. Ibrasa, 1989.

GOY, R. C.; ASSIS, O. B. G.; CAMPANA-FILHO, S. P. Produção de esferas de quitosana. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, ed, v. 33, p. 30-34, 2004.

GÜRBÜZ, I.; AKYÜZ, Ç.; YEŞİLADA, E.; ŞENER, B. Anti-ulcerogenic effect of *Momordica charantia* L. fruits on various ulcer models in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, n. 1, p. 77-82, 2000.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção agrícola municipal**. Rio de Janeiro, v. 40, p.1-102, 2013.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds.) **Manual de fitopatologia:** Doenças das plantas cultivadas. ed. 4. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, 2005.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds.) **Manual de fitopatologia:** Doenças das plantas cultivadas. ed. 3. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, 1997.

KUHN, O. J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção.** Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade de São Paulo – ESALQ, Piracicaba-SP, 2007.

LEITE, R. P.; MEDEIROS, J. G. F.; NASCIMENTO, L. C.; NETO, A. A.; NETO, J. F.; GOMES, E. C. S. Estratos vegetais no controle de fungos em sementes de sabiá-Mimosa caesalpiniaefolia Benth. **Scientia Plena**, v. 8, n. 4, 2013.

LEMES, I. G.; VITÓN, T. M.; JIMÉNEZ, A. P. Actividad antifúngica de sales de quitosana in vitro sobre hongos causantes de enfermedades poscosecha en papaya (Carica papaya). **Fitosanidad**, v. 18, n. 1, p. 33-40, 2014.

LIMA, J. R.; SILVA, J. de S.; SANTOS, R. K. B. Comportamento dos preços da manga exportada do Brasil: 2004-2012. **Organizações Rurais & Agroindustriais**, v. 15, n. 3, 2013.

LIMA, N. B. **Etiologia e epidemiologia das espécies de *Colletotrichum* relacionadas com a antracnose em frutos de mangueira no Nordeste brasileiro**. Tese (Doutorado em Fitopatologia), Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife-PE, 2013.

LINS, S. R. de O.; OLIVEIRA, S. M. A. de; XAVIER, H. S.; RANDAU, K. P. Prospecção fitoquímica de extratos de plantas e controle da podridão peduncular em manga. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, vol. 7, núm. 1, 2012.

MACHADO, R. M. A.; DIAS, V. M.; DE SOUZA, C. L. M.; DA SILVA, L. B.; FREIRE, M. D. G. M. Avaliação de óleos essenciais sobre o crescimento in vitro do fungo *colletotrichum gloeosporioides*. **Biológicas & Saúde**, v. 3, n. 8, 2013.

MAIA, A. J.; LEITE, C. D.; BOTELHO, R. V.; FARIA, C. M. D. R.; MACHADO, D. Quitosana como opção de controle do mildio para viticultura sustentável. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 6Supl1, p. 2519-2530, 2012.

MAIA, R. R.; PEREIRA, M. do S. V.; HIGINO, J. S.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. P. de; ALBUQUERQUE, A. C. L. de; PEREIRA, L. F.; COSTA, M. R. M.; PEREIRA, A. V. Efeito antimicrobiano do extrato de *momordica charantia* linn isolado e em associação com antibióticos sobre *staphylococcus aureus* multirresistentes. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 4, n. 1, 2008.

MATOS, A. P. **Manga. Produção**: aspectos técnicos. EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas-BA, p. 63, 2000.

MAZARO, S. M.; CITADIN, I.; GOUVÉA, A. de; LUCKMANN, D.; GUIMARÃES, S. S. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.7, p.1824-1829, 2008.

MIGLIORINI, P.; KULCZYNKI, S. M.; SILVA, T. A. da; BELLÉ, C.; KOCH, F.; UFSM, F. W. Efeito do tratamento químico e biológico na qualidade fisiológica e sanitária de sementes de canola. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15, p. 788-801, 2012.

NEGREIROS, R. J. Z. D.; SALOMÃO, L. C. C.; PEREIRA, O. L.; CECON, P. R.; SIQUEIRA, D. L. D. Controle da antracnose na pós-colheita de bananas-‘prata’ com produtos alternativos aos agrotóxicos convencionais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 1, p. 51-58, 2013.

NEGREIROS, R. J. Z. D.; SALOMÃO, L. C. C.; PEREIRA, O. L.; CECON, P. R.; SIQUEIRA, D. L. D. Controle da antracnose na pós-colheita de bananas ‘prata’ com

produtos alternativos aos agrotóxicos convencionais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 1, p. 51-58, 2013.

PACHECO, S.; GODOY, R. L. de O.; PORTE, A.; ROSA, J. S. da; SANTIAGO, M. C. P. A. Obtenção de Padrões de cis-licopeno e β-cryptoxantina para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência a Partir de Melão-de-São-Caetano e Caqui. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, n. 2, 2012.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: Mecanismos de resistência. In. Bergamin Filho, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (Eds.) Manual de Fitopatologia: **Princípios e conceitos**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, p.417-454, 1995.

PEREIRA, B. S.; NUNES-PINHEIRO, D. C. S.; VASCONCELOS, A. K. P.; PINHEIRO, A. D. N.; RODRIGUES, P. A. Atividade hepatoprotetora dos extratos etanólico e hexânico das folhas de *Momordica charantia* L. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 12, n. 3, p. 311-6, 2010.

PEREIRA, M. E. C; FONSECA, N; SOUZA, F. V. D. **MANGA: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa, 2005.

PERINI, V. B. de M. Análise do óleo essencial, produção de biomassa e fungitoxicidade do capim citronela (*Cymbopogon nardus*). Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Federal do Tocantins – UFT, Guripi-TO, 2008.

PINTO, M. dos S. T.; RIBEIRO, J. M.; OLIVEIRA, E. A. G. de. O estudo de genes e proteínas de defesa em plantas. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n. 2, 2011.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: properties and applications. **Progress in polymer science**, v. 31, n. 7, p. 603-632, 2006.

RODRIGUES, E.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S.; FIORI-TUTIDA, A. C. G. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de gengibre e eucalipto in vitro e em fibras de bananeira infectadas com *Helminthosporium* sp. **Acta Scientiarum: Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 1, p. 123-127, 2006.

RODRIGUEZ, D. B.; LEE, T.-C.; CHICHESTER, C. O. Comparative study of the carotenoid composition of the seeds of ripening *Momordica charantia* and tomatoes. **Plant physiology**, v. 56, n. 5, p. 626-629, 1975.

ROSSETTO, C. J. **Doenças da Mangueira - Antracnose**. 2006. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <<http://www.infobibos.com/Artigos/AntracnoseManga/Antracnose.htm>>. Acesso em: 19/12/2014.

SALES JUNIOR, R.; COSTA, F. M. da; MARINHO, R. E.; NUNES, G. H.; AMARO, J. Utilização de azoxistrobina no controle da antracnose da mangueira. **Fitopatologia brasileira**, v. 29, p. 2, 2004.

SANTOS, C. E. dos; KIST, B. B.; CARVALHO, C. de; REETZ, E. R.; DRUM, M. **Anuário brasileiro da fruticultura**. Santa Cruz do Sul: Gazeta do Sul, p. 136, 2014.

SANTOS, J. E. dos; PSOARES, J. da; DOCKAL, E. R.; FILHO, S. P. C.; CAVALHEIRO, É. T. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 4, p. 242-249, 2003.

SCHWAN-ESTRADA K. R. F.; STANGARLIN J. R.; CRUZ M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Floresta**, 2000.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. **Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal**. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Ed.). *Interação Planta Patógeno – fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular*. Piracicaba: FEALQ, p.227-248, 2008.

SERRA, I. M. R. de S.; COELHO, R. S. B.; FERRAZ, G. de M. G.; MONTARROYOS, A. V. V.; SILVA, D. de S. Diversidade fenotípica e patogênica de *Colletotrichum*, agente causal da antracnose em mangueira, e identificação de espécie. **Summa phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 1, p. 42-51, 2011.

SILVA, G. F. da. Eficiência de diferentes produtos fungicidas no controle da antracnose em manga. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró-RN, 2007.

SILVA, P. C. G.; CORREIA, R. C. **Cultivo da mangueira**: socioeconômica. Petrolina-PE: EMBRAPA Semiárido. Versão eletrônica, Julho, 2004. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Manga/CultivodaMangueira/socioeconomia.htm>>. Acessado em: 17 de dez de 2014.

SOUZA, A. de. **Caracterização molecular e patogênica de isolados de *Colletotrichum* spp. associados a sintomas de antracnose em mangueiras**. (Dissertação de mestrado). Mestrado em Agronomia - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, 2011.

SOUZA, W. C. O. de. **Comportamento in vitro e controle alternativo da podridão negra (*Chalara paradoxa* L.) em abacaxizeiro cultivar ‘perola’**. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal da Paraíba – UFPB, Areia, 2013.

STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; NOZAKI, M. H. Plantas medicinais. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v.11, p.16-21, 1999.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 819p, 2009.

TAVARES, G.M. Controle químico e hidrotérmico da antracnose em frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) na pós-colheita. **Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)** – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2004.

TAVARES, S. C. C. de H.; COSTA, V. S. de O.; SANTOS, C. A. P.; MOREIRA, W. A.; LIMA, M. F.; LOPES, D. B. Monitoramento de doenças na cultura da mangueira. **EMBRAPA Semiárido**, Petrolina-PE, ed. 2, 2001.

TAVARES, S. C. C de H.; COSTA, V. S. de O.; COSTA, T. A. da S. Manejo do oídio da mangueira (*Oidium mangiferae*) na produção integrada de manga. **Embrapa Semiárido**. Instruções Técnicas, 2005

TEIXEIRA, A. H. de C.; MOURA, M. S. B. de; ANGELOTTI, F. **Cultivo da Mangueira**: Clima. Petrolina-PE: EMBRAPA Semiárido, ed. 2, Versão eletrônica, ago, 2010. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Manga/CultivodaMangueira_2ed/clima.htm>. Acessado em: 18 de dez de 2014.

TERAO, D.; BATISTA, D. da C.; BARBOSA, M. A. G. Integração de estratégias alternativas no controle de doenças pós-colheita de manga na região Semiárida do Brasil. In: **Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE)**, USP-Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP 2013.

TERAO, D.; BENATO, E. A.; BATISTA, D. D. C.; BARBOSA, M. A. G.; VITALI, A. Tratamento hidrotérmico por aspersão com escovação no controle de doenças pós-colheita de manga. In: **Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE)**, Cuiabá: SBF, 2014.

VALENTE, T. C. T. Expressão gênica e atividade de catalase e fenilalanina amônia liase ativadas por indutores de resistência em cafeeiro. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Vegetal), Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras – MG, 2012.

VENTUROSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CONUS, L. A.; PONTIM, B. C. A.; SOUZA, F. R. Inibição do crescimento in vitro de fitopatógenos sob diferentes concentrações de extratos de plantas medicinais. **Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo**, v. 78, n. 1, p. 89-95, 2011.

WELIHINDA, J.; KARUNANAYAKE, E. H.; SHERIFF, M. H. H.; JAYASINGHE, K. S. A. Effect of *Momordica charantia* on the glucose tolerance in maturity onset diabetes. **Journal of ethnopharmacology**, v. 17, n. 3, p. 277-282, 1986.

YAMADA, T.; CASTRO, P. R. de C. Efeitos do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agronômicas. International Plant Nutrition Institute. **Informações Agronômicas**, n. 119, p. 1-32, 2007.

ZAMBOLIM, L.; JUNQUEIRA, N. T. Manejo integrado de doenças da mangueira. p. 377-408, 2004. Disponível em: <http://www.nutricaodeplantas.agr.br/site/ensino/pos/Palestras_William/Livromanga_pdf/12_manejointegradodedoencaomangueira.pdf>. Acessado em: 18 dez 2014.

CAPÍTULO 2

**MANEJO PÓS-COLHEITA DE *Colletotrichum gloeosporioides* EM FRUTOS DE
MANGUEIRA ‘TOMMY ATKINS’**

MAIA, L. D. M. Manejo pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de mangueira ‘Tommy Atkins’. Areia: CCA/UFPB, 2015. (Dissertação de Mestrado em Agronomia) p. 67.

RESUMO

As doenças pós-colheita são os principais fatores que acarretam na inviabilidade da comercialização de frutas. O uso de produtos químicos ainda é o método mais explorado entre os produtos. Alternativas para minimizar o uso e o custo desses produtos tornam-se necessários. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a severidade da antracnose causada por *C. gloeosporioides*, bem como a incidência natural em frutos de manga tratados com *Momordica charantia*, quitosana e acibenzolar-S-metil, assim como avaliar a qualidade pós-colheita dos frutos. As folha de melão-de-são-caetano foram coletadas na cidade de Areia-PB, preparadas no laboratório de fitopatologia, no campus II, da UFPB, e encaminhada para o laboratório de Química de Produtos Naturais, Campus I, UFPB, para extração etanólico. Os tratamentos foram compostos pelo extrato de *M. charantia* nas concentrações de 1000, 1500 e 2000 ppm, quitosana nas concentrações de 1%, 1,5% e 2%, o produto comercial acibenzolar-S-metil (ASM) (0,1 g.L⁻¹), fungicida (Tiabendazol) (4 mL. L⁻¹) e água destilada esterilizada (controle), com quatro repetições e três frutos por repetição. As análises físicas e físico-químicas analisadas foram perda de massa, firmeza, teor de sólidos solúveis totais (SST), determinação do pH, acidez total titulável e a relação SST ATT. Foram realizadas também as avaliações de incidência natural por isolamento e identificação. O uso de quitosana influenciou positivamente na pós-colheita dos frutos, mantendo sua vida útil por período mais prolongado e diminuiu a severidade da antracnose causada por *C. gloeosporioides*, em relação aos demais tratamentos.

Palavras chaves: *Mangifera indica* L., antracnose, qualidade pós-colheita

MAIA, L. D. M. Management post-harvest to *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose in mango fruits 'Tommy Atkins'. Areia: CCA/UFPB, 2015. (Thesis: Master in Agronomy), p. 67.

ABSTRACT

Post-harvest diseases are the main factors that causes the impossibility of marketing of fruit and, the use of chemicals is still the most exploited method between products. Alternatives to minimize the use and the cost of those products are necessary. Therefore, the objective of this study was to evaluate the severity of anthracnose caused by *C. gloeosporioides*, and the natural incidence in mango fruits treated with *Momordica charantia*, chitosan and acibenzolar-S-methyl, as well as to evaluate the postharvest quality of fruit. The leaf of *M. charantia* were collected in Areia-PB, Brazil, prepared in plant pathology lab on Campus II, UFPB, and forwarded to the Natural Products Chemistry Laboratory, Campus I, UFPB for extraction ethanol. The treatments consisted of *M. charantia* extract at concentrations of 1000, 1500 and 2000 ppm chitosan in concentrations of 1%, 1.5% and 2%, the commercial product acibenzolar-S-methyl (ASM) (0.1 g L⁻¹), fungicide (Thiabendazole) (4 mL L⁻¹) and sterile distilled water (control), with four replications and three fruits per replication. The physical and physicochemical analyzes were mass loss, firmness, total soluble solids (TSS), determination of pH, total acidity and TSS/ATT. Were also conducted reviews of natural incidence by isolation and identification of pathogens. The use of chitosan had positive influence in post-harvest, keeping your life for a longer period and decreased the severity of anthracnose caused by *C. gloeosporioides*, compared to other treatments.

Key-words: *Mangifera indica* L., anthracnose, postharvest quality

INTRODUÇÃO

A produção brasileira de fruteiras é representada por apenas 22 espécies, onde essas somaram um total de R\$ 23,2 bilhões no ano de 2013, esse valor representa um acréscimo de 10,2% em relação ao valor apurado no ano de 2012. Dentre todas as cidades produtoras de frutas no Brasil, Petrolina-PE é a maior produtora, com o percentual de 3,9% da produção nacional, sendo a manga é a segunda espécie mais produzida (IBGE, 2013).

A mangueira (*Mangifera indica* L.) é cultivada em todos os estados do nordeste, maior região produtora da fruta no Brasil, com destaque para o Vale do Submédio São Francisco (Ribe Petrolina-PE e Juazeiro-BA) (CORREIA e ARAUJO, 2010). Segundo o IBGE, no ano de 2013, foram produzidas aproximadamente 1.163.000 toneladas de manga no Brasil. Porém cerca de 30 a 40% dessa produção fica como resíduo na cadeia de produção até o consumo, acarretando em perdas significativas para a comercialização brasileira.

Vários fatores interferem na comercialização das frutas, em especial os danos causados por patógenos, que constitui a principal causa de perdas das frutas na fase pós-colheita. O Brasil possui baixas, na produção agrícola, que chegam a 35% do total produzido. Dentre os motivos que acarretam essas perdas, as doenças pós-colheita geram toneladas de frutos desperdiçados. Essas doenças são tratadas a base de produtos químicos, que em quase todos os casos, não utilizam esses produtos de forma correta (SOUZA, 2013).

A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz é umas das doenças que mais se destacam no cultivo da mangueira, infectando todos os órgãos da planta, tendo papel fundamental na pós-colheita, onde seu ataque causa manchas na casca podendo chegar a polpa da fruta, reduzindo a qualidade do fruto e inviabilizando a comercialização (LIMA, 2013). O controle da doença na mangueira tem sido realizado principalmente por tratamento químico, que, quando utilizado de forma correta pode ser extremamente eficaz, mas infelizmente o uso inadequado desses produtos acarreta vários problemas, como a possibilidade de resíduos nos frutos, a seleção de isolados resistentes ao produto devido ao uso contínuo do mesmo, entre outros problemas (LEMOS et al., 2013). Devido ao fato, faz-se necessária a busca por formas alternativas de controle de doenças na pós-colheita de manga.

Dentre as alternativas viáveis, a quitosana, polissacarídeo obtido a partir da desacetilação da quitina, vem sendo amplamente estudado no manejo de doenças, tendo seu uso cada vez mais explorado (FREDDO et al., 2014). O uso de extratos vegetais tem trazido bons resultados na indução de resistência de frutos na pós colheita. O uso do extrato de melão de são caetano (*M. charantia*) é capaz de ativar mecanismos de defesas em outras plantas, bem como agir de forma direta nos patógenos (CELOTO et al., 2008).

Através de mecanismos de defesa a planta tem a capacidade natural de combater o ataque de patógenos. A indução de resistência, como é chamado esse processo, pode ser ativado de diferentes formas, através de compostos chamados de elicidores, que podem ser exógenos, quando partem de origem externa da planta, e podem ser endógenos, quando a própria planta já os possui. (FREDDO, 2012). As plantas medicinais possuem ampla carga de compostos que as tornam plantas ideias para a ativação dos mecanismos de defesa das plantas.

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar a severidade da antracnose causada por *C. gloeosporioides*, bem como a incidência natural em frutos de manga tratados com melão-de-são-caetano e quitosana, assim como avaliar a qualidade pós-colheita dos frutos.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e obtenção do extrato de folhas de *Momordica charantia* L.

As folhas para obtenção dos extratos de *M. charantia* L. foram coletadas de plantas nativas do município de Areia, PB, Latitude: 06° 57' 48" S e Longitude: 35° 41' 30" W. Após a coleta, as folhas foram acondicionadas em sacos de papel e transportadas para o Laboratório de Fitopatologia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, onde foram postos para secagem em estufa à temperatura constante de 40 °C até a obtenção de peso contínuo (\approx 72h). Posteriormente foram trituradas em moinho de faca e armazenado em sacos de polietileno à temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 5$).

Os triturados foram levados para o Laboratório de Química de Produtos Naturais - LQPN, da Universidade Federal da Paraíba, Campus I, João Pessoa, PB, onde foram colocados em recipientes de 5L e contendo etanol absoluto, sendo realizadas agitações durante 72 horas. Após a extração, o líquido extraído foi transferido para um evaporador

rotativo para retirada do solvente, a uma temperatura de 40 °C. O extrato bruto etanólico foi transferido para recipientes de vidro abertos para completa eliminação do solvente.

Preparação da Quitosana em ácido acético à 1%

Para o preparo da solução de quitosana utilizou-se quitosana Sigma-Aldrich® de médio peso molecular com desacetilação de 75-85%. Foram preparadas as dosagens de 1%, 1,5% e 2%, cada concentração foi diluída em uma solução de ácido acético a 1% em água destilada autoclavada e posterior agitação constante em batedeira durante 2 horas, até a obtenção de uma solução homogênea.

Obtenção de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de mangueira

Os isolados de *C. gloeosporioides* foram obtidos a partir do isolamento de fragmentos de frutos com sintomas típicos da doença. Esses fragmentos foram isolados em placas de Petri contendo meio BDA (Batata Dextrose e Ágar) e incubados em BOD a uma temperatura de 25 °C em foto período de 12 horas. A etiologia do fungo foi confirmada com auxílio de microscopia ótica e literatura especializada (ROSSMAN et al., 1987; KIMATI et al., 1997; FISHER; COOK, 2001).

Obtenção frutos de mangueira e tratamentos utilizados

Os frutos foram obtidos no Centro Estadual de Abastecimento Sociedade Anônima - PB (CEASA-PB) - Empresa Paraibana de Abastecimento e Serviços Agrícolas - Campina Grande (EMPASA), de acordo com a escala de maturação para mangas, no estádio 3, estádio em que os frutos são colhidos para comercialização (ASSIS, 2010). Os frutos adquiridos foram colhidos 24 horas antes na cidade de Petrolina-PE, Latitude: 09° 23' 55" S e Longitude: 40° 30' 03" W, na região de produção Vale do Submédio São Francisco. Após a obtenção, os frutos foram conduzidos ao Laboratório de Fitopatologia, do CCA/UFPB, Areia-PB, onde foram lavados com água, sabão e hipoclorito de sódio a 1% e separados para os três experimentos a serem realizados: incidência natural, avaliação após inoculação do patógeno e avaliação pós-colheita.

Os tratamentos utilizados foram aplicados da mesma em todos os frutos. Esses foram mergulhados em soluções contendo os tratamentos por 5 minutos. Foram utilizados extrato de melão-de-são-caetano nas concentrações 1000, 1500 e 2000 ppm, quitosana (Chitosan Aldrich®) nas concentrações de 1%, 1,5% e 2%, acibenzolar-S-metil (Bion®) (0,1 g.L⁻¹), fungicida tiabendazol (Tecto® SC) (4 mL. L⁻¹), ADE (água destilada

esterilizada). O delineamento para todos os experimentos foi inteiramente casualizado com 9 tratamentos, 4 repetições, sendo 3 frutos por repetição.

Análise pós-colheita de frutos de manga ‘Tommy Atkins’ tratados com extrato vegetal de melão-de-são-caetano, quitosana, acibenzolar-S-metil e fungicida

As análises físicas e físico-químicas realizadas foram perda de massa (g), obtida por uma balança semi-analítica ao longo do experimento, onde foi realizada a análise estatística no último dia de avaliação; firmeza, onde foi medida por meio da resistência à penetração usando penetrômetro (Fruit Hardness Tester 5000g modelo FR-5105), em regiões equatoriais (três determinações por fruto) da superfície do fruto com casca e os dados transformados para Newtons; teor de sólidos solúveis totais, determinado com o auxílio de um refratômetro digital, Milwaukee MA871 Digital Brix/Sugar; determinação do pH por potenciometria em eletrodo de vidro, pHmetro de bancada Kasvi, modelo PH 0-14; acidez total titulável, determinada por titulação da amostra com solução de NaOH a 0,1N, expressa em porcentagem de ácido cítrico.

Os dados foram analisados no programa estatístico SISVAR[®] utilizando o teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Incidência natural de manga tratadas com extrato vegetal de melão-de-são-caetano, quitosana, acibenzolar-S-metil e fungicida

Para o experimento de incidência natural, os frutos de mangueira, após a lavagem e desinfestação, foram tratados com os respectivos tratamentos e incubados em câmara úmida composta pelo envolvimento dos frutos em sacos de polietileno contendo chumaços de algodão hidrófilo umedecido com ADE por 24 horas. Os frutos foram deixados em temperatura ambiente para a verificação da incidência natural nos frutos.

Os frutos com a presença de sintomas da doença foram novamente lavados com água e sabão e em seguida, desinfestados com álcool 50%, hipoclorito de sódio à 1% por um minuto cada e duas lavagens em ADE e foram acondicionados em papel filtro para secagem a temperatura ambiente, eles foram incubados em placas de Petri contendo BDA fragmentos das áreas lesionadas com sintomas de doenças. Em cada placa foram dispostos três fragmentos de aproximadamente 1,0 cm em posição equidistante. Após o isolamento as placas foram incubadas em B.O.D. à 25 °C com fotoperíodo de 12h, durante 9 dias. A etiologia do fungo foi confirmada com auxílio de microscopia ótica e literatura especializada (ROSSMAN et al., 1987; KIMATI et al., 1997; FISHER; COOK, 2001).

Severidade de antracnose em frutos de mangueira tratados com extrato vegetal de melão-de-são-caetano, quitosana, acibenzolar-S-metil e fungicida

Para o experimento da severidade da antracnose, os frutos após serem desinfestados, foram tratados e incubados em câmara úmida, conforme anteriormente descrito. Após 24 horas a câmara úmida foi retirada e realizada a inoculação dos fungos.

As inoculações foram realizadas de forma direta, onde o fruto foi perfurado com um perfurador flambado em dois pontos equidistantes (lesão 1 no ápice do fruto, lesão 2 na região basal do fruto) com profundidade de 2 mm, colocando-se, em seguida, os discos de colônia de *C. gloeosporioides* inoculado anteriormente e incubados em câmara úmida por 24 horas.

Os frutos foram mantidos em temperatura ambiente para a avaliação da severidade da doença, na qual os sintomas foram mensurados com o auxílio de um paquímetro digital, em dois sentidos opostos. As avaliações iniciaram 48 horas após a retirada da câmara úmida, prosseguindo-se diariamente até que a maioria dos frutos estivesse totalmente tomados pelas lesões.

Os dados foram analisados no programa estatístico SISVAR[®] utilizando o teste de Sckott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Qualidade pós-colheita

Nas avaliações de perda de massa os frutos tratados com extrato vegetal de melão-de-são-caetano (E.M.S.C), quitosana, acibenzolar-S-metil e fungicida, foram analisados desde as primeiras 24 horas após a coleta e passados cinco dias de prateleira.

Ao analisar a perda de massa dos frutos, observou-se que as três concentrações de quitosana influenciaram positivamente apresentando os menores percentuais de perda de massa nos frutos, 3,12%, 3,24% e 3,09% para frutos tratados com quitosana 1%, 1,5%, e 2%, respectivamente, diferindo do restante dos tratamentos (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Souza et al. (2011), onde utilizando quitosana para verificar a influência na vida pós-colheita de frutos de manga colhidas “de vez”, observaram que os frutos tratados com concentração de quitosana a 1% obtiveram uma

perda de massa acumulada de 3,28%. Frutos não tratados perderam 3,8% de sua massa total ao longo de 9 dias.

Tabela 1. Porcentagem de perda de massa acumulada de frutos de manga ‘Tommy Atkins’ tratados com extrato de melão-de-são-caetano (EMSC), quitosana, indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM) e fungicida (Tiabendazol) durante 5 dias de armazenamento

Tratamentos	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5
EMSC 1000 ppm	0,46	1,45	2,32	3,05	3,73 b
EMSC 1500 ppm	0,51	1,64	2,35	3,80	4,50 b
EMSC 2000 ppm	0,68	1,45	2,16	2,90	3,64 b
Quitosana 1%	0,63	1,25	1,89	2,59	3,13 a
Quitosana 1,5%	0,53	1,29	2,03	2,73	3,25 a
Quitosana 2%	0,55	1,36	2,00	2,61	3,09 a
ASM	0,86	1,61	2,39	3,25	3,86 b
Fungicida (Tiabendazol)	0,45	1,52	2,31	2,92	3,50 b
Controle (ADE)	0,66	1,36	2,12	2,96	3,62 b
CV (%)					28,98

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade

O tratamento EMSC 1500 ppm, foi o que mais apresentou perda acumulada de massa, totalizando 4,50% no 5º dia, seguindo pelo acibenzolar-S-metil (ASM) que obteve uma perda de 3,86% de massa fresca (Tabela 1). Souza (2013), tratando frutos de abacaxi ‘Pérola’ com extrato de melão-de-são-caetano e ASM, observou que o uso do extrato vegetal influenciou positivamente na perda de massa acumulada. Ao se comparar frutos de abacaxizeiro tratados com ASM, os percentuais de perda de massa foram maiores em comparação aos demais tratamentos, sendo menor apenas que o tratamento controle com ADE.

O nível de perda de massa em frutos na pós-colheita ocorre, principalmente, pela perda de água, assim, frutos com elevado nível de perda de massa tentam a perder qualidade visual, textura e valor nutritivo. Segundo Chitarra e Chitarra (2005), alguns produtos podem ser comercializáveis com até 10% de perdas, mas o nível onde já ocorre queda na qualidade do produto pode ser verificado na ordem de 3 a 6% de perda de massa.

Assim como na perda de massa as concentrações de quitosana de 1,5 e 2%, demonstraram níveis de firmeza na mesma proporção que os frutos avaliados no momento da coleta, ainda verdes (Tabela 2), porém os mesmos não diferiram do restante dos

tratamentos, exceto o fungicida que obteve uma menor média, sem diferença significativa do tratamento controle. Através da firmeza é possível se avaliar o estádio de maturação do fruto, quanto maior o nível de firmeza, mais verde o fruto será, e quanto menor os níveis de firmeza, maior será a perda da integridade da parede celular, podendo assim dificultar o manuseio do fruto se a mesma estiver com valores reduzidos (PONZO, 2014).

Tabela 2. Avaliação de firmeza (N), pH, sólidos solúveis totais (SST em °Brix), acidez total titulável (ATT em % de ácido cítrico), SST/ATT de frutos de mangueira ‘Tommy Atkins’ no dia da coleta (dia 0) e frutos tratados com extrato de melão-de-são-caetano (EMSC), quitosana, indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM) e fungicida (Tiabendazol)

Tratamentos	Firmeza	pH	SST	ATT	SST/ATT
Coleta (dia 0)	139,17	3,90	8,96	0,75	12,59
EMSC 1000 ppm	58,27 b	4,88 b	15,40 b	0,23 b	86,99 c
EMSC 1500 ppm	59,57 b	4,91 b	14,54 b	0,29 b	70,51 b
EMSC 2000 ppm	69,50 b	4,56 b	13,68 b	0,41 b	50,24 b
Quitosana 1%	83,16 a	4,08 a	11,74 a	0,83 a	16,47 a
Quitosana 1,5%	106,22 a	4,06 a	10,40 a	0,67 a	16,68 a
Quitosana 2%	107,66 a	4,16 a	10,06 a	0,60 a	17,15 a
ASM	60,53 b	4,78 b	14,65 b	0,36 b	56,19 b
Fungicida (Tiabendazol)	49,01 b	5,08 b	16,39 b	0,20 b	94,19 c
Controle (ADE)	65,50 b	5,01 b	14,15 b	0,32 b	86,10 c
CV (%)	36,86	9,38	12,29	39,57	61,24

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade

O pH dos frutos tratados com EMSC, ASM e o fungicida não apresentaram diferenças estatísticas dos frutos sem tratamento (controle), já os frutos tratados com quitosana, em todas as concentrações, apresentaram níveis de pH semelhantes aos frutos recém coletados (Tabela 2). Quanto maior o nível de pH mais avançada é a maturação do fruto, já que o mesmo está diretamente relacionado com o decréscimo da acidez no fruto, e quanto menor a acidez mais avançada será a maturação do fruto, assim o pH é um parâmetro necessário para a conservação dos frutos (SANTOS, 2006; VENCESLAU, 2013).

O maior resultado de sólidos solúveis totais (SST) (°Brix) foi observado nos frutos tratados com fungicida 16,39 °Brix, sem diferir dos demais tratamentos, exceto para os frutos tratados com quitosana, a concentração de 2000 ppm de EMSC. Os frutos tratados

com quitosana apresentaram níveis de SST aproximados com os frutos recém coletados (dia 0). Pode-se verificar que a quitosana interferiu no metabolismo dos frutos, mantendo os níveis de sólidos solúveis mais baixos (Tabela 2). Silva et al. (2009), avaliando as características físicas e químicas de 15 variedades de manga em Minas Gerais, observaram que frutos de manga 'Tommy Atkins', sem tratamentos, possuíam o °Brix de 14,7. Com o teor de sólidos solúveis totais é possível verificar a quantidade de açúcares presente nos frutos, os níveis de SST tentem a aumentar com o avanço da maturação, pela degradação ou biossíntese dos polissacarídeos.

A acidez titulável dos frutos tratados com quitosana, em todas as concentrações, apresentaram os maiores resultados com 0,83, 0,67 e 0,60%, para os tratamentos quitosana a 1%, 1,5% e 2%, respectivamente. Os frutos tratados com fungicida e com EMSC 1000 ppm obtiveram os menores valores de acidez titulável de 0,20 e 0,23%, respectivamente (Tabela 2). A acidez titulável é dada pela presença de ácidos orgânicos, neste caso o ácido cítrico. Ao longo do amadurecimento do fruto os níveis dos ácidos tendem a diminuir e os níveis de sólidos solúveis tendem a aumentar. Souza et al. (2011), verificando aplicação de revestimento a base de quitosana, observou que frutos de manga não revestidos obtiveram uma redução progressiva nos teores de acidez titulável, diferindo dos frutos com revestimento de quitosana, onde a redução dos ácidos foi desacelerada.

Os menores valores de SST/ATT foram obtidos pelos tratamentos com quitosana, em todas as concentrações, 16,47, 16,68 e 17,15, para 1%, 1,5% e 2%, respectivamente. A relação de SST/ATT mostrou que os frutos tratados com quitosana apresentaram desaceleração do metabolismo, já que os mesmos não diferiram dos frutos recém coletados (dia 0), ainda verdes. Com isso pode se observar que a quitosana retardou o amadurecimento dos frutos, mantendo-os com características de frutos verdes ao longo do armazenamento. Já os frutos tratados com os demais tratamentos não diferiram do tratamento controle (ADE). Essa relação de SST/ATT é um indicativo do sabor do fruto, já que está relacionado com os níveis de açúcares e dos ácidos da fruta. Assim durante o amadurecimento os valores dessa relação tentem a aumentar (PINTO et al., 2003; CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Ocorrência de patógenos causadores de doenças pós-colheita em manga sob infecção natural

Os fungos encontrados nos frutos de manga tratados e submetidos à infecção natural foram *Aspergillus* spp., *C. gloeosporioides*, *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp. Dentre eles os do gênero *Aspergillus* spp., foi encontrado em todos os tratamentos, exceto no tratamento com ASM, no qual ocorreu a menor incidência de fungos (Figura 1). O EMSC 1000 ppm foi o tratamento com a maior ocorrência do patógeno, onde 50% das lesões, das quais foram realizados os isolamentos apresentaram o patógeno. Segundo Filgueiras (2000), a doença conhecida como podridão café da mangueira é causada por *Aspergillus* spp., porém o mesmo é patógeno considerado secundário por ser um oportunista, que penetra através de ferimentos já estabelecidos.

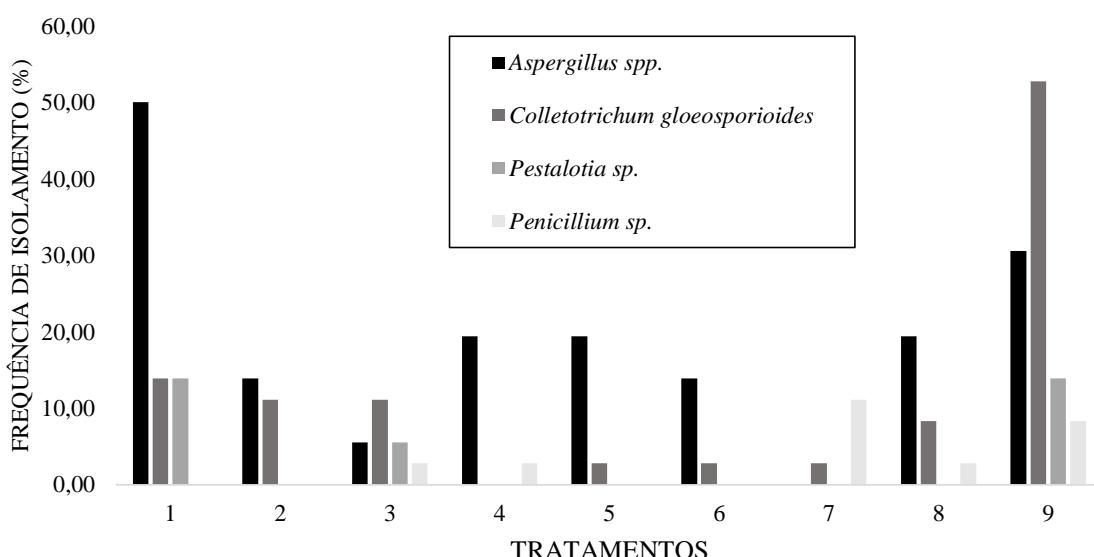


Figura 1. Incidência de fungos isolados de frutos possíveis causadores de doenças pós-colheita em frutos de manga ‘Tommy Atkins’ tratados com extrato de melão-de-são-caetano (EMSC) a 1000 ppm (1), 1500 ppm (2), 2000 ppm (3), quitosana a 1% (4), 1,5% (5), 2% (6), indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM) (7), fungicida (Tiabendazol) (8) e controle (ADE) (9), durante 5 dias de armazenamento

Assim como o patógeno *Aspergillus* spp., o fungo *C. gloeosporioides* foi observado nos frutos de mangueira submetidos a todos os tratamentos, exceto com quitosana a 1%. Todos os tratamentos apresentaram percentuais de incidência do *C. gloeosporioides* menores que o apresentado pelo tratamento controle, com 52,78% de

incidência (Figura 1). O fungo *C. gloeosporioides* é o causador da doença antracnose, que é a de maior importância em todo mundo e infecta todas as partes da planta (BATISTA, 2010). Lemos (2013) testando produtos alternativos ao controle químico da antracnose na pós-colheita de mangas ‘Ubá’, verificou que entre os frutos tratados com Prochloraz, quitosana, óleo de alho (*Allium sativum* L.) e óleo de amêndoas (*Prunus dulcis* Mill.), a quitosana obteve o menor percentual de frutos colonizados.

O fungo *Pestalotia* sp. é um dos patógenos causadores de podridões pedunculares no fruto de manga. Os tratamentos que apresentaram o mesmo foram EMSC 1000 ppm (1) com 13,89%, o EMSC 2000 ppm (3) com 5,56% e o controle (9) com 13,89%. A podridão causada pelo *Pestalotia* se inicia no ápice do fruto, que adquire uma coloração marrom no início da contaminação, posteriormente essa coloração muda para um preto-oliváceo (KIMATI et al., 1997).

O gênero *Penicillium* sp. foi isolado em 5 dos 9 tratamentos, EMSC 2000 ppm, quitosana 1%, ASM, fungicida e controle, com a maior incidência em frutos tratados com ASM, onde 11,11% o patógeno estava presente. As duas menores concentrações de EMSC e as maiores concentrações de quitosana evitaram a incidência do patógenos. O fungo está diretamente envolvido nas podridões pedunculares em mangas, sendo um patógeno de importância secundária (KIMATI et al., 1997; FISCHER et al., 2009).

A inibição de alguns patógenos causadores de doenças na pós-colheita, pode ser uma grande alternativa para minimizar as perdas de frutos durante o tempo de armazenamento, já que as maiores perdas ocorrem devido a infecção.

Severidade de antracnose em frutos de mangueira tratados com extrato vegetal, quitosana, indutor de resistência e fungicida

No primeiro dia de avaliação da severidade de *C. gloeosporioides* inoculados em frutos de mangueira ‘Tommy Atkins’ foi possível verificar que todos os tratamentos retardaram a infecção inicial do patógeno, uma vez que o tratamento controle já apresentava uma média de 7,34 mm de diâmetro da lesão (Tabela 3). No segundo dia, os frutos tratados com quitosana em todas as concentrações, o fungicida e a menor concentração de EMSC ainda não apresentaram desenvolvimento das lesões.

Tabela 3. Avaliação da severidade, com auxílio de um paquímetro, de *Colletotrichum gloeosporioides* inoculado artificialmente na região próximo ao pedúnculo em frutos de mangueira ‘Tommy Atkins’ tratados com extrato de melão-de-são-caetano (EMSC), quitosana, indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM) e fungicida (Tiabendazol), durante 8 dias de armazenamento

Tratamentos	Dia 1*	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7
EMSC 1000 ppm	6,00 a	7,29 a	9,83 a	21,64 b	38,22 c	54,54 b	81,60 c
EMSC 1500 ppm	6,00 a	9,33 b	13,40 b	37,89 c	66,08 d	91,88 c	109,21 d
EMSC 2000 ppm	6,20 a	8,55 b	13,03 b	32,06 c	56,20 d	78,06 c	113,71 d
Quitosana 1%	6,00 a	6,00 a	6,28 a	6,82 a	8,88 a	11,89 a	16,19 a
Quitosana 1,5%	6,00 a	6,00 a	6,12 a	6,72 a	9,44 a	14,05 a	30,95 a
Quitosana 2%	6,00 a	6,00 a	6,00 a	6,00 a	6,47 a	11,31 a	16,03 a
ASM	6,00 a	10,69 b	17,64 b	37,77 c	53,86 d	67,38 b	84,12 c
Fungicida (Tiabendazol)	6,00 a	6,58 a	8,59 a	17,65 b	29,95 b	43,35 b	56,12 b
Controle (ADE)	7,34 b	10,45 b	15,87 b	31,23 c	48,02 c	55,39 b	77,86 c
CV (%)	16,00	39,68	61,01	59,98	55,37	46,95	48,40

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade

*Dias após a inoculação

O 3º dia de avaliação apresentou desenvolvimento da lesão similar ao 2º dia. No 4º dia os tratamentos com quitosana, em todas as concentrações, apresentaram as menores médias entre os tratamentos, sendo que os frutos tratados com quitosana a 2% não permitiu o desenvolvimento do patógeno. Os tratamentos com EMSC 1500 ppm e 2000 ppm e o tratamento com ASM, apresentaram as maiores médias de diâmetro da lesão, 37,89 mm, 32,06 mm e 37,77 mm, respectivamente (Tabela 3). Os resultados obtidos diferem dos de Souza (2013), em que testando extratos de melão-de-são-caetano em frutos de abacaxizeiro ‘Pérola’ contra *Chalara paradoxa*, obteve uma redução na severidade da doença, assemelhando-se aos tratamentos convencionais da cultura.

O comportamento no 5º, 6º, e 7º dia de avaliação seguiram o mesmo progresso, onde ao 7º dia os frutos tratados com quitosana apresentaram as menores médias de severidade, reduzindo significativamente o avanço da doença. O fungicida retardou o avanço se comparado com o tratamento controle, já os tratamentos de EMSC em todas as concentrações e o ASM apresentaram as maiores médias. Pode constatar que houve um estímulo dos patógenos por esses tratamentos. (Tabela 3). Canaver e Di Piero (2011), avaliando o efeito preventivo da imersão de frutos de macieira (*Malus domestica* Borkh) cv. Fuji em suspensões de quitosana verificaram que quanto maior o aumento nas concentrações de quitosana maior foi a eficiência de controle do mofo azul na pós-colheita das maças.

Avaliando o desenvolvimento das doenças na região basal do fruto, nas concentrações de quitosana utilizadas, apenas no 3º dia após a inoculação foi observado o desenvolvimento de lesões (Tabela 4). As maiores médias de severidade no 7º dia, foram observadas no tratamento EMSC 2000 ppm, sendo superior aos frutos sem tratamento (controle). Os tratamentos convencionais com fungicida e o indutor ASM, obtiveram médias superior aos tratados com quitosana.

Tabela 4 Avaliação da severidade, com auxílio de um paquímetro, de *Colletotrichum gloeosporioides* inoculado artificialmente na região basal de frutos de manga ‘Tommy Atkins’ tratados com extrato de melão-de-são-caetano (EMSC), quitosana, indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM) e fungicida (Tiabendazol), durante 8 dias de armazenamento

Tratamentos	Dia 1*	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7
EMSC 1000 ppm	6,48 a	6,99 a	9,26 b	18,51 b	34,45 b	48,20 b	72,61 b
EMSC 1500 ppm	6,18 a	6,90 a	9,60 b	19,76 b	36,45 b	63,72 b	87,69 b
EMSC 2000 ppm	6,00 a	6,00 a	8,62 b	22,26 b	39,61 b	57,50 b	113,91 c
Quitosana 1%	6,00 a	6,00 a	6,18 a	7,39 a	9,30 a	12,53 a	16,53 a
Quitosana 1,5%	6,00 a	6,00 a	7,49 a	12,04 a	14,78 a	20,57 a	21,28 a
Quitosana 2%	6,00 a	6,00 a	6,17 a	8,35 a	12,56 a	14,45 a	17,67 a
ASM	6,00 a	6,40 a	10,89 b	16,39 b	33,00 b	45,51 b	58,83 b
Fungicida (Tiabendazol)	6,00 a	6,18 a	7,74 a	13,23 a	20,50 a	40,46 b	66,45 b
Controle (ADE)	6,60 a	8,43 a	12,12 b	21,18 b	42,12 d	56,70 b	77,02 b
CV (%)	13,21	34,69	52,42	68,64	55,92	56,76	52,20

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade

*Dias após a inoculação

Negreiros et al. (2013), avaliando produtos alternativos aos agrotóxicos convencionais no controle da antracnose em pós-colheita de bananas (*Musa* spp.) cv. ‘Prata’, observou que óleo de alho e quitosana reduziram a intensidade da doença e a qualidade dos frutos que não foram depreciados com a aplicação dos tratamentos. Di Piero e Garda (2008), testando quitosana para o controle de antracnose em feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), verificaram que a quitosana apresentou propriedades antifúngicas contra o *C. lindemuthianum*, reduzindo em torno de 70% da severidade, além de induzir a resistência ao fitopatógeno. Segundo os mesmos autores, além da ação de ativação de mecanismos de defesa que a quitosana propicia nos vegetais, ela ainda pode interferir, através de altas massa moleculares e cargas positivas, nos resíduos carregados negativamente das macromoléculas expostas sobre a superfície dos fungos, e assim alterar a permeabilidade da membrana plasmática.

Observando o primeiro dia após a inoculação da área basal, os frutos tratados com EMSC a 1000 ppm e 1500 ppm, já apresentavam evolução da doença (Tabela 4). Ao longo do tempo de armazenamento os frutos tratados com extratos vegetais apresentaram uma agressiva evolução da doença, chegando ao diâmetro de 113,91 no sétimo dia nos frutos tratado com EMSC 2000 ppm. Diferindo de Lins et al. (2012), onde utilizando extratos aquosos de alho (*Allium sativum L.*), melão-de-são-caetano e casca de manga, contra podridão peduncular em mangueira (*Lasiodiplodia theobromae*), verificaram que extrato de melão-de-são-caetano e da casca da manga, apresentaram potencial controle a doença. Celoto et al. (2011), avaliando o efeito de extratos de melão-de-são-caetano contra a antracnose da bananeira, observaram que o extrato vegetal reduziu 70% o diâmetro da lesão.

CONCLUSÕES

A quitosana diminuiu a severidade da antracnose em frutos de mangueira Tommy Atkins, causada pelo patógeno *Colletotrichum gloeosporioides*.

A quitosana e o acibenzolar-S-metil, conferiram uma menor incidência de fungos em frutos de mangueira Tommy Atkins, assim como conservaram a aparência dos frutos no período de armazenamento.

O uso de quitosana influenciou positivamente na qualidade pós-colheita dos frutos de manga, mantendo sua vida útil por período mais prolongado e influenciou positivamente na perda de massa acumulada dos frutos.

REFERÊNCIAS

- ASSIS, J. S. de. Cultivo da mangueira. Sistemas de Produção - 2^a edição, **EMBRAPA Semiárido**, Versão Eletrônica Ago 2010. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Manga/CultivodaMangueira_2ed/colheita.htm>. Acesso em: 29 de set de 2014.
- BATISTA, D. da C. **Cultivo da Mangueira: Doenças**. Petrolina-PE: EMBRAPA Semiárido, ed. 2, Versão eletrônica, ago, 2010. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Manga/CultivodaMangueira_2ed/doencas.htm>. Acessado em: 18 de dez de 2014.
- CANAVER, B. S.; DI PIERO, R. M. Quitosana e adjuvantes para o controle preventivo do mofo azul da macieira. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 6, p. 419-423, 2011.
- CELOTO, M. I. B.; PAPA, M. de F. S.; SACRAMENTO, L. V. S. do; CELOTO, F. J. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá-PR, v. 30, n. 1, p. 1-5, 2008.
- CELOTO, M. I. B.; PAPA, M. de F. S.; SACRAMENTO, L. V. S. do; Celoto, F. J. Atividade antifúngica de extratos de *Momordica charantia* L. sobre *Colletotrichum musae*. **Revista Brasileira Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 13, n. 3, p. 337-341, 2011.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças**: fisiologia e manuseio. Lavras: UFLA, p. 785, 2005.
- CORREIA, R. C.; ARAUJO, J. L. P. **Cultivo da mangueira: Mercado**. Embrapa Semiárido, Petrolina-PE, ed. 2, 2010. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Manga/CultivodaMangueira_2ed/mercado.htm>. Acessado em: 05 de jan de 2015.
- DI PIERO, R. M.; GARDA, M. V. Quitosana reduz a severidade da antracnose e aumenta a atividade de glucanase em feijoeiro-comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 9, p. 1121-1128, 2008.
- FILGUEIRAS, H. A. C. Colheita e manuseio pós-colheita. In: FILGUEIRAS, H. A. C (Organizador). **Frutas do Brasil**: manga, pós-colheita. Embrapa Brasília, p. 22-37, 2000.
- FISCHER, I. H.; ARRUDA, M. C. D.; ALMEIDA, A. M. D.; GALLI, J. A.; BERTANI, R. M. D. A.; JERÔNIMO, E. M. Doenças pós-colheita em variedades de manga cultivadas em Pindorama, São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 2, p. 352-359, 2009.
- FISHER, F.; COOK, N.B. Micologia: Fundamentos e Diagnóstico. (Tradução), Rio de Janeiro: Revinter, p. 337, 2001.
- FREDDO, A. R. **Quitosana in vitro e no tratamento de sementes de eucalipto e acácia-negra no controle de *Rhizoctonia solani* e no desenvolvimento inicial das plântulas**. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco-PR, 2012.

FREDDO, Á. R.; MAZARO, S. M.; BRUN, E. J.; JÚNIOR, A.W. A quitosana como fungistático no crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* Kuhn. **Ciência Rural**, v. 44, n. 1, p. 1-4, 2014.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção agrícola municipal**. Rio de Janeiro, v. 40, p.1-102, 2013.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds.) **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. ed. 3. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, 1997.

LEMOS, L. M. C.; COUTINHO, P. H.; SALOMÃO, L. C. C.; SIQUEIRA, D. L. de; CECON, P. R. Controle da antracnose na pós-colheita de manga ‘ubá’ com o uso de produtos alternativos. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 35, n. 4, p. 962-970, 2013.

LIMA, N. B. **Etiologia e epidemiologia das espécies de *Colletotrichum* relacionadas com a antracnose em frutos de mangueira no Nordeste brasileiro**. Tese (Doutorado em Fitopatologia), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife – PE, 2013.

LINS, S., R. de O.; OLIVEIRA, S. M. DE; XAVIER, H. S.; RANDAU, K. P. Prospecção fitoquímica de extratos de plantas e controle da podridão peduncular em manga. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 7, n. 1, p. 97-103, 2012.

NEGREIROS, R. J. Z. de; SALOMÃO, L. C. C.; PEREIRA, O. L.; CECON, P. R.; SIQUEIRA, D. L. de. Controle da antracnose na pós-colheita de bananas ‘prata’ com produtos alternativos aos agrotóxicos convencionais. **Revista Brasileira de Fruticultura**. vol.35, n. 1, 2013.

PINTO, W. D. S.; DANTAS, A. C. V. L.; FONSECA, A. A. O.; SILVA, C. A. da; JESUS, S. C. D.; CALAFANGE, P. L. P.; ANDRADE, E. M. Caracterização física, físico-química e química de frutos de genótipos de cajazeiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1059-1066, 2003.

PONZO, F. S. **Tratamento térmico, etanol, quitosana e 1-metilciclopropeno no controle da antracnose em goiabas ‘kumagai’**. Tese (Doutorado em Agricultura Tropical), Instituto Agronômico, Campinas-SP, 2014.

ROSSMAN, A. Y.; PALM, M. E.; SPIELMAN, L. J. A literature guidefor the identification of plant pathogenic fungi. Saint Paul: APS, p. 252 1987.

SANTOS, A. F. dos. **Desenvolvimento e maturação de abacaxi e processamento mínimo de infrutescências colhidas sob boas práticas agrícolas e tratadas com 1-MCP**. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Federal da Paraíba – UFPB, Areia – PB, p. 224, 2006

SILVA, D. F. P. da; SIQUEIRA, D. L. de; PEREIRA, C. S.; SALOMÃO, L. C. C.; STRUIVING, T. B. Caracterização de frutos de 15 cultivares de mangueira na Zona da Mata mineira. **Revista Ceres**, v. 56, n. 6, p. 783-789, 2009.

SOUZA, M. L. D.; MORGADO, C. M. A.; MARQUES, K. M.; MATTIUZ, C. F. M.; MATTIUZ, B. H. Pós-colheita de mangas' Tommy Atkins' recobertas com quitosana. **Revista Brasileira de Fruticultura**, p. 337-343, 2011.

SOUZA, W. C. O. de. **Comportamento in vitro e controle alternativo da podridão negra (*Chalara paradoxa* L.) em abacaxizeiro cultivar 'perola'**. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal da Paraíba – UFPB, Areia, 2013.

VENCESLAU, W. C. D. **Maturação, conservação e capacidade antioxidante em goiabas 'Paluma'**. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais), Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Programa de Pos Graduação em Sistemas, Pombal-PB, p. 151, 2013.

CAPÍTULO 3

ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM FRUTOS DE MANGUEIRA ‘TOMMY ATKINS’ CONTRA *Colletotrichum gloeosporioides*

MAIA, L. D. M. Atividade enzimática em frutos de mangueira ‘Tommy Atkins’ contra *Colletotrichum gloeosporioides*. Areia: CCA/UFPB, 2015. (Dissertação de Mestrado em Agronomia), p. 67.

RESUMO

O uso de tratamentos químicos para controle da antracnose na pós-colheita de manga causam perdas na exportação da fruta, sendo necessário a busca por alternativas ao uso de tratamentos químicos e, consequentemente, reduzir o dano causado pelo patógeno. A resistência da planta ao patógeno, através de mecanismos de defesa, onde as plantas sintetizam proteínas relacionadas a defesa da mesma, vem sendo amplamente estudada, tornando-se uma alternativa ao controle convencional. Com isso o objetivo deste trabalho foi avaliar as enzimas envolvidas na defesa de plantas, em frutos de mangueira, tratados com extrato de melão-de-são-caetano (*Momordica charantia*), quitosana, ASM e fungicida. As folha de melão-de-são-caetano foram coletadas na cidade de Areia-PB, preparadas no laboratório de fitopatologia, no campus II, da UFPB, e encaminhada para o laboratório de Química de Produtos Naturais, Campus I, UFPB, para extração etanólico. Os tratamentos foram compostos pelo extrato de *M. charantia* nas concentrações de 1000, 1500 e 2000 ppm, quitosana nas concentrações de 1%, 1,5% e 2%, o produto comercial acibenzolar-S-metil (ASM) (0,1 g.L⁻¹), fungicida (Tiabendazol) (4 mL. L⁻¹) e água destilada esterilizada (controle), com quatro repetições e três frutos por repetição. As análises enzimáticas foram realizadas no dia da coleta dos frutos e oito dias após a aplicação dos tratamentos, avaliando-se as enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase. A atividade da peroxidase aumentou em todos os tratamentos, quando comparados com o controle. Apenas os tratamentos com quitosana, em todas as concentrações testadas, como o extrato de *M. charantia* na maior concentração, propiciaram um aumento na atividade da enzima polifenoloxidase. A atividade de fenilalanina amônia-liase só foi estimulada pelo tratamento de quitosana a 2%.

Palavras chaves: *Mangifera indica* L., antracnose, proteínas de defesa

MAIA, L. D. M. Enzymatic activity in mango fruits 'Tommy Atkins' against *Colletotrichum gloeosporioides*. Areia: CCA/UFPB, 2015. (Thesis: Master in Agronomy), p. 67.

ABSTRACT

The use of chemical treatments for control of anthracnose in mango postharvest cause losses in fruit exports, requiring the search for alternatives to the use of chemical treatments and hence reduce the damage caused by the pathogen. The plant resistance to pathogens through defense mechanisms, where the plants synthesize proteins related to defense of it, has been widely studied, becoming an alternative to conventional control. Therefore, the objective of this study was to evaluate the enzymes involved in plant defense in mango fruits treated with extract of *Momordica charantia*, chitosan, ASM and fungicide. The leaf of *M. charantia* were collected in the city of Areia-PB, Brazil, prepared in plant pathology lab on Campus II, UFPB, and forwarded to the Natural Products Chemistry Laboratory, Campus I, UFPB, for extraction ethanol. The treatments consisted of *M. charantia* extract at concentrations of 1000, 1500 and 2000 ppm chitosan in concentrations of 1%, 1.5% and 2%, the commercial product acibenzolar-S-methyl (ASM) (0.1 g L⁻¹), fungicide (Thiabendazole) (4 mL L⁻¹) and sterile distilled water (control), with four replications and three fruits per replication. Enzymatic assays were performed on the day of fruits harvested and of fruits eight days after treatment application, evaluating the peroxidase, polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase. The peroxidase activity increased in all treatments compared with control. Only the treatments with chitosan, in all tested concentrations, such as *M. charantia* extract the highest concentration, results in an increase in PPO activity. Phenylalanine ammonia-lyase activity was not stimulated by treatment of 2% chitosan.

Key words: *Mangifera indica* L., anthracnose, defense proteins

INTRODUÇÃO

A manga (*Mangifera indica* L.) é uma fruta tropical de grande aceitação comercial, sendo a segunda fruta mais exportada no Brasil no ano de 2013, ficando atrás apenas do melão. Nesse mesmo ano foram produzidas 122 mil toneladas da fruta, com uma receita nos negócios com o exterior de 147,5 milhões de dólares (SANTOS et al., 2014). O nordeste brasileiro é a maior região produtora da manga, onde, apresentam alta produção e boa qualidade dos frutos, pois a região possui o clima favorável ao cultivo da mangueira (XAVIER et al., 2009).

A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc, é uma doença encontrada em todas as regiões produtoras da fruta no Brasil. Ela pode atacar várias partes da mangueira como, folhas, ramos, pecíolos, inflorescência e principalmente os frutos, onde causa manchas arredondadas, deprimidas de coloração marrom à preta (VIEIRA, 2012). A doença é um dos maiores problemas fitossanitários da mangueira, especialmente para a exportação de frutas, sendo necessário pulverizações constantes com fungicidas no campo, e ainda, tratamentos na pré e pós-colheita da fruta (PONTES et al., 2011).

O uso de produtos químicos é largamente empregado no controle de doenças, porém o uso exacerbado desses produtos traz danos ao homem e ao meio ambiente, surgindo a necessidade de buscar controle alternativos as doenças (SILVA, 2007; RODRIGUES et al., 2011). Nessa busca por alternativas vêm se intensificando as pesquisas que visam a resistência por parte da planta através de mecanismos de defesa, onde as plantas sintetizam proteínas relacionadas a defesa da planta. Tais proteínas exercem papéis diferenciados na planta, pode agir direta e indiretamente no patógeno causador da doença (PINTO et al., 2011)

A peroxidase é uma das proteínas relacionadas a patogênese (proteínas PR), ela está envolvida em vários mecanismos de defesa celular, seu funcionamento consiste na reação de compostos contendo grupos hidroxila anexado em anéis aromáticos, sendo a reação básica da enzima a oxidação desidrogenativa do guaiacol, que resulta na formação de radicais fenoxi. Essa enzima possui participação direta na lignificação, suberização de ferimentos e metabolismo de parede celular (KUHN, 2007).

A enzima polifenoloxidase (PPO) está diretamente envolvida na oxidação de polifenóis em quinonas no momento da ruptura da célula. Essas quinonas são compostos antimicrobianos, além da produção quinonas a polifenoloxidase, assim como a

peroxidase, participa da significação celular no momento do ataque. Quando a planta apresenta altos níveis de compostos fenólicos no local da infecção, esses compostos restringem ou mesmo retardam o crescimento dos patógenos, agindo de forma direta no local de infecção (LIU et al., 2005).

A fenilalanina amônia-liase (FAL) é uma enzima chave nas rotas de síntese de compostos fenólicos, talvez seja a enzima mais estudada no metabolismo secundário em plantas. A FAL é responsável pela primeira série de produtos naturais, os metabólicos secundários, ela fica localizada no ponto de ramificação entre o metabolismo primário e o metabolismo secundário, sua atividade é aumentada durante vários estresses, mas principalmente durante infecção por fungos, onde com a infecção estimula-se a síntese de compostos fenólicos (TAIS e ZEIGER, 2009; PINTO et al., 2011).

Sendo assim o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade enzimas, peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase em frutos de mangueira (*Mangifera indica* L.), tratadas com extrato de melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.), quitosana, acibenzolar-S-metil e fungicida.

MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos foram obtidos no Centro Estadual de Abastecimento Sociedade Anônima - PB (CEASA-PB) - Empresa Paraibana de Abastecimento e Serviços Agrícolas - Campina Grande (EMPASA), de acordo com a escala de maturação para mangas, no estádio 3, estádio em que os frutos são colhidos para comercialização (ASSIS, 2010). Os frutos foram colhidos 24 horas antes na cidade de Petrolina-PE, Latitude: 09° 23' 55" S e Longitude: 40° 30' 03" W, na região de produção Vale do Submédio São Francisco. Os frutos foram conduzidos ao Laboratório de Fitopatologia, do CCA/UFPB, Areia-PB, foram lavados com água, sabão e hipoclorito de sódio a 1%, aplicando-se os tratamentos em seguida.

Os tratamentos utilizados foram extrato de melão-de-são-caetano nas concentrações 1000, 1500 e 2000 ppm, quitosana (Chitosan Aldrich[®]) nas concentrações de 1%, 1,5% e 2%, acibenzolar-S-metil (Bion[®]) (0,1 g.L⁻¹), fungicida tiabendazol (Tecto[®] SC) (4 mL. L⁻¹), ADE (água destilada esterilizada). O delineamento foi inteiramente casualizado com 9 tratamentos, 4 repetições e 3 frutos por repetição.

As análises enzimáticas foram realizadas no dia da coleta dos frutos e oito dias após a aplicação dos tratamentos, avaliando-se as enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase. A extração do material foi realizada da mesma forma para as 3 enzimas, na qual foram macerados 0,25 g de polpa em 4 mL de acetato de sódio (solução pronta anteriormente) até a obtenção de uma massa homogênea, depositada em tubos Eppendorfs e centrifugados a 12.000 rpm durante 20 minutos a 4°C. O sobrenadante foi utilizado para a determinação da atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina-amônia liase (PAL). Também foi realizada a quantificação das proteínas totais pelo método proposto por Bradford (1976), utilizando Soro Albumina Bovina (BSA) como padrão.

O método Bradford (1976) consiste na detecção e quantificação de proteínas, através do uso de cromassie brilhante blue G – 250 que se liga às proteínas, onde por meio da leitura de absorbância, em 595 nm, determina-se a quantidade de proteína na amostra. Para a preparação pesou-se 100 mg de Cromassie Brilhante Blue G – 250, diluída em 50 mL de etanol a 95%. Em seguida adicionou-se 100 mL de ácido fosfórico a 85% e ADE até completar 1 L. Após a mistura realizou-se a homogeneização e a tríplice filtragem, armazenando em geladeira, estabilizando em 2 horas. Misturou em uma cubeta 1 mL da solução de Bradford e adicionou 100 µl da amostra, homogeneizou e em seguida deixou a amostra com a solução reagindo por 15 minutos, após o término da reação procedeu-se a leitura da amostra com a absorbância de 595 nm em espectrofotômetro.

Para a determinação da atividade de peroxidase (POX), 0,25 mL de extrato enzimático foi adicionado ao meio de reação contendo 0,25 mL de guaiacol (1,7%) e 0,75 mL de tampão fosfato 0,1 M, pH 6,0 e 0,25 mL de H₂O₂ (1,8%), totalizando o volume de 1,5 mL. O branco foi composto do mesmo meio de reação, exceto o extrato enzimático que foi substituído por água. A atividade enzimática foi determinada em espectrofotômetro, pela variação da absorbância, no comprimento de onda de 470 nm, a 25 °C. Imediatamente após a mistura realizou-se a leitura e a atividade expressa em Unidades de Absorbância (UA).min⁻¹.mg⁻¹ de proteína.

A atividade da polifenoloxidase, foi determinada com 0,5 mL de extrato enzimático que foi adicionado ao meio de reação contendo 0,25 mL de S-metil-catecol 0,6 mM e 0,75 mL de tampão fosfato 0,1 M (pH 6,8). O branco foi composto por todos os componentes do meio de reação, exceto o extrato enzimático, que foi substituído por água. As soluções foram incubadas por 15 minutos a 40 °C e paralisada com adição de 0,8 mL de ácido perclórico. As reações foram acompanhadas em espectrofotômetro, pela

variação da absorbância, no comprimento de onda de 395 nm, a 25 °C. A atividade da polifenoloxidase foi expressa em Unidades de Absorbância (UA). $\text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ de proteína.

A atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL) foi avaliada com 0,5 mL do extrato enzimático em tubos de ensaio acrescentando 1,5 mL de solução tampão TRIS (0,01M, pH 8,8), 0,5 mL de solução de fenilalanina (substrato) e 0,5 mL de ADE. O branco, utilizado para zerar o espectrofotômetro, apresentava todos os componentes do meio de reação exceto o extrato enzimático que foi substituído por água. Os tubos foram incubados em banho-maria a 40 °C, durante 60 minutos. Após o período de incubação a reação foi paralisada com a adição de 0,1 mL de ácido clorídrico a 5,0 M. Após a paralisação, as leituras espectrofotométricas foram realizadas a 290 nm, a 25 °C e os resultados foram expressos em Unidades de Absorbância (UA). $\text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ de proteína.

Os dados foram analisados no programa estatístico SISVAR® utilizando o teste Sckott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise enzimática de frutos de mangueira tratados com extrato vegetal de melão-de-são-caetano, quitosana, acibenzolar-S-metil e fungicida

Os tratamentos avaliados apresentaram efeito significativo em relação aos frutos não tratados, com destaque para a produção da enzima peroxidase.

A atividade da enzima peroxidase pode ser verificada em todos os tratamentos, diferindo estatisticamente dos frutos não tratados e dos frutos recém coletados, ainda verdes. As maiores medias foram obtidas pelos tratamentos EMSC 1000 ppm e quitosana a 2%, com valores de $6,0485$ e $5,9976$ (UA. $\text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ de proteína), respectivamente (Tabela 1). Já Felipini e Di Piero (2009), avaliando a aplicação de quitosana no controle pós-colheita de maçã contra *C. acutatum* e atividade de peroxidase, observaram que a aplicação de quitosana independente da inoculação do patógeno não alterou a atividade de peroxidase, em relação aos frutos tratados somente com água.

Tabela 1. Atividade enzimática de Peroxidase, Polifenoloxidase e Fenilalanina amônia-liase ($UA \cdot min^{-1} \cdot mg^{-1}$ de proteína) em frutos de mangueira ‘Tommy Atkins’ no dia da coleta (dia 0) e frutos tratados com extrato de melão-de-são-caetano (EMSC), quitosana, indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM) e fungicida (Tiabendazol), armazenados por 8 dias

Tratamentos	Peroxidase	Polifenoloxidase	Fenilalanina amônia-liase
Coleta (dia 0)	0,8759	0,5964	0,1674
EMSC 1000 ppm	6,0485 a	0,8502 b	0,2297 b
EMSC 1500 ppm	4,7981 a	0,3336 b	0,1545 b
EMSC 2000 ppm	4,6230 a	1,3858 a	0,1057 b
Quitosana 1%	4,2703 a	1,5248 a	0,1846 b
Quitosana 1,5%	4,5001 a	1,1576 a	0,2344 b
Quitosana 2%	5,9976 a	1,4734 a	0,4397 a
ASM	5,2335 a	0,6958 b	0,1341 b
Fungicida (Tiabendazol)	4,3575 a	0,2728 b	0,1201 b
Controle (ADE)	1,8845 b	0,4756 b	0,1520 b
CV (%)	49,66	102,12	60,33

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade

A aplicação de ASM elevou os níveis de peroxidase significativamente nos frutos, sendo uma das maiores médias obtidas dentre os tratamentos, $5,2335$ ($UA \cdot min^{-1} \cdot mg^{-1}$ de proteína). Pan e Liu (2011), estudando a aplicação de ASM na pós-colheita de diferentes variedades de manga, observou um aumento em substâncias de resistências, tais como compostos fenólicos e ligninas, porém ocorreu diferença no nível dependendo da variedade de manga estudada.

Frutos recém colhidos apresentam baixa atividade da enzima peroxidase menor que os frutos com 8 dias de armazenamento sem tratamento, 0,8759 e 1,8845, respectivamente. Sendo assim, frutos recém colhidos possuem baixa atividade de peroxidase que é uma importante enzima no metabolismo da planta, sendo responsável pelo reforço da parede celular e cicatrização de ferimentos, além de participar da defesa contra patógenos.

Diferente da peroxidase, a enzima polifenoloxidase apresentou alta atividade nos tratamentos somente no tratamento à base de quitosana, em todas as concentrações, e no tratamento de EMSC 2000 ppm, ambos diferindo estatisticamente do controle e dos frutos recém colhidos (Tabela 1). O nível de atividade da enzima em frutos tratados com ASM foram baixos, em relação ao controle. Diferindo de Zhu et al. (2008), onde estudando o efeito da aplicação de ASM na pós-colheita de manga contra antracnose e avaliando os

possíveis mecanismos envolvidos na resposta de defesa do fruto, observaram que os frutos tratados com ASM, no oitavo dia após a inoculação do patógeno, apresentaram níveis de polifenoloxidase 85,1% maior que o tratamento controle.

Liu et al. (2005), estudando o efeito de acibenzolar-S-metil (ASM) na indução de resistência na pós-colheita de frutos de pêssego em resposta ao ataque de patógeno, observou que os pêssegos tratados com ASM melhoraram, significativamente, a resistências dos mesmos a doenças pós-colheitas, sugerindo ainda que tratamentos alternativos na pós-colheita prometem ser uma alternativa viável ao uso de fungicidas, tanto em frutas com em legumes.

Quando a atividade de polifenoloxidase, a menor atividade da enzima foi observada nos frutos tratados com fungicidas, sendo menor que o tratamento controle, porém não diferindo estatisticamente do mesmo. O tratamento fungicida possui baixa atividade em todas as enzimas testadas, comparando com os indutores testados, sendo superior que o tratamento controle apenas na atividade da peroxidase. Buso et al. (2014), avaliando a efetividade da quitosana na qualidade da mandioquinha-salsa, verificaram que a aplicação do produto promoveu efeito elicitador de respostas bioquímicas da defesa da mandioquinha-salsa, promovendo um aumento significativo nas atividades da polifenoloxidase e de peroxidase. Resultados semelhantes com os encontrados por Liu et al. (2007), onde tratando tomates com quitosana, conferiu o aumento significativo na atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase, promovendo também ação fungistática contra patógenos.

A enzima polifenoloxidase, assim como a peroxidase, participa no processo de lignificação durante a invasão por patógenos, além de produzir compostos tóxicos e fenóis, que são responsáveis pelo aumento na resistência das plantas contra patógenos. Essa enzima permanece inativa, intracelularmente, até que ocorra um ferimento ou um ataque de patógenos, nesse momento iniciasse o processo de oxidação de compostos fenólicos, liberando-os nas células afetadas (SCHULTZ, 2008).

Quanto atividade de fenilalanina amônia-liase (FAL) todos os tratamentos apresentaram baixas atividades da enzima e apenas o tratamento de quitosana a 2% obteve níveis elevados da produção da fenilalanina amônia-liase, 0,4397 unidade de absorbância $UA \cdot min^{-1} \cdot mg^{-1}$ de proteína, quando comparados com o tratamento controle. Os demais tratamentos não diferiram da testemunha nem dos frutos verdes, recém coletados (dia 0). ROMANAZZI et al. (2002), tratando uvas de mesa com quitosana contra podridão cinzenta da armazenagem, verificando a atividade de fenilalanina amônia-liase,

observaram que os frutos tratados com 1% de quitosana conferiram um aumento 2 vezes maior que frutos não tratados.

Sendo a fenilalanina amônia-liase uma enzima chave, considerada uma das principais no mecanismo de defesa, a alta produção da mesma torna-se um bom indicativo da ativação da resistência do fruto. A produção de compostos fenólicos é derivada da fenilalanina, através da eliminação de uma molécula de amônia para a formação do ácido cinâmico, feita pela enzima FAL (TAIZ e ZEIGER, 2009; PINTO et al., 2011)

A fenilalanina amônia-liase é a primeira enzima presente na produção dos fenilpropanóides, sendo também responsável pela desaminação da *L*-fenilalanina, convertendo-a em ácido *trans*-cinâmico e amônia. Ela difere das peroxidases e polifenoloxidases por atuar em um substrato específico, a fenilalanina (BALDO, 2008).

É possível avaliar a atividade metabólica de frutos mesmo no tratamento pós-colheita, verificando que através de estímulos externos, como os extratos vegetais, quitonasa e o ASM, proteínas relacionadas a patógenos foram produzidas, ativando mecanismos de defesa nos frutos.

CONCLUSÕES

A atividade de peroxidase foi estimulada por todos os tratamentos e concentrações aplicadas nos frutos de mangueira.

A enzima polifenoloxidase apresentou maior atividade nos frutos submetidos ao tratamento com quitosana, em todas as concentrações, e no EMSC 2000 ppm.

A quitosana a 2% conferiu aumento na atividade de fenilalanina amônia-liase, sendo recomendado seu uso na pós-colheita de frutos de mangueira.

REFERÊNCIAS

- ASSIS, J. S. de. Cultivo da mangueira. Sistemas de Produção - 2^a edição, **EMBRAPA Semiárido**, Versão Eletrônica Ago 2010. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Manga/CultivodaMangueira_2ed/colheita.htm>. Acesso em: 29 de set de 2014.
- BALDO, M. **Aspectos histológicos e bioquímicos da indução de resistência em feijoeiro e atividade antifúngica por derivados de *Pycnoporus sanguineus***. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2008.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, 72: 248 - 254. 1976.
- BUSO, E. K. R. P. de M.; CLEMENTE, E.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; ZÁRATE, N. A. H.; OLIVEIRA, J. S. B. Comportamento pós-colheita de mandioquinha-salsa revestida com quitosana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 4, p. 850-855, 2014.
- FELIPINI, R. B.; DI PIERO, R. M. Redução da severidade da podridão-amarga de maçã em pós-colheita pela imersão de frutos em quitosana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 1591-1597, 2009
- KUHN, O. J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade de São Paulo – ESALQ, Piracicaba-SP, 2007.
- LIU, H.; JIANG, W.; BI, Y.; LUO, Y. Postharvest BTH treatment induces resistance of peach (*Prunus persica* L. cv. Jiubao) fruit to infection by *Penicillium expansum* and enhances activity of fruit defense mechanisms. **Postharvest Biology and Technology**, v. 35, n. 3, p. 263-269, 2005.
- LIU, J.; TIAN, S.; MENG, X.; XU, Y. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 44, n. 3, p. 300-306, 2007.
- PAN, Y. G.; LIU, X. H. Effect of benzo-thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester (BTH) treatment on the resistant substance in postharvest mango fruits of different varieties. **Afr. J. Biotechnol**, v. 10, p. 15521-15528, 2011.
- PINTO, M. dos S. T.; RIBEIRO, J. M.; OLIVEIRA, E. A. G. de. O estudo de genes e proteínas de defesa em plantas. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n. 2, 2011.
- PONTES, S. S.; BARBOSA, J. da S.; SILVA, F. M.; SOUZA, W. C. O. de; AMORIM, C. C. de; TERAO, D.; BARBOSA, M. A. G.; BATISTA, D. da C. Quantificação do risco de antracnose em manga na região semiárida. In: **Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso** (ALICE), Petrolina: Embrapa Semiárido, PE, 2011.

RODRIGUES, M. S.; JARDINETTI, V. do A.; SCHWAN-ESTRADA, K. R.; DA SILVA CRUZ, M. E. Efeito do óleo essencial e do hidrolato de Eugenia caryophyllata Thunb. no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em manga. **Encontro internacional de produção científica do Centro Universitário de Maringá - CESUMAR**. Anais Eletrônico, 2011.

ROMANAZZI, G.; NIGRO, F.; IPPOLITO, A.; DIVENERE, D.; SALERNO, M. Effects of Pre-and Postharvest Chitosan Treatments to Control Storage Grey Mold of Table Grapes. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 5, p. 1862-1867, 2002.

SANTOS, C. E. dos; KIST, B. B.; CARVALHO, C. de; REETZ, E. R.; DRUM, M. **Anuário brasileiro da fruticultura**. Santa Cruz do Sul: Gazeta do Sul, p. 136, 2014.

SCHULTZ, S. C. V. **Avaliação da indução de resistência no controle do crescimento bacteriano comum do feijão vagem**. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP, 2008.

SILVA, R. F.; PASCHOLATI, S. F.; BEDENDO, I. P. Indução de resistência em tomateiro por extratos aquosos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 3, p. 189-196, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 819p, 2009.

VIEIRA, W. A. dos S. **Prevalência de isolados de colletotrichum spp. Endofíticos em mangueira**. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia), Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife, PE, p. 68, 2012.

XAVIER, I. F.; LEITE, G. A.; MEDEIROS, E. V. de; MORAES, P. L. D. de; LIMA, L. M de. Qualidade pós-colheita da manga ‘Tommy Atkins’ comercializada em diferentes estabelecimentos comerciais no município de Mossoró-RN. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 4, p. 7-13, 2009.

Zhu, X.; Cao, J.; Wang, Q.; Jiang, W. Postharvest infiltration of BTH reduces infection of mango fruits (*Mangifera indica* L. cv. Tainong) by *Colletotrichum gloeosporioides* and enhances resistance inducing compounds. **Journal of phytopathology**, v. 156, n. 2, p. 68-74, 2008.