



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

DISSERTAÇÃO

**CONTROLE BIOLÓGICO PÓS-COLHEITA DA ANTRACNOSE EM
MARACUJAZEIRO AMARELO (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*)**

ANDREZZA KLYVIA OLIVEIRA DE ARAÚJO

AREIA-PB

JULHO-2015

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

**CONTROLE BIOLÓGICO PÓS-COLHEITA DA ANTRACNOSE EM
MARACUJAZEIRO AMARELO (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*)**

ANDREZZA KLYVIA OLIVEIRA DE ARAÚJO

Sob a Orientação da Professora Dra. Luciana Cordeiro do Nascimento

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração Agricultura Tropical.

AREIA-PB

JULHO-2015

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

A659c *Araújo, Andrezza Klyvia Oliveira de.*

***Controle biológico pós-colheita da antracnose em maracujazeiro amarelo
(Passiflora edulis F. Flavicarpa) / Andrezza Klyvia Oliveira de Araújo. -
Areia: UFPB/CCA, 2015.***

70 f. : il.

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

Bibliografia.

Orientadora: Luciana Cordeiro do Nascimento.

*1. Maracujazeiro amarelo – Doenças 2. Antracnose em maracujazeiro –
Controle biológico 3. Maracujá – Cultura 4. Passiflora edulis I. Nascimento,
Luciana Cordeiro do (Orientadora) II. Título.*

UFPB/CCA

CDU: 634.776.3(043.3)

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

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**CONTROLE BIOLÓGICO PÓS-COLHEITA DA ANTRACNOSE EM
MARACUJAZEIRO AMARELO (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*)**

AUTOR: ANDREZZA KLYVIA OLIVEIRA DE ARAÚJO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE em
AGRONOMIA (Agricultura Tropical) pela Comissão Examinadora:

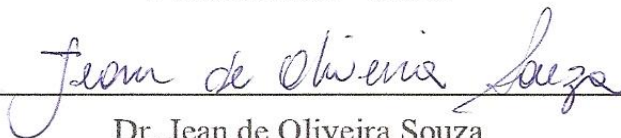
BANCA EXAMINADORA

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



Profa. Dra. Élide Barbosa Corrêa

1º Examinador- UEPB



Dr. Jean de Oliveira Souza

2º Examinador- PNPD/PPGA

"Quando o mundo estiver unido na busca do conhecimento, e não mais lutando por dinheiro e poder, então nossa sociedade poderá enfim evoluir a um novo nível." LeLivros.site

À **Deus**, SENHOR da minha vida. Permita que caminhemos sempre na Sua Verdade;

A minha mãe, **Maria do Carmo Moreira Oliveira de Araújo** pelo amor, força e compreensão sempre ao meu lado;

À Meu Avô, **Francisco Assis de Oliveira** e minha Avó, **Joana Carvalho Moreira** por todos estes anos terem sido meus exemplos de pessoas dignas, honestas e merecedores de todo meu amor para sempre (*in memoriam*);

À minha querida irmã **Aluska Dhinora Oliveira de Araújo Sales**, pelos sorrisos e alegrias incomparáveis, alegrando ainda mais minha caminhada;

Aos meus sobrinhos, **Joanna Beatriz, José Vinício, Alexandre e Rômulo** que pela alegria, pureza e simplicidade, propiciam na minha vida, dias mais felizes e repletos de esperança;

À minha mais nova família (Queiroz) acrescentada por Deus como presente divino, na pessoa de **Jurandir Queiroz de Oliveira**;

Ao meu amado noivo, **Jurandir Queiroz de Oliveira Junior**, raridade de Deus na minha vida, que é como a Jaspe, pedra preciosa que firma os muros do Senhor.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela graça concedida em cada manhã;

À Universidade Federal da Paraíba (UFPB), pelo apoio institucional e ao CNPq, pela concessão da bolsa;

À professora Luciana Cordeiro do Nascimento, pela orientação, disponibilidade, ensinamentos transmitidos;

À professora Lilian Margarete Paes Guimarães pelo apoio e extrema confiança;

À todos os funcionários da Fitossanidade pela colaboração e amizade, em especial a Francisca Maria, José Tomaz, Severino (Nino);

Aos amigos de Graduação: Hilderlane Florencio, José Roberto, Cristiany Vitório;

Aos estagiários, bolsistas, mestres e doutores dos Laboratórios de Fitopatologia: Jean Oliveira, Wilza Carla, Rommel Siqueira, Leonardo Dantas e Rhaysa Vieira pela ajuda que me proporcionaram e principalmente amizade;

À Equipe que compõe o Laboratório de Pós-Colheita do CCA/UFPB, pelo apoio durante a realização das análises de qualidade de frutos;

SUMARIO

CAPÍTULO I	12
Controle biológico pós-colheita da antracnose em frutos de maracujazeiro amarelo (<i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>).....	12
INTRODUÇÃO.....	13
OBJETIVOS.....	14
REVISÃO DE LITERATURA	15
A cultura do maracujazeiro – Aspectos gerais e importância econômica	15
Doenças do Maracujazeiro	15
Antracnose em Maracujazeiro	16
Controle Biológico de Fitopatógenos	18
<i>Trichoderma</i> spp.....	19
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	20
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
CAPÍTULO II.....	28
Qualidade físico-química e sanitária de frutos de <i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> submetidas ao controle biológico.....	28
RESUMO	29
ABSTRACT	30
INTRODUÇÃO.....	31
MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
Localização do experimento	32
Isolamento e multiplicação do patógeno.....	32
Procedência dos frutos de maracujá	33
Controle Biológico em frutos de maracujá amarelo.....	33
Qualidade pós-colheita de frutos de maracujazeiro amarelo tratados com <i>S cerevisiae</i> e <i>T. asperellum</i>	34

Sólidos solúveis.....	34
pH:	34
Acidez titulável:.....	34
Avaliação da Intensidade da antracnose em frutos de maracujazeiro amarelo tratados com <i>S. cerevisae</i> e <i>T. asperellum</i>	34
Delineamento Experimental	35
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
CONCLUSÃO	44
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
CAPÍTULO III	52
Controle biológico de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> in vitro e em folhas de maracujazeiro amarelo (<i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>).	52
RESUMO	53
ABSTRACT	54
INTRODUÇÃO.....	55
MATERIAL E METODOS.....	56
Local do experimento	56
Isolamento e multiplicação do patógeno	56
Avaliação de inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i>	56
Controle biológico em folhas destacadas de maracujazeiro amarelo	57
Delineamento experimental.....	58
RESULTADOS E DISCUSSAO.....	59
Conclusão	65
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	66

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Teor de Sólidos Solúveis Totais, de frutos de maracujá amarelo (<i>Passiflora edulis</i>) tratados com diferentes concentrações de <i>Sacharomyces cerevisiae</i> e <i>Trichoderma asperellum</i> e armazenados por 10 dias, em temperatura ambiente ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$)	37
Figura 2: pH de frutos de maracujá amarelo (<i>Passiflora edulis</i>) tratados com <i>S. cerevisiae</i> e <i>T. asperellum</i> em diferentes concentrações e armazenados durante 10 dias ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$).	39
Figura 3: Acidez titulável dos frutos de maracujá amarelo (<i>Passiflora edulis</i>) tratados com <i>S. cerevisiae</i> e <i>T. asperellum</i> em diferentes concentrações e armazenados por 10 dias ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$).....	41
Figura 4: Área Abaixo da Curva de Progresso da doença (AACPD) em frutos de maracujá amarelo (<i>Passiflora edulis</i>) submetidos a diferentes concentrações de <i>Sacharomyces cerevisiae</i> , <i>Trichoderma. Asperellum</i> , armazenados por 10 dias a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$	43
Figura 5: Inibição micelial (%) in vitro de <i>Colletotrichum gloesporioides</i> cultivados em meio batata-dextrose-ágar, submetidas ao controle biológico com <i>Sacharomyces cerevisiae</i> e <i>Trichoderma. Asperellum</i>	61
Figura 6: Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) e diâmetro médio das lesões (DML) em discos foliares de maracujazeiro amarelo (<i>Passiflora edulis</i>) inoculados com <i>Colletotrichum gloesporioides</i> e submetidos ao controle biológico com <i>Trichoderma. asperellum</i> e <i>Sacharomyces cerevisiae</i>	63

Araújo, A.K.O. **Controle biológico pós-colheita da antracnose em frutos de maracujazeiro amarelo** (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). Areia: CCA/UFPB . (Dissertação de Mestrado em Agronomia), 70 páginas.

RESUMO GERAL

O objetivo do trabalho foi determinar o efeito dos agentes bióticos *Sacharomyces cerevisiae* e *Trichoderma asperellum*, sobre a qualidade de frutos de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) e severidade da doença em folhas de maracujazeiro destacadas, bem como crescimento micelial do patógeno in vitro. Os tratamentos utilizados foram água destilada esterilizada - ADE (T1); 4 doses de produto comercial a base de *S. cerevisiae*, na proporção de 5; 10, 15, e 20 g/L (T2, T3, T4, T5 respectivamente); 4 doses de *T. asperellum* na proporção de 5; 10, 15, e 20 g/L (T6, T7, T8, T9 respectivamente) e fungicida Mancozebe na dose 2,0 g/L. Para qualidade pós-colheita foram avaliadas as variáveis Teor de Sólidos Solúveis Totais, pH, Acidez titulável, Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), inibição do crescimento micelial e diâmetro médio das lesões em folhas destacadas. A aplicação dos tratamentos nos frutos deu-se por imersão durante 2 minutos e posterior secagem à temperatura de 25 ± 2 °C. Os frutos foram acondicionados em bandejas plásticas e submetidos a câmara úmida por 24 horas. A inoculação de *C. gloeosporioides* ocorreu através da deposição de discos de 7 mm de cultura fúngica, com sete dias de idade, na superfície do fruto, previamente ferido, em três locais equidistantes. Para avaliação do crescimento micelial do patógeno, foram utilizadas colônias puras, com 7 dias de idade, incubadas em meio BDA acrescido dos tratamentos supracitados. Para a avaliação da redução da doença em folhas de maracujazeiro destacadas utilizaram-se três discos de folhas, de aproximadamente 7 cm de diâmetro, sendo pulverizados com suspensão de esporos de *C. gloeosporioides* na concentração de 1×10^5 esporos.mL⁻¹ e depositadas em placas de Petri. Determinou-se o período de latência através de monitoramento diário para identificação do surgimento dos primeiros sinais e sintomas do patógeno. Os resultados demonstraram que os tratamentos não influenciaram na qualidade pós-colheita dos frutos de maracujazeiro. O controle biológico com *S. cerevisiae* e *T. asperellum*, reduziu a severidade da doença nos frutos tratados a 20 g/L bem como o fungicida mancozebe. Para o crescimento micelial do patógeno in vitro as melhores condições de cultivo foram com 15 e 20 g/L e o fungicida, onde a inibição do crescimento micelial foi acima de 90% para os três tratamentos. Para AACPD em folhas destacadas, os resultados mais promissores foram com *S. cerevisiae* e *T. asperellum* a 20g/L, proporcionando menor severidade da doença.

Palavras chaves: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Trichoderma asperellum*, *Sacharomyces cerevisiae*, Qualidade pós-colheita

Araújo, A.K.O. **Postharvest biological control of anthracnose in fruits of yellow passion fruit** (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). Areia: CCA / UFPB, 2015. (Dissertation in Agronomy), 71 pages.

ABSTRACT

The objective of this work was to determine the effect of biotic agents *Saccharomyces cerevisiae* and *Trichoderma asperellum*, the quality of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *Flavicarpa*) and disease severity in passion flower leaves highlighted, as well as growth of the pathogen mycelia in vitro. The treatments were sterilized distilled water - ADE (T1); 4 concentrations of commercial product based on *S. cerevisiae* in proportion to 5; 10, 15 and 20 g / L (T2, T3, T4, T5 respectively); *T. asperellum* 4 concentrations at 5; 10, 15 and 20 g / L (T6, T7, T8, T9 respectively) and fungicide Mancozeb at 2.0 g / L. For quality post-harvest were evaluated variables Content of Total Soluble solids, pH, titratable acidity, area under disease progress curve (AUDPC), mycelial growth inhibition and average diameter of lesions in detached leaves. The application of treatments on fruit occurred by immersion in solutions for 2 minutes and further drying at a temperature of 25 ± 2 °C. The fruits were placed in plastic trays and subjected to a moist chamber for 24 hours. The inoculation of *C. gloeosporioides* occurred by depositing 7 mm fungal culture with seven days, on surface area, previously wounded, on three equidistant locations. To evaluate the mycelia growth, pure colonies were used, with 7-day-old incubated in PDA medium plus treatments. For the assessment of disease reduction in detached leaves passionflower used three leaf discs of approximately 7 cm in diameter, sprayed with suspension *C. gloeosporioides* spores at a concentration of 1×10^5 esporos.mL⁻¹ deposited on plates Petri. It was determined the latency period through daily monitoring to identify the emergence of the first signs and symptoms of the pathogen. The results showed that the treatments did not influence the postharvest quality of passion fruit. Biological control with *S. cerevisiae* and *T. asperellum*. reduced the severity of disease in treated fruits to 20 g / L and mancozeb fungicide. For mycelial growth of the pathogen in vitro best culture conditions were 15 and 20 g /L and fungicide where the inhibition of mycelia growth was over 90% for all three treatments. For AUDPC in detached leaves, the most promising results were with *S. cerevisiae* and *T. asperellum* at 20 g / L, providing lower severity of disease.

Key words: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Trichoderma asperellum*, *Saccharomyces cerevisiae*, Postharvest Quality

CAPÍTULO I

CONTROLE BIOLÓGICO PÓS-COLHEITA DA ANTRACNOSE EM MARACUJAZEIRO AMARELO

(Passiflora edulis f. flavicarpa)

INTRODUÇÃO

As frutas são de grande importância em todo o mundo, no que se refere aos aspectos social, econômico e alimentar e possibilita a exploração intensiva de áreas produtivas, tornando-as lucrativas. Além disso, utiliza elevada quantidade de mão-de-obra, constituindo-se numa fonte geradora de empregos, não somente na produção, como também no armazenamento, no processamento e na comercialização. No Brasil, a fruticultura é um dos segmentos de maior importância da agricultura nacional respondendo por mais de 40% da produção agrícola (MACHADO et al., 2014).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas (IBRAF, 2015) e participa diretamente na economia do país através do valor das exportações e mercado interno. É responsável pela geração de 5,6 milhões de empregos diretos, o equivalente a 27 % do total da mão de obra agrícola, tornando este setor no cenário nacional um dos principais geradores de renda, emprego e desenvolvimento rural do agronegócio (REETZ, 2015).

A produção de maracujazeiro se concentra na América do Sul, principalmente no Brasil, Equador, Peru e Colômbia e em alguns países africanos, que detém cerca de 93% da produção mundial. Nos países sul-americanos, predomina a produção do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*), já nos países africanos e na Austrália há predomínio da produção do maracujá-roxo (*Passiflora edulis* Sims). (IBGE, 2013).

No Brasil, o maracujazeiro é cultivado em todo o território nacional, (PIRES et al., 2011), porém a cultura é acometida por doenças que provocam danos com perdas de produção e produtividade. Essas doenças podem ser causadas por fungos, bactérias e vírus, que limitam sua exploração comercial quando não controladas. Dentre as doenças fúngicas a antracnose, causada por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz (LIMA FILHO, 2008) é uma das mais importantes que infectam na pré e pós-colheita.

Para controlar as doenças em culturas de importância econômica, tem se utilizado intensivamente agrotóxicos, os quais têm causado diversos problemas ao ambiente, com danos à saúde humana; seleção de patógenos resistentes; fitotoxicidade à cultura; e persistem nos frutos sob a forma de resíduos químicos indesejáveis, além de alguns apresentarem pequeno espectro de ação (PEREIRA et al., 2009). Para diminuir estes efeitos e aumentar a produção de alimentos de melhor qualidade, buscam-se novas medidas de proteção das plantas contra doenças (ZANANDREA et al., 2004).

Desta forma, métodos alternativos de controle de doenças, como a exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes nas plantas

(ROZWALKA, 2003) ou a ação de microrganismos benéficos na redução dos efeitos deletérios de fitopatógenos, torna-se cada vez mais necessária. Assim, o controle biológico de patógenos na pós-colheita vem sendo objeto de estudo utilizando indutores de resistência, produtos abióticos e bióticos (PEREIRA et al., 2011).

Nesse contexto, agentes de controle biológico de doenças de plantas como *Trichoderma* spp. (PERAZZOLLI et al., 2008) e *Saccharomyces cerevisiae* (PERAZZOLLI et al., 2008) são alternativas ao uso de fungicidas sintéticos, promovendo o biocontrole de doenças pós-colheita com menos risco de toxicidade ao homem e meio ambiente.

OBJETIVOS

GERAL:

Determinar a eficiência do controle biológico no manejo da antracnose em maracujazeiro amarelo;

ESPECIFICOS:

Determinar a qualidade pós-colheita de frutos de *P. edulis* f. *flavicarpa* tratados com *T. asperellum* e *S. cerevisiae*

Determinar a eficiência de controle biológico in vitro sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* e em discos de folhas destacadas de maracujazeiro amarelo.

REFERENCIAL TEÓRICO

A cultura do maracujazeiro – Aspectos gerais e importância econômica

Dentro da família Passifloraceae, o gênero de destaque é o *Passiflora*, efetivamente publicado por Carl Von Linneu em 1753, sendo o maior gênero da família e compreendendo cerca de 450 espécies, encontradas predominantemente no neotrópico. Pelo menos um terço das espécies de maracujazeiro tem seu centro de origem no Brasil, que é também um importante centro de diversidade genética já que grande parte da variabilidade genética de *Passiflora* está dispersa pelo seu território. Apenas 5% das espécies citadas são originárias da Ásia Tropical até a Polinésia e Austrália (MABBERLEY, 1997; MELLETTI et al. 2010).

As espécies mais cultivadas no Brasil e no mundo são de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*), maracujá-roxo (*Passiflora edulis*) e maracujá-doce (*Passiflora alata*) (PIRES et al., 2011). Dentre estas, 95% dos pomares brasileiros são de maracujazeiro-amarelo, sendo cultivado em todo o território nacional em função da excelente qualidade do seu suco, vigor, produtividade, rendimento de suco e as excelentes condições ecológicas para seu cultivo (MELETTI et al., 2010). Os frutos de maracujazeiro possuem basicamente dois destinos que é a indústria, principalmente a de extração de polpa para fabricação de suco e o consumo in natura, com distribuição pelo mercado atacadista (TEIXEIRA, 2014).

Para fins medicinais, faz-se a extração de substâncias químicas de propriedade farmacêutica como a passiflorina ou maracujina que é um calmante natural. Seu valor ornamental está associado às flores coloridas e perfumadas. (BERNACCI et al., 2003; MELETTI; MAIA, 1999). Segundo Lima (2002), a cultura do maracujazeiro no Brasil também tem grande importância pela qualidade de seus frutos, ricos em sais minerais e vitaminas, sobretudo A e C.

Doenças do Maracujazeiro

Após a colheita, a suscetibilidade do fruto do maracujazeiro às podridões é elevada, com ocorrência significativa de perda de massa fresca e fermentação da polpa. (ARJONA et al., 1992). Apesar da sua importância econômica, existem diversos problemas

fitossanitários que comprometem a produtividade do maracujazeiro no Brasil (MELETTI, 2011).

Dentre as principais doenças da cultura, podem-se destacar as de origem fúngica, como antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.), verrugose ou cladosporiose (*Cladosporium herbarum* Link), fusariose (*Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* Gordon apud Purss.), mancha parda e a septoriose (*Septoria passiflorae* Sydow); a bacteriose causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* e as de natureza virótica, que causam o endurecimento dos frutos, cuja etiologia, no Brasil, é atribuída ao *Passion fruit woodiness virus* (PWV) e *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) (VAN REGENMORTEL et al., 2000, NASCIMENTO et al., 2004).

Antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) em Maracujazeiro

Dentre as principais doenças fúngicas que acometem o maracujazeiro está a antracnose, cujo agente causal é *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spaulding et Schrenk, cuja fase anamórfica corresponde a *C. gloeosporioides* (RESENDE et al., 2005). Este fungo encontra-se presente em todos os países produtores da fruta, causando grandes prejuízos econômicos (AVILA-QUEZADA et al, 2007).

A doença é mais comum em maracujazeiro amarelo e raramente afeta a polpa, porém compromete a aparência externa do fruto (JUNQUEIRA et al., 2003). O patógeno infecta o fruto antes da colheita, permanecendo quiescente até a maturação, quando ocorrem fenômenos físicos e fisiológicos que favorecem o desenvolvimento do mesmo (BARKAI-GOLAN, 2001).

O agente causal da antracnose corresponde ao fungo filamentoso do gênero *Colletotrichum*, sendo considerado um dos principais fitopatógenos em todo mundo. Fungos desse gênero causam significativas perdas econômicas em culturas de regiões temperadas, subtropicais e tropicais no mundo. Em frutíferas tropicais é considerada a mais importante doença de pós-colheita, causando prejuízos que variam em função do grau de suscetibilidade da planta hospedeira e das condições ambientais, sendo temperaturas amenas e alta umidade, os fatores mais favoráveis ao patógeno. Cereais, legumes, plantas ornamentais e frutos podem ser seriamente afetados pelo patógeno. As maiores perdas por *Colletotrichum* ocorrem nos frutos, em pré e em pós-colheita (JUNQUEIRA et al., 2001;

JUNQUEIRA et al., 2002; PICCININ; PASCHOLATI; DI PIERO, 2005, SERRA et al., 2011).

Dentre as espécies deste gênero, *C. gloeosporioides* é considerada a mais disseminada, heterogênea e importante devido às condições climáticas abrangentes e favoráveis, como temperatura e umidade elevadas. Seus conídios são hialinos e unicelulares produzidos no interior de acérvulos subepidérmicos dispostos em círculos (RESENDE et al., 2015), geralmente formados em conjuntos de coloração salmão, retos e cilíndricos, com ápices obtusos e bases às vezes truncadas, medindo 12-17µm x 3,5-6 µm. Os apressórios formados por estas espécies são clavados, ovóides, obovados ou labados, de coloração castanha e medindo 6-20 µm x 4- 12 µm. Formam colônias variáveis, de coloração branco-gelo e cinza escuro e micélios aéreos geralmente uniformes – aveludados ou repletos de conidiomato (SUTTON, 1992).

O patógeno sobrevive em folhas infectadas caídas ou em outras plantas hospedeiras vizinhas dos pomares. Como os propágulos desse fungo são disseminados por respingos de água, a ação de *C. gloeosporioides* é favorecida por alta umidade e chuvas abundantes. Temperatura média próxima de 27 °C favorece a produção dos esporos. Chuvas menos intensas favorecem o progresso da doença numa mesma planta já infectada, enquanto que chuvas acompanhadas de ventos tendem a transportar o fungo para outras plantas. Em períodos de temperaturas mais baixas, a importância da doença diminui, sendo pequena a sua incidência nos meses de inverno, mesmo que ocorram chuvas (RUGGIERO et al., 1996).

O fungo infecta tecidos novos e brotações, podendo permanecer latente ou quiescente, sem mostrar sintomas até que as condições climáticas se tornem favoráveis e/ou a planta sofra algum tipo de estresse. (JUNQUEIRA et al., 2005).

O sintoma típico da doença é caracterizado por lesões arredondadas, grandes, necróticas e bordos ligeiramente elevados com o centro dos tecidos deprimidos, onde são produzidas massas de conídios (BAILEY et al., 1992), podendo ocorrer uma podridão-mole nos frutos, inviabilizando a sua comercialização (LIMA et al., 2002).

Todos os órgãos aéreos da planta como folhas, botões florais, gavinhas, ramos e frutos podem ser atacados. Nas folhas são produzidas manchas pequenas de 2-3mm, de aspecto oleosa, adquirindo posteriormente cor pardo escuro, de forma irregular e diâmetro superior a 1cm. Na parte central da mancha, os tecidos tornam-se acinzentados, podendo ocorrer fendilhamento. Sob condições ambientais favoráveis surgem várias lesões no limbo

foliar, provocando coalescência e ocupando grandes áreas, ocorrendo grande queda de folhas. Nos ramos e gavinhas infectados são produzidas manchas pardo-escuras de 4-6 mm que, posteriormente, se transformam em cancos, expondo os tecidos lesionados. Dependendo da intensidade das lesões, pode provocar morte dos ponteiros e secamento parcial da planta (GOES, 1998).

Nos frutos, os sintomas são presença de leões marrons com halo esverdeado, às vezes na forma de pequenas pontuações verdes. Com o tempo, as lesões coalescem, tomando toda a superfície do fruto e em alta umidade, podem surgir frutificações de coloração rosa e/ou pontuações escuras dispostas na forma de anéis concêntricos. (JUNQUEIRA., 2003).

Controle Biológico de Fitopatógenos

O controle biológico de fitopatógenos tem se apresentado como uma forma promissora e viável, por meio do uso de microrganismos como agentes protetores de plantas cultivadas (OOTANI et al., 2013). A utilização de controle biológico constitui-se em um processo fundamental para atender a demanda, cada vez maior, de produtos e alimentos livres de resíduos deixados pela aplicação de agrotóxicos. Além da preocupação por alimentos mais saudáveis, sem resíduos, a questão ambiental também está diretamente relacionada ao ensejo social de mudança do padrão químico convencional para métodos integrados de produção (BETTIOL; MORANDI, 2009).

O aspecto mais importante a ser considerado, qualquer seja a estratégia de controle, é que esses agentes biológicos constituem alternativa viável para diminuir o potencial de inóculo, sem trazer danos ao meio ambiente (MELLO et al. 2008). Segundo Nachtigal (2009) a sustentabilidade, segurança ambiental e potencial eficácia do controle são elencados como fatores importantes para o um interesse crescente no uso de diferentes estratégias conhecido para o controle biológico.

Nesse contexto, produtos naturais têm sido uma alternativa, a partir do desenvolvimento de bioprodutos com base no princípio de sustentabilidade.

Trichoderma sp.

Espécies do gênero *Trichoderma* encontram-se entre os agentes de biocontrole de doenças mais estudados no mundo como biopesticidas, biofertilizantes e inoculantes de solo (HARMAN et al. 2004).

Algumas linhagens de *Trichoderma* possuem capacidade de desencadear uma série de alterações morfológicas e bioquímicas na planta, levando à ativação dos seus mecanismos de defesa contra vários fitopatógenos (LORITO et al., 2010) e representam um grande componente da diversidade de vida na Terra tanto em números, variedades, papéis, e interações de espécies de *Trichoderma* no ambiente (SAMUELS, 2006).

O mecanismo de ação antagonista de *Trichoderma* resulta de uma interação de diversas ações como antibiose (produção e liberação de metabólitos voláteis e não voláteis), parasitismo e competição por nutrientes entre outros fatores (ETHUR et al., 2008), e é provável que estes diferentes mecanismos atuem em sinergia durante a interação antagonista (PUNJA; UTKHEDE, 2003).

De acordo com Benítez et al. (2004) o micoparasitismo como ação direta de um fungo contra outro fungo compreende um complexo processo que envolve eventos sequenciais, incluindo reconhecimento, ataque e a subsequente penetração, seguida de morte do hospedeiro.

Efeitos benéficos do controle biológico foram constatados por Lima et al. (2008) em que a imersão de bulbilhos de alho (*Allium sativum* L.) em suspensão de esporos de *T. asperellum* podendo melhorar o stand das plantas. Bonfim et al. (2010) observaram redução do crescimento micelial de *Rhizopus stolonifer*, isolado da cultura do maracujazeiro, quando pareado com isolados de *Trichoderma* spp.,. Isaias et al. (2014) em testes de antagonismo, observaram inibição do crescimento micelial de *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae* confrontados com 20 isolados de *Trichoderma*. Santos et al. (2012) também verificaram sobreposição e enrolamento das hifas de isolados de *Trichoderma* em vários patógenos, como *Colletotrichum* sp. e *Rizoctonia solani*.

Choudary (2007), em experimento *in vitro*, com cultivo duplo em placa de Petri, mostrou que *Trichoderma* sp. tem alto aproveitamento dos meios de cultivo devido a sua velocidade de crescimento, portanto a atividade competitiva deste fungo deve ser de suma importância no processo de biocontrole de doenças em plantas *in vivo*.

Além da importância agronômica, *Trichoderma* atua como decompositor primário de matéria orgânica, rápido crescimento, esporulação profusa, capacidade de crescimento em diferentes substratos e tolerância a compostos nocivos (HARMAN et al., 2004).

Saccharomyces cerevisiae

O conhecimento acerca de microrganismos como agente de controle biológico, remota a centenas de anos. Porém, o interesse por microrganismos antagonistas, principalmente as leveduras, tem crescido ao longo das duas últimas décadas, devido estudos apontarem resultados significativamente positivos de controle (KUNOH, 2002).

As leveduras são utilizadas pelo homem na produção de diversos tipos de alimentos, como por exemplo, na fermentação de pães e produção de bebidas, como também vêm sendo utilizadas na indústria para a produção de compostos químicos, combustíveis, aplicação na indústria alimentícia, têxtil, produção de fármacos, entre outras aplicações (MOURA 2013). São particularmente os microrganismos mais adequados para utilização como agente de controle biológico devido à sua alta capacidade de colonizar superfícies vegetais e manterem-se viáveis durante longos períodos de tempo sob diferentes condições ambientais (LOUZADA, 2009; POLLI, 2012).

A utilização de espécies de leveduras no controle biológico é uma estratégia interessante, principalmente, pela capacidade de colonização e sobrevivência na superfície dos frutos por um longo período de tempo (LAHLALI et al., 2011).

As leveduras possuem várias características que as tornam boas candidatas como agentes de biocontrole, tais como alta capacidade de utilização de nutrientes, o que lhes permite proliferar rapidamente (LIMA et al., 1999; SPADARO et al., 2004) e confere a esse grupo de microrganismos vantagens quanto à utilização como agentes de biocontrole de patógenos na pós-colheita. Outro fato a ser considerado é os mesmos serem os maiores componentes da comunidade microbiana na superfície de folhas, frutos e vegetais (WILSON et al. 1993) além de serem tolerantes aos fungicidas frequentemente utilizados na pós-colheita (SPADARO et al., 2004).

De acordo com Piccinin et al. (2005) *S. cerevisiae* apresenta potencial para o controle de doenças de plantas, uma vez que apresenta capacidade de sintetizar antibióticos e habilidade em competir por espaço e nutrientes. Contudo, pouco se sabe quanto a sua ação sobre as podridões pós-colheita de frutas.

REFERENCIAS

AVILA-QUEZADA, G.; SILVA-ROJAS, H.V.; TELIZ-ORTIZ, D. First report of the anamorph of *Glomerella acutata* causing anthracnose on avocado fruits in Mexico. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 91, p. 1200-1200, 2007.

ARJONA, H.E.; MATTA, F.B.; GARNER, J.O. Temperature and storage time affect quality of yellow passion fruit. **HortScience**, Alexandria, v.27, n.7, p.809-810, 1992.

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

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

BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A.M.; LIMÓN, M.C. E CODÓN, A.C. **Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains**. International Microbiology, v.7, p. 249-260. 2004.

BERNACCI, L. C.; MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D. Maracujá-doce: *Passiflora alata* (Passifloraceae) **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25 n.2 p. 102-105, 2003.

BETTIOL, W. **Biopesticides use and research in Brazil**. Outlooks on Pest Management. p. 280-283. 2011.

BOMFIM, M. P.; SÃO JOSÉ, A. R.; REBOUÇAS, T. N. H.; ALMEIDA, S. S.; SOUZA, I. V. B.; DIAS, N. O. Avaliação antagônica in vitro e in vivo de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. **Summa Phytopathologica**, v.36, n.1, p.61-67, 2010.

CHOUDARY, K.A.; REDDY, K.R.N.; REDDY, M.S. Antifungal activity and genetic variability of *T. harzianum*. **J. of Mycology and Plant Pathology**, 37:295-300, 2007.

ETHUR, L. Z. **Dinâmica populacional e ação de *Trichoderma* no controle de Fusariose em mudas de tomateiro e pepineiro.** (Tese). Programa de Pós-Graduação em Agronomia Universidade Federal de Santa RS, 2008.

GOES A. **Doenças fúngicas da parte aérea da cultura do maracujá. In: Simpósio Brasileiro sobre a cultura do maracujazeiro.** Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP,pp. 208-16. 1998.

HARMAN GE (2004) *Trichoderma* – not just for biocontrol anymore. *Phytoparasitica* 39:103-108.

HARMAM, G.E.; HOWELL, C.R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, v.2, p.43-56, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. Estatísticas. Disponível em: . Acessado em 02/12/15.

ISAIAS, C.O.; MARTINS, I.; SILVA, J.B.T.; SILVA, J.T.; MELLO, S.C.M. Ação antagonista e de metabolitos biotivos de *Trichoderma* spp. contra os patógenos *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahlia*. **Suma Phytopathologica**. v. 40, nº 1, 2014

JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M.F. (Org.). **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético.** Planaltina: EMBRAPA CERRADOS, v. 1, p. 55-78, 2005.

JUNQUEIRA, N. T. V.; SHARMA, R.D; PEIXOTO, J. R; JUNQUEIRA, L.P; Manejo das principais doenças do maracujazeiro. In: Poltronieri, L. S; *et al.* (Org) **Pragas e doenças de cultivos amazônicos.** Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental. Pp 157-190, 2005.

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

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

JUNQUEIRA, N. T. V; SHARMA, R.D; JUNQUEIRA, K.P; ANDRADE, L.R.M; **Doenças constatadas na fase pós-colheita**. In: Santos Filho HP, Junqueira NTV(Eds.) **Maracujá Fitossanidade**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. p 32-36. ,2003.

JUNQUEIRA, N.T.V; SHAMA, R. D; JUNQUEIRA, K.P; ANDRADE, L.R.M; Doenças constatadas na fase pós-colheita. **Maracujá Fitossanidade**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. Pp.32-36, 2003.

KUNOH, H. Endophytic actinomycetes: attractive biocontrol agents. **Journal of General Plant Pathology**, v. 68, p. 249-252. 2002. DOI:10.1007/978-3-642-20332-9_10.

LAHLALI, R.; HAMADI, Y. E. L.; GUILLI, M.; JIJAKLI, M. H. **Efficacy assessment of *Pichia guilliermondii* strain Z1, a new biocontrol agent, against citrus blue mould in Morocco under the influence of temperature and relative humidity**. **Biological Control**, Maryland Heights, v. 56, n. 3, p. 217–224, 2011.

LIMA FILHO, R. M. **Controle alternativo da antracnose no maracujá-amarelo na pós-colheita**. Tese (Doutor em fitopatologia) Curso Fitopatologia Departamento de pos-graduacao da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco 2008.

LIMA, A. de A.; BORGES, A.L. Solo e clima. p. 25-28. In: A. de A. Lima (ed.) **Maracujá. Produção: Aspectos técnicos**. **Embrapa–SPI**, Brasília, DF. 2002.

LIMA, A. de A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; VERAS, M. C. M.; CUNHA, M. A. P. da. Tratos Culturais. In: LIMA, A de A. **Maracujá produção: aspectos técnicos**. Brasília: EMBRAPA-SCT, p 41-48 2002. (EMBRAPA-SCT. Frutas do Brasil, 15). P.176, 2002.

LIMA, G.; ARRU, S.; DE CURTIS, F.; ARRAS G. Influence of antagonist, host fruit and pathogen on the biological control of postharvest fungal diseases by yeasts. **Journal of**

Industrial Microbiology and Biotechnology, Heidelberg, v. 23, n. 3, p. 223-229, 1999.

LORITO, M.; WOO, S.L.; HARMAN, G.E.; MONTE, E. Translational research on *Trichoderma*: from omics to the field. **Annual Review of Phytopathology**. v. 48. p.395-417. 2010.

LOUZADA, G. A.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; JÚNIOR, M. L.; MARTINS, I.; BRAÚNA, L. M. Potencial antagonico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota neotropica**, v. 9, n. 03, 145- 149, 2009.

MABBERLEY, D.J. **The Plant Book. Aportable dictionary of the vascular plants**. 2ed., Cambridge, Cambridge University Press, p.532-533. 1997.

MACHADO, A.V.; BARBOSA, L.S; MACEDO, J.L.; SANTOS, C.M. Estudo da secagem de frutos tropicais do Nordeste. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró – RN, v.9, n.1, p.186-190, jan-mar, 2014.

MELLO, S.C.M. **Recursos genéticos de microrganismos. In: Agricultura Tropical: quatro décadas de inovações tecnológicas, institucional e políticas**. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, v. 2. 700p. 2008.

MELETTI, L. M. M; Maia, M. L.; **Maracujá: produção e comercialização**. Campinas: Instituto Agrônômico - Boletim Técnico, n.181, p.64, 1999

MELETTI, L.M.M.; OLIVEIRA, J.C. de; RUGGIERO, C. **Maracujá**. Série Frutas Nativas. Jaboticabal: Funep, 55p, 2010.

MELETTI, L. M. Avanços na fruticultura tropical no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal. v. 33. n.1 ,edição especial. p. 73 - 91. 2011.

MOURA, N. F. et al. Variabilidade entre procedências e progênies de Pequizeiro (*Caryocar*

brasiliense Camb.) **Revista Scientia Forestalis**, v. 41, n. 97, p.103-112, 2013.

NACHTIGAL, G.F. Controle biológico de plantas invasoras exóticas do Brasil por meio de fitopatógenos: princípios e estratégias de aplicação em ecossistemas agrícolas e naturais. **Embrapa**, 2009.

NASCIMENTO, A.S.; SOUZA, A.R.R.; ALFENAS, P.F.; ANDRADE, G.P.; CARVALHO, M.G.; PIO-RIBEIRO, G.; ZERBINI, F.M. Análise filogenética de potyvírus causando endurecimento dos frutos do maracujazeiro no Nordeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, p.378-383, 2004.

OOTANI, M.A.; AGUIAR, R.W.; RAMOS, A.C.C.; BRITO, D.R.; SILVA, J.B.; CAJAZEIRA, J.P. Use of essential oils in agriculture. **Journal of biotechnology and biodiversity**, v.4, n.2, p.162-174, 2013.

PERAZZOLLI, M.; DAGOSTIN, S.; FERRARI, A.; ELAD, Y.; PERTOT, I. Induction of systemic resistance against *Plasmopara viticola* in grapevine by *Trichoderma harzianum* T39 and benzothiadizole. **Biological Control**, v.47, p.228-234, 2008.

PEREIRA, I. N. Própolis: matéria-prima de potencial aplicação farmacêutica. 2011. 55p. (**Trabalho de conclusão de estágio**). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2011. Disponível em:< <http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/70110>>. Acesso em: 05 out. 2016.

PEREIRA, M.C.; VILELA, G.R.; COSTA, L.M.A.S.; SILVA, R.F.; FERNANDES, A.F.; SOUZA JUNIOR, I.T.; SALES, N.L.P.; MARTINS, E.R.. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado de maracujazeiro amarelo. **Biotemas**, 22(3): p.77-83, 2009.

PICCININ, E.; PASCOLATI, S.F.; DI PIERO, R.M. Doenças da goiabeira. IN: KIMATI, H. et al. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 4 ed. v.2, p.401-406, 2005.

PICCININ, E.; PASCHOLATI, S.F.; DI PIERO, R.M. Doenças do abacateiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Ceres, 4.ed. v. 2, cap. 44, p. 1-7, 2005.

PIRES, M. de M., et al.; **Maracujá: avanços tecnológicos e sustentabilidade**. Ilhéus: Editus, 2011.

PIRES, M.M.; SÃO JOSÉ, A.R.; CONCEIÇÃO, A.O. **Maracujá: avanços tecnológicos e sustentabilidade**. Bahia: Editus, p.237, 2011..

POLLI, A.; NEVES, A. F.; GALO, F. R.; GAZARINI J.; RHODEN, S. A.; PAMPHILE J. Aspectos da interação dos micro-organismos endofíticos com plantas hospedeiras e sua aplicação no controle biológico de pragas na agricultura. **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v. 7, n. 02, p.82-89, 2012.

PUNJA, Z. K.; UTKHEDE, R. S. Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. **Trends in Biotechnology**, v. 21, p.400-407, 2003.

REETZ, E. R. **Anuário Brasileiro da Fruticultura**. Editora Gazeta Santa Cruz do Sul, 2015.

RESENDE, M.L.; PEREIRA, C.E.; OLIVEIRA, J.A.; GUIMARÃES, R.M. Qualidade de sementes de milho (*Zea mays*) tratadas com fungicidas e inoculadas com *Trichoderma harzianum*. **Ciência Agronômica**. 36(1): 60-65, 2005.

ROSWALKA, L.C. **Controle alternativo da antracnose em frutos de goiaba, em laboratório**. 45p Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR. (2003).

RUGGIERO, C.; SÃO JOSE, A.R.; VOLPE, C.A.; OLIVEIRA, J.C.; DURIGAN, J.F.; BAUMGARTNER, J.G.; SILVA, J.R.; MAKAMURA, K.I.; FERREIRA, M.E., KAVATI, R.; PEREIRA VP. **Maracujá para exportação: aspectos técnicos da produção**. MAARA/ SDR- FRUPEX, Brasília. Embrapa-SPI n. 19, 64 p. 1996.

SAMUELS, G. J. Trichoderma: Systematics, the sexual state, and ecology. **Phytopathology**, v. 96, p. 195-206. 2006.

SANTOS, H.P.; CHAVARRIA, G. **Cultivo de videira em ambiente protegido**. Fruticultura em ambiente protegido. Embrapa Hortaliças. Brasília, DF. 278p. 2012.

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

SPADARO, D.; GULLINO, M. L. State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 91, n. 2, p. 185-194, 2004.

SUTTON, B.C; The genus *Glomerella* and its anamorph. In: Bailey, J. A & Jeger, M. J; (Eds.) **Colletotrichum: biology, pathology and control**. England, CAB International Wallingford. P. 1-26, 1992.

TEIXEIRA, C.G. Cultura. In: TEXEIRA, C.G.; CASTRO, J.V.; TOCCHINI, R.P.; NISIDA, A.L.A.C.; HASHIZUME, T.; MEDINA, J.C.; TURATTI, J.M.; LEITE, R.S.S.F.; BLISKA, F.M.M.; GARCIA, A.E.B.C. (Ed). **Maracujá: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos**. Campinas: Instituto Tecnologia de Alimentos, p. 1-142. 2014.

VAN REGENMORTEL, M. H. V.; FAUQUET, C. M.; BISHOP, D. H. L.; CARSTENS, E.; ESTES, M. K.; LEMON, S. M.; MANILOFF, J.; MAYO, M. A.; MCGEOCH, D. J.; PRINGLE, C. R.; WICKNER, R. B. (Ed.). **Virus taxonomy**: seventh report of the international committee on taxonomy of viruses. San Diego: **Academic Press**, 2000. 1162 p

ZANANDREA, I.; SANTOS, J.; MOURA, A. B.; LUDWIG, J.; BOSEMBEKER, V.K. Atividade do óleo essencial de orégano contra fungos patogênicos do arroz: crescimento micelial em placas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 14: 14-16, 2004.

Capítulo II

**QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E SANITÁRIA DE FRUTOS
DE *Passiflora edulis f. flavicarpa* SUBMETIDAS AO
CONTROLE BIOLÓGICO**

Araújo, A.K.O. **Qualidade físico-química e sanitária de frutos de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* submetidas ao controle biológico.** Areia: CCA/UFPB, 2015. (Dissertação de Mestrado em Agronomia), 70 páginas.

RESUMO

O uso de produtos biológicos como alternativa aos agrotóxicos tem sido estudado para diminuir os riscos ao meio ambiente, homem e animais mostrando resultados satisfatórios no controle de doenças na pós-colheita. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do biocontrole com *Trichoderma asperellum* e *Sacharomyces cerevisiae* no controle e qualidade pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em maracujá amarelo. Foram utilizados frutos de maracujazeiro amarelo sadios, oriundos da Central de Abastecimento (CEASA) de Campina Grande. Os tratamentos foram compostos por *T. asperellum* e *S. cerevisiae* nas concentrações de 5, 10, 15, 20 g/L, fungicida Mancozebe (2,0 g/L), e água destilada esterilizada - ADE (testemunha). A aplicação dos tratamentos preventivos deu-se por imersão dos frutos em recipientes plásticos, durante 2 minutos e posterior secagem em bandejas. Foram utilizadas três repetições de cinco frutos para análise de sanidade. As variáveis analisadas foram AACPD, severidade e intensidade da antracnose em frutos de maracujazeiro amarelo que foram realizadas diariamente, a partir da aplicação dos tratamentos, até o quinto dia após o surgimento dos sintomas, que se desenvolveram a partir do terceiro dia após a inoculação do patógeno. A inoculação foi feita com a deposição de discos de 7 mm de cultura de *C. gloeosporioides* com sete dias de idade, na superfície do fruto previamente tratado e ferido com perfurador flambado. Foram avaliados pH, Sólidos solúveis totais (SST) e Acidez titulável (AT). As avaliações pós-colheita realizaram-se a cada dois dias até o 10º dia, a partir da aplicação dos tratamentos, utilizando-se a polpa retirada dos frutos tratados. Os tratamentos de *S. cerevisiae* e *T. asperellum*, em todas as concentrações utilizadas reduziram a severidade da antracnose nos frutos de maracujazeiro amarelo, quando comparados à testemunha. Ao avaliar a qualidade pós-colheita dos frutos de maracujazeiro amarelo tratados, observou-se que o controle biológico não influenciou na qualidade pós-colheita das variáveis analisadas. Dessa forma, o controle biológico proporcionado pelos tratamentos de *S. cerevisiae* e *T. asperellum* se constituíram como alternativa viável ao manejo pós-colheita da antracnose no maracujazeiro amarelo nas condições do presente trabalho.

Palavras chaves: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Trichoderma asperellum*, *Sacharomyces. cerevisiae*, Qualidade pós-colheita

Araujo, A. K.O. **Physicochemical and sanitary quality of *Passiflora edulis* f. *Flavicarpa* submitted to biological control.** Areia: CCA / UFPB, 2015. (Dissertation in Agronomy) 70 pages.

ABSTRACT

The use of organic products as an alternative to pesticides has been studied to reduce the risk to the environment, humans and animals showing satisfactory results in the control of diseases in post-harvest. The aim of this study was to evaluate the effect of biocontrol with *Trichoderma asperellum* and *Saccharomyces cerevisiae* and postharvest quality of *Colletotrichum gloeosporioides* in yellow passion fruit. Fruits of yellow passion fruit healthy were used, resulting from the Supply Center (CEASA) of Campina Grande. The treatments were composed by *T. asperellum* and *S. cerevisiae* at concentrations of 5, 10, 15, 20 g / L, fungicide (Mancozeb 2.0 g / L) and distilled sterilized water (control). The application of preventive treatment was given by immersing the fruits in plastic plots for 2 minutes and subsequent acoconditioned on drying trays. It was used three replicates of five fruits for sanity analysis. The variables analyzed were AUDPC, severity and intensity of the anthracnose in fruits of yellow passion fruit. Analyses were performed daily, from the application of the treatments, by the fifth day after the onset of symptoms, which developed from the third day after inoculation of the pathogen. The inoculation was carried out with deposition of 7 mm culture disc of *C. gloeosporioides* with seven days old, at the surface of previously treated and injured fruit with instrument sterilized.. Were evaluated pH, total soluble solids (TSS) and titratable acidity (TA) to check the post-harvest quality of treated fruit were also evaluated. Postharvest evaluations were done every two days until the 10th day from the application of the treatments, using the pulp removed from the treated fruits. The treatments of *S. cerevisiae* and *T. asperellum* in all concentrations reduced the severity of anthracnose in fruits of yellow passion fruit, compared to control. In assessing the post- harvest fruit quality of yellow passion fruit treated, it was observed that biological control did not influence the post-harvest quality of the variables analyzed. Thus, the biological control provided by the *S. cerevisiae* treatments and *T. asperellum* constituted as a viable alternative to anthracnose postharvest in yellow passion fruit under the conditions of this work.

Key words: *Colletotrichum gloeosporioides* *Trichoderma asperellum* , *Sacharomyces cerevisiae*, Postharvest Quality

INTRODUÇÃO

A fruticultura é, atualmente, um dos segmentos de maior importância da agricultura nacional respondendo por mais de 40 % da produção agrícola. (MACHADO, 2014).

Entre as culturas que dão o título ao Brasil de grande produtor mundial, destaca-se o maracujazeiro (*Passiflora edulis*). Originário da América Tropical, o maracujazeiro apresenta três espécies economicamente importantes: o amarelo ou azedo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, Degener), o roxo (*Passiflora edulis* Sims.) e o doce (*Passiflora alata* Curtis), sendo que cerca de 95% da área cultivada são de pomares da *P. edulis* Sims f. *flavicarpa*, devido a qualidade, vigor, produtividade de seus frutos e ao seu maior rendimento de suco para a indústria (SOUZA; MELLETI, 1997; MELLETI et al. 2003). O fruto do maracujazeiro é apreciado não só por suas características nutricionais (IBGE, 2013), tais como. citado por Horn (2014) onde é uma fruta rica em vitamina C, vitaminas do complexo B, vitamina A, ferro, cálcio, fosforo e fibras. mais também como pelo seu sabor ácido e maior rendimento sendo assim cultivado basicamente para a indústria de sucos e polpas (ZERAİK et al., 2010). Deve-se considerar os atributos físicos e químicos para o consumo *in natura*, onde os mesmos devem apresentar tamanho e peso maior, boa aparência, mais doces e menos ácidos. (NASCIMENTO et al., 2009).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, com mais de 600 milhões de toneladas produzidas, representando cerca de 6% da produção no mundo e estando atrás apenas da China e da Índia. (FAO 2014).

À medida que a produção se eleva, ocorre também um grande crescimento das perdas pós-colheita, caracterizado, na maioria das vezes, pela falta de capacitação técnica dos empregados que trabalham com a cadeia pós-colheita de frutos, além da falta de acesso a produtos e métodos utilizados no controle de doenças pós-colheita. Tais fatores respondem por perdas em torno de 5,1 milhões de toneladas de frutas por ano (EMATER, 2012).

As perdas pós-colheita podem ter causas diversas, dentre as quais se destacam as doenças (CHITARRA; CHITARRA, 1990). Portanto, há grande relevância na busca por métodos alternativos de controle de doenças. Neste sentido, o controle biológico pode contribuir para reduzir o impacto da agricultura e nos custos do produto final (GAUR; SHARMAM, 2010). Segundo Piccinin et al. (2005) a aplicação levedura *Saccharomyces cerevisiae* apresenta potencial para o controle de doenças de plantas, uma vez apresenta capacidade de sintetizar antibióticos e habilidade em competir por espaço e nutrientes.

Já as Espécies de *Trichoderma* são os microrganismos mais utilizados como agentes de biocontrole de fungos fitopatogênicos (WIJESINGHE et al., 2011; MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2014). Alguns são conhecidos também pelas suas capacidades de induzir a resistência sistêmica contra doenças (SINGH et al., 2014; LAMDAN et al., 2015; RAO et al., 2015; SALAS-MARINA et al., 2015; VOS et al., 2015).

Neste contexto os objetivos do trabalho foram determinar o efeito de *Trichoderma asperellum* e *Sacharomyces cerevisiae* no controle da *Colletotrichum* sp. para o manejo da antracnose pós-colheita do maracujazeiro amarelo e determinar se os tratamentos biológicos utilizados influenciaram na qualidade pós-colheita dos frutos avaliados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Localização dos experimentos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fitopatologia do Centro de Ciências Agrárias, Campus II - Universidade Federal da Paraíba – UFPB, em Areia-PB.

Isolamento e multiplicação do patógeno

Os isolados de *C. gloeosporioides* foram obtidos de frutos de maracujazeiro amarelo apresentando sintomas típicos da antracnose, como lesões arredondadas, e necróticas, oriundos da Central de Abastecimento da Secretaria de Agricultura (CEASA) de Campina Grande - PB.

Foram retirados fragmentos de lesões com aproximadamente 1,0 cm de diâmetro, na região limítrofe entre a área lesionada e a área sadia. Esses fragmentos foram desinfestados em álcool a 70% por 1 minuto, solução de hipoclorito de sódio a 5% por 1 minuto, lavados com água destilada e esterilizada (ADE). Após a desinfestação, procedeu-se à secagem dos fragmentos em papel de filtro esterilizado, onde foram transferidos para as placas de Petri (9 cm de diâmetro) com meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA). Foi realizada a incubação durante oito dias em condições do ambiente (25 ± 2 °C e UR de $65 \pm 1\%$), até o surgimento de estruturas vegetativas e reprodutivas do fungo.

Foi utilizado um disco de 7 mm de diâmetro da colônia fúngica por placa sendo incubado no centro das placas com BDA, nas condições anteriormente descritas, até o crescimento do fungo, para obtenção de colônias puras a serem utilizadas em ensaios posteriores.

Procedência dos frutos de maracujazeiro

Foram utilizados frutos de maracujazeiro amarelo sadios, oriundos da Central de Abastecimento da Secretaria de Agricultura (CEASA) de Campina Grande, com maturidade comercial no estágio 3 (SILVA, 2008) que se refere ao nível de maturidade fisiológica dos frutos. Os mesmos foram selecionados, de acordo com seus atributos de qualidade física como coloração da casca, uniformidade, estágio de maturação e isenção de deformações, sendo descartados os frutos com injúrias ou sintomas de doenças.

Após a recepção e seleção de frutos foi realizada a sanitização através de imersão dos mesmos em hipoclorito de sódio a 5% durante 1 minuto e, em seguida, lavados com água destilada e esterilizada (ADE), dispostos em bandejas plásticas com papel toalha para secagem em temperatura ambiente ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e posterior aplicação dos tratamentos biológicos.

Controle biológico em frutos de maracujazeiro amarelo

O antagonista *S. cerevisiae* foi obtido a partir de fermento biológico industrial e *T. asperellum* foi obtido através do produto comercial Quality[®] WG, Grupo Farroupilha.

Os tratamentos utilizados foram a testemunha com frutos tratados apenas com ADE (T1); 4 concentrações dos tratamentos a base de *S. cerevisiae* (T2) e de *T. asperellum* (T3) de 0,5%, 1%, 1,5%, e 2%, diluídos em ADE e do fungicida Mancozebe (T4) na d

A aplicação dos tratamentos ocorreu por imersão dos frutos em recipientes de polietileno, com capacidade para 10 litros, durante 2 minutos e posterior secagem em papel absorvente por 10 minutos, em temperatura ambiente ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$). Os frutos tratados foram acondicionados em bandejas plásticas e submetidos a câmara úmida composta pela cobertura das bandejas com sacos de poliestireno, que foram previamente aspergidos com ADE, por 24 horas.

A inoculação do fungo ocorreu através da deposição de discos de 7 mm de colônia de *C. gloeosporioides* cultivada em meio batata-dextrose-ágar, aos sete dias de idade, na superfície do fruto previamente tratado e ferido com profundidade de 3mm e 1mm de diâmetro, com auxílio de um perfurador flambado, em três locais equidistantes. Foram utilizados cinco frutos por tratamento. Sendo cada fruto considerado como uma repetição.

Qualidade pós-colheita de frutos de maracujazeiro amarelo tratados com *S. cerevisae* e *T. asperellum*

As avaliações pós-colheita foram realizadas a cada dois dias até o 10º dia, a partir da aplicação dos tratamentos, utilizando-se a polpa dos frutos. Depois de preparadas, as polpas foram armazenadas em freezer a 4 °C, para as determinações químicas conforme a seguir:

Sólidos solúveis (Brix°): determinado no suco da fruta homogeneizado em refratômetro digital (PR – 100, Pallete, Atago Co., LTD., Japan) com compensação automática de temperatura. Os teores são registrados com precisão de 0,1%, a 25 °C, conforme Kramer (1973) e os resultados foram expressos em Brix°.

pH: determinado em 10g da polpa diluída em 50 mL de ADE em pHmêtro digital DIGIMED, modelo DMPH-2 (AOAC, 1994).

Acidez titulável: determinada nas amostras anteriormente preparadas para determinação de pH, determinada por titulação com NaOH 0,1 N, seguindo as regras da AOAC (1994) com resultados expressos em porcentagem.

Avaliação da intensidade da antracnose em frutos de maracujazeiro amarelo tratados com *S. cerevisae* e *T. asperellum*

As análises do Progresso da Doença foram realizadas diariamente, a partir da aplicação dos tratamentos, até o quinto dia após o surgimento dos sintomas, que se se desenvolveram a partir do terceiro dia após a inoculação do patógeno.

A variável analisada foi a Área Abaixo da Curva de Progresso de Doença (AACPD), a partir dos dados de período de incubação, correspondente ao número de dias de surgimento dos sintomas após a inoculação do isolado; incidência da doença, correspondente a porcentagem de frutos com sintomas e severidade da doença avaliadas pelo diâmetro médio das lesões, mensuradoem dois raios de dois sentidos diametralmente opostos, até o 8º dia após inoculação do patógeno.

Para o cálculo da AACPD foi utilizado o método da integralização trapezoidal (CAMPBELL; MADDEN, 1990) através da fórmula:

$$\sum_{1}^{n-1} \left(\frac{y_1 + y_1 + 1}{2} \right) (t_1 + 1 - t_1)$$

em que: n = número de avaliações, y = intensidade da doença, t = tempo quando da avaliação da intensidade da doença, $(y_i + y_{i+1})/2$ = altura média do retângulo entre os pontos y_i e y_{i+1} , $t_{i+1} - t_i$ = diferença da base do retângulo entre os pontos t_{i+1} e t_i .

Delineamento Experimental

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com esquema fatorial de 2 tratamentos (*S. cerevisiae* e *T. asperellum*) x 4 concentrações (0,5%; 1,0%; 1,5% e 2,0%) + 2 (testemunha e fungicida), sendo utilizados 5 repetições para frutos e 15 repetições para folhas. Os dados de severidade foram analisados em regressão por meio de parcelas subdivididas no tempo, sendo dez tratamentos e cinco períodos de avaliação de 24 horas (h), cada período. O software SAS® foi utilizado nas análises estatísticas e o SISVAR® foi utilizado para a comparação entre as médias por meio do teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Não foi observada interação entre o período de incubação e os tratamentos aplicados. Dessa forma, os tratamentos foram analisados separadamente. Entre os tratamentos e os diferentes períodos concentrações o tratamento 2 e 3 que são respectivamente *S. cerevisiae* 0,5%, 1%, diluídos em ADE, foram observadas diferenças significativas e o modelo quadrático foi o que melhor se ajustou para SST (Figura 1).

Verificou-se que após a aplicação dos tratamentos, houve um aumento considerável, a partir do primeiro dia, nos teores de Sólidos Solúveis Totais para todos os tratamentos, e que, após o terceiro dia houve uma diminuição dos valores, que se manteve até o décimo dia. Os valores de Sólidos Solúveis Totais variaram de 12,08% para a testemunha a 15,04% a 2% na primeira leitura para *T. asperellum* (Figura 1). Esses valores corroboram com o que foi estabelecido por Brasil (2003) para o padrão preconizado para a comercialização dos frutos de maracujazeiro amarelo (BRASIL, 2003). Esses valores estão de acordo com os observados por outros autores para essa cultura (PINHEIRO et al., 2006; MEDEIROS et al., 2009).

Vianna-Silva et al., (2008) avaliaram a qualidade do sumo de maracujá-amarelo em diferentes graus de maturação, reportando um aumento do valor de SST conforme o fruto amadurece, assim como Jiménez et al., (2011) verificaram que o teor de Sólidos Solúveis Totais aumentou à medida que avançou a maturação.

Os tratamentos com *S. cerevisiae* a 0,5%, 1% e 1,5% e *T. asperellum* a 2,0% bem como fungicida apresentaram maiores Teores de Sólidos Solúveis Totais com valores de 13,62; 13,3; 13,36; 15,04 e 14,36, respectivamente (Figura 1). Chitarra; Chitarra, (1990) demonstraram que o teor de sólidos solúveis totais é dependente do estágio de maturação no qual o fruto é colhido e geralmente aumenta durante a maturação pela biossíntese ou degradação de polissacarídeos.

Durante o armazenamento dos frutos ocorreu um decréscimo expressivo nos teores de sólidos solúveis totais após o terceiro dia de avaliação, onde as reservas de açúcares foram utilizadas durante a estocagem dos frutos. Esta utilização de reservas de açúcar é explicada, onde os frutos que não têm reserva de amido, como o maracujá, utilizam a rota de síntese de açúcares a partir de ácidos orgânicos. (CHITARRA; CHITARRA 2005).

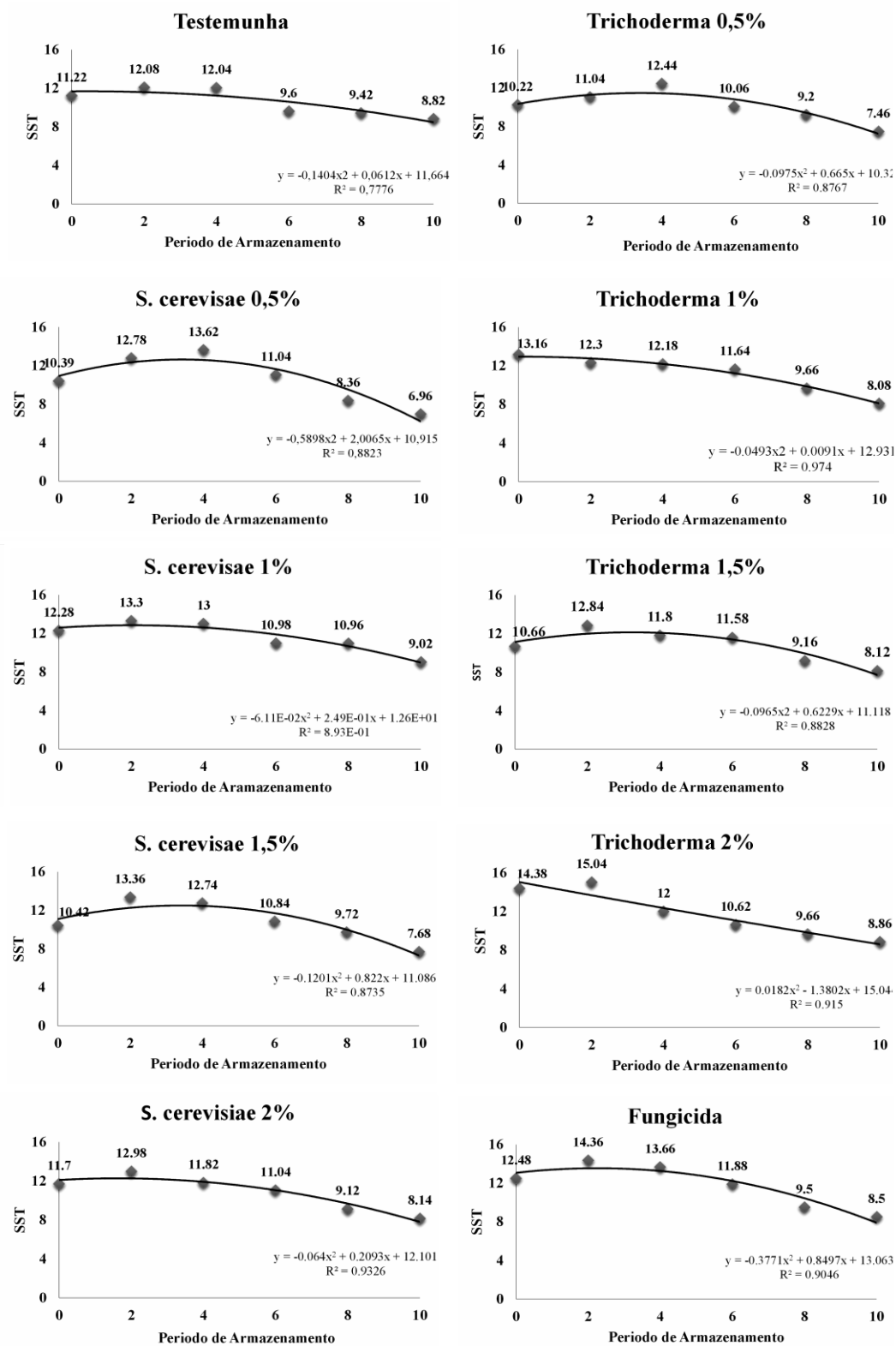


Figura 1 – Teor de Sólidos Solúveis Totais de frutos maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) tratados com diferentes concentrações de *Sacharomyces cerevisiae* e *Trichoderma asperellum* e armazenados por 10 dias, em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). AREIA-PB (2014).

Os valores do pH (Figura 2) também apresentaram variações durante os dias de avaliação com comportamento similar as variáveis de SST e acidez. O modelo quadrático foi o que melhor se ajustou para descrever o comportamento do pH.

O pH variou de 3,44 do primeiro à 3,69 para o último dia de análise, no mesmo período para os tratamentos utilizando *S. cerevisiae* a 1,5 % e 1% respectivamente aos 10 dias. Estas variações podem ser atribuídas à degradação inicial e posterior da síntese de ácidos orgânicos com diferentes potenciais de dissociação iônica (ALMEIDA et al., 2006). Ao considerar que o aumento do pH expressa diminuição da acidez (CHITARRA; CHITARRA, 2005; RODRIGUES et al., 2008), verificou-se coerência entre os dados da Figura 2 com a redução da Acidez Titulável (Figura 3).

O pH (Figura 2) aumentou para todas as concentrações, sendo os maiores valores encontrados com os frutos tratados com *S. cerevisiae* a 0,5% (3,54); 10% (3,69) e 2% (3,59) e para *T. asperellum* a 0,5% (3,56); 1% (3,54) e 1,5% (3,58) que apresentaram os maiores valores de pH, bem como o fungicida, expressando aumento significativo ao fim das análises. Os dados de pH foram superiores aos valores médios encontrados por Coelho et al. (2010), em frutos de maracujazeiro, que obtiveram valores médios de 2,92.

Segundo Campos et al. (2013) frutos de maracujazeiro com pH da polpa entre 2,5 e 3,5 são mais adequados ao processamento para produção de suco concentrado. Assim, com base nas características químicas, os frutos apresentaram requisitos que atendem tanto ao consumo in natura quanto à indústria de suco concentrado. Além disso, outros fatores tornam importante a determinação do pH de um alimento, tais como influência na palatabilidade, desenvolvimento de microrganismos, escolha do equipamento para o processamento, escolha de aditivos entre outros (CHAVES, 1993).

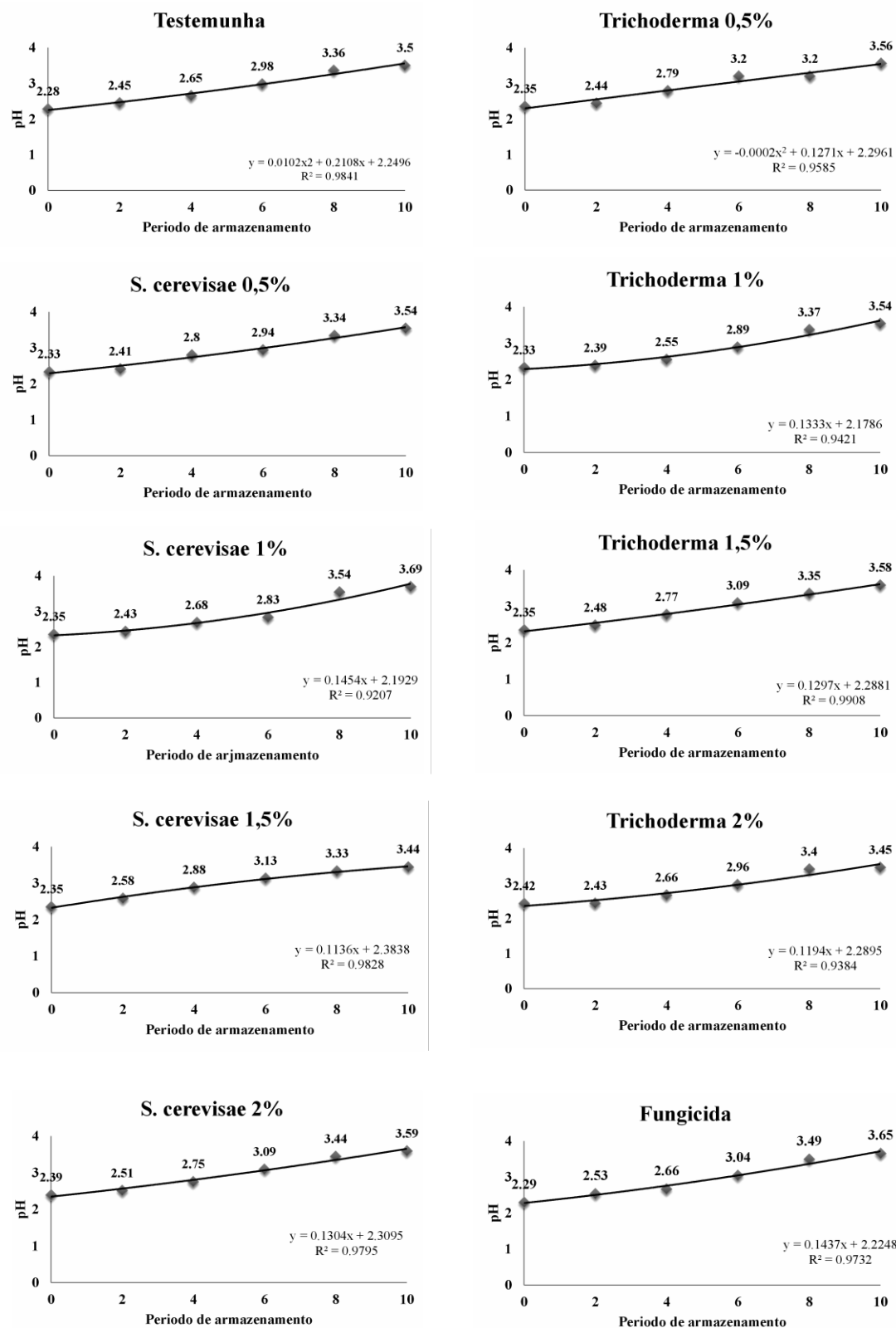


Figura 2 - pH de frutos de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) tratados com *Sacharomyces cerevisiae* e *Trichoderma. asperellum* em diferentes concentrações e armazenados durante 10 dias (25±2°C) AREIA-PB (2014).

Não foi observada interação entre período de incubação e os tratamentos aplicados. Para os tratamentos e os períodos foram observadas diferenças significativas e o modelo quadrático foi o que melhor se ajustou para descrever o comportamento da acidez titulável (AT) (Figura 3).

Os valores de AT apresentaram variações durante o período de armazenamento. Pode-se observar que para todos os tratamentos, no primeiro e segundo dia ocorreu um aumento na quantidade de acidez nos frutos. No terceiro dia, ocorreu uma diminuição da AT, provavelmente devido à maturação do fruto, seguindo o mesmo comportamento do SST.

A acidez titulável variou de 4,41 a 3,08 na testemunha durante dez dias de armazenamento, estando de acordo com valores encontrados por Matsura; Folegatti (2002) para maracujazeiro, onde a acidez deve estar entre 3,2 e 4,5%, sendo essa a principal característica do maracujá amarelo ou azedo. Estes valores estão próximos aos também encontrados por Machado et al. (2003) (4,64g mg⁻¹), Citadin (2011) (4,55g mg⁻¹) e Silva et al. (2005) (4,3g mg⁻¹) todos para maracujá - amarelo.

Os maiores índices de acidez titulável observados foram nas concentrações de *S. cerevisiae* (0,5%) com o valor de 5,21 e *T. asperellum* a 1% com valor de 5,0, bem como a testemunha, em relação aos demais tratamentos, expressando um aumento significativo no primeiro e segundo dia de armazenamento. A partir do terceiro dia essa variável apresentou decréscimo para todos os tratamentos (Figura 3).

Os dados para esta variável podem ser considerados excelentes, uma vez que o Ministério da Agricultura e do Abastecimento recomenda valor mínimo de ATT, no suco de maracujá de 0,27 (BRASIL, 2003). Todas as avaliações nesta variável atenderam a essa exigência no presente estudo.

Do ponto de vista industrial, o teor elevado de ATT diminui a necessidade de adição de acidificantes e propicia melhoria nutricional e aumenta a segurança alimentar (ROCHA et al. 2001).

Segundo Chitarra; Chitarra (2005), a acidez em produtos hortícolas é atribuída, principalmente, aos ácidos orgânicos que se encontram dissolvidos nos vacúolos das células, tanto na forma livre como na combinada com sais, ésteres, glicosídeos, etc. Em alguns produtos, os ácidos orgânicos não só contribuem para a acidez, como também para o aroma característico, porque alguns componentes são voláteis.

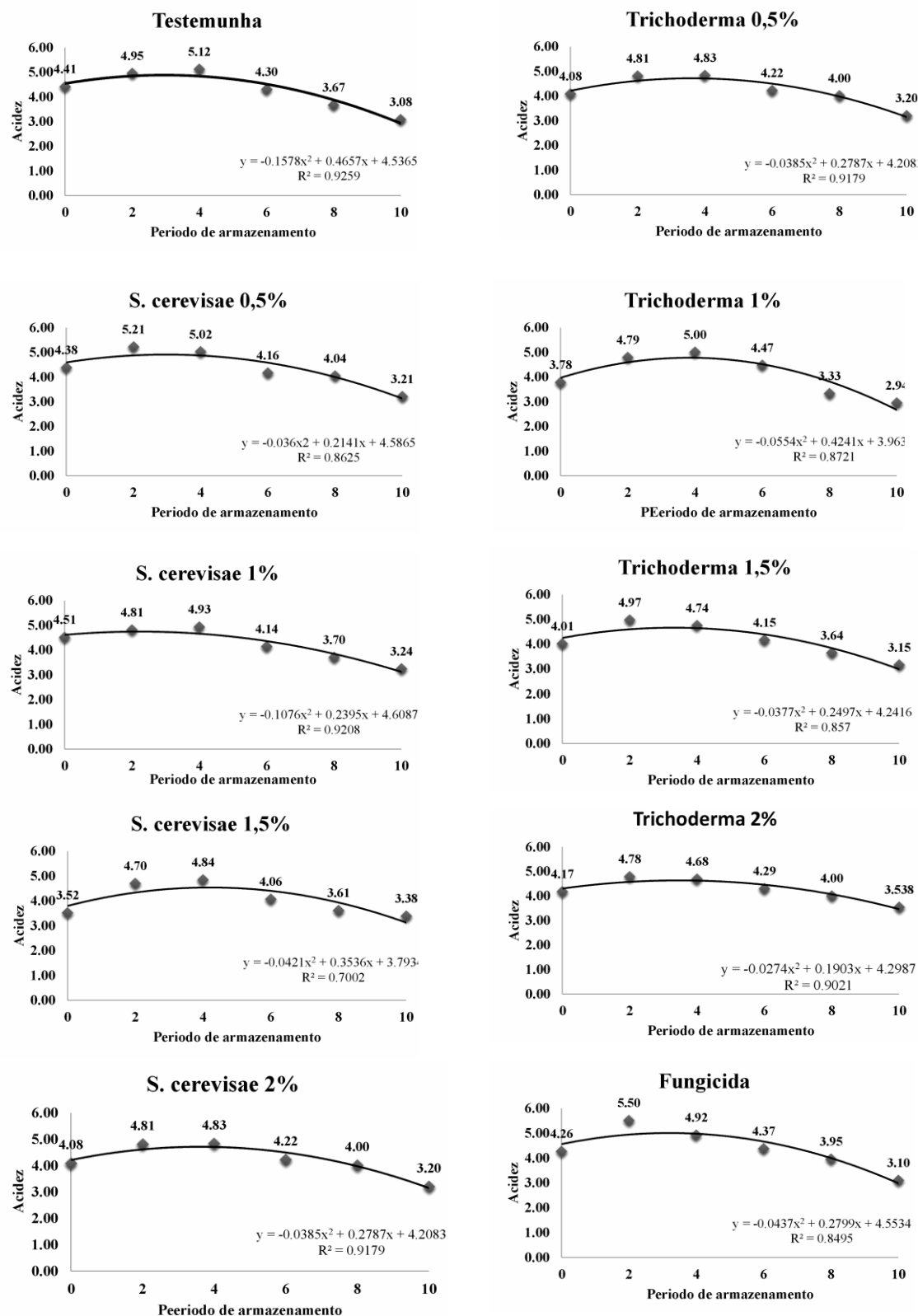


Figura 3 – Acidez titulável dos frutos de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) tratados com *Sacharomyces cerevisiae* e *Trichoderma asperellum* em diferentes concentrações e armazenados por 10 dias (25+2°C) AREIA-PB (2014).

A Área Abaixo da Curva de Progresso da antracnose em frutos de maracujazeiro amarelo confirmou que todos os tratamentos reduziram a AACPD quando comparados com a testemunha (Figura 4).

Observou-se que os tratamentos biológicos todos diminuíram o progresso da doença com destacando-se *Trichoderma* á 20 g que obteve o menor progresso da doença com o valor de 110,45, comparando com a testemunha que apresentou 270,38, verificando-se menores índices de progresso e severidade da doença.

De acordo com Salas-Marina et al. (2015), fungos pertencentes ao género *Trichoderma* podem induzir efeitos benéficos sobre as plantas, incluindo a promoção do crescimento e indução de resistência à doenças. Pode atuar como um elicitor para desencadear reações de defesa (FRISCHMANN et al. 2012, FREITAS et al. 2014, GOMES et al. 2015, SALAS-MARINA et al. 2015, RAMADA et al. 2015). Piccinin (2005) relata que tratamentos com *S. cerevisiae* permitiram uma competição com o patógeno, devido à necessidade pelos mesmos de fatores vitais, como de fonte de energia externa ao conídio para germinarem.

Os resultados obtidos reforçam a importância do biocontrole como método alternativo no manejo de doenças em pós-colheita de frutas, também capaz de minimizar o impacto ambiental, devendo-se ainda reduzir o custo para valores equivalentes ao controle químico.

Resultados positivos de biocontrole também foram observados por Usall et al. (2001) utilizando *Candida sake* (cepa CPA-1) no biocontrole de doenças pós-colheita causadas por *Penicillium expansum* em maçãs (*Malus spp.*), reduzindo a incidência de frutas deterioradas em mais de 70%.

No controle biológico na pós-colheita deve-se considerar diversos aspectos, desde a intensidade dos mecanismos de defesa natural à dose de antagonistas/substâncias antimicrobianas naturais aplicadas (MARI; GUIZZARDI, 1998). A resistência natural de frutas e legumes a doenças pós-colheita depende intimamente do processo de ruptura e perda da sensibilidade do tecido (LIMA et al., 1999).

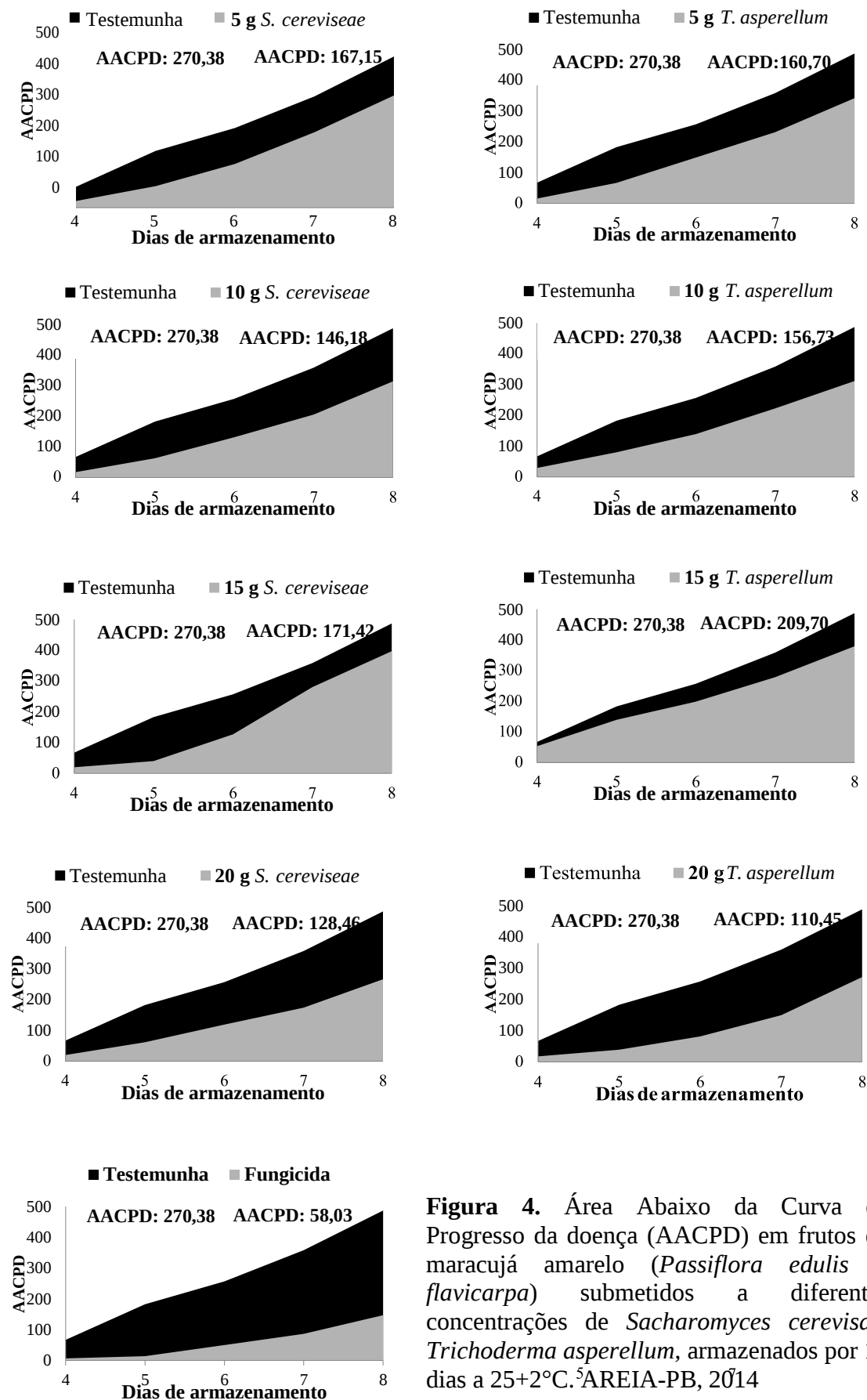


Figura 4. Área Abaixo da Curva de Progresso da doença (AACPD) em frutos de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) submetidos a diferentes concentrações de *Sacharomyces cerevisiae*, *Trichoderma asperellum*, armazenados por 10 dias a 25+2°C.⁵AREIA-PB, 2014

CONCLUSÃO

Os tratamentos com *S. cerevisiae* e *T. asperellum*, em frutos de maracujazeiro amarelo não alteraram a qualidade pós-colheita dos frutos avaliados.

Os tratamentos com *S. cerevisiae* e *T. asperellum* em todas as concentrações usadas reduziram a severidade da antracnose nos frutos de maracujazeiro amarelo, destacando a concentração de *Trichoderma* á 20 g que foi igual ao controle proporcionado pelo fungicida.

REFERENCIAS

AOAC (**Association of Official Analytical Chemists**) method. 1994.

ALMEIDA, Robson Ferreira de et al. Influência da temperatura de refrigeração sobre as características químicas do mamão cv. "Golden". **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. vol.26, n. 3, jul./set., Campinas: SP, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução normativa no 12, de 4 de setembro de 2003. Aprova o regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade gerais para suco tropical; os padrões de identidade e qualidade dos sucos tropicais de abacaxi, acerola, cajá, caju, goiaba, graviola, mamão, manga, mangaba, maracujá e pitanga; e os padrões de identidade e qualidade dos néctares de abacaxi, acerola, cajá, caju, goiaba, graviola, mamão, manga, maracujá, pêssego e pitanga. **Diário Oficial** [da] República Federativa do Brasil, 9 set. 2003

CAMPBELL, C. L. & MADDEN, L. V. **Introduction to Plant Disease 1 Epidemiology**. New York, NY, USA, John Wiley and Sons, 1990.

CAMPOS, V.B.; FOGAÇA, T. da S.; ALMEIDA, W.L. de; BARBOSA, J.A.; OLIVEIRA, M.R.T. de; GONDIM, S.C.; CAVALCANTE, L.F. Caracterização física e química de frutos de maracujá-amarelo comercializados em Macapá, Amapá. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Macapá, v.15, p.27-33, 2013.

CITADIN, C. T.; TUPINAMBÁ, D.D.; COSTA, A. M.; COHEN, K. O; PAES, N.S.; SOUSA, H.; N.; FALEIRO, F. G.; CAMPOS, A. V. S.; SANTOS, A. L. B.; SILVA, K.N.; FARIA D.A.; COELHO, A. A.; OLIVEIRA, E. M. S.; RESENDE, E. D.; THIÉBAUT, J. T. L.. Dimensionamento amostral para a caracterização da qualidade pós-colheita do maracujá-amarelo. **Revista Ceres**, v.58, p.23-28, 2011.

COELHO, A. A.; CENCI, S. A.; RESENDE, E. D. de. Qualidade do suco de maracujá-amarelo em diferentes pontos de colheita e após o amadurecimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.34, n.3, p.722- 729 2010.

CHAVES, J. B. P. **Noções de microbiologia e conservação de alimentos**. Viçosa: UFV, 1993.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manejo**. Lavras: ESAL/FAEPE, 320p, 1990.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA, 785p, 2005

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: Glossário**. Lavras: Editora UFLA, 256p, 2006.

EMATER - EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL
Informativo da agência Goiana de assistência técnica, extensão rural e agropecuária. Goiás, 01 jan. 2012. Disponível em: <http://www.emater.go.gov.br/wp-content/uploads/boletim_online/pdf/Ed.%2031%20-%2001-01%20a%2015-01-12.pdf>. Acesso em: 06 abr. 2014.

FAO – **Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação**. Disponível em: . Acesso: 10 março 2014.

FREITAS RS, STEINDORFF AS, RAMADA MHS, DE SIQUEIRA SJL, NORONHA EF, ULHOA CJ,. Cloning and characterization of a protein elicitor Sm1 gene from *Trichoderma harzianum*. **Biotechnol Lett** 36:783–788, 2014.

FRISCHMANN A, NEUDL S, GADERER R, BONAZZA K, ZACH S, GRUBER S, SPADIUT O, FRIEDBACHER G, GROTHE H, SEIDL-SEIBOTH V,. Self-assembly at air/water interfaces and carbohydrate binding properties of the small secreted protein EPL1 from the fungus *Trichoderma atroviride*. **The Journal of Biological Chemistry** **288**: 4278-4287, 2012.

GAUR , R.B.; SHARMAM, r.n. Biocontrol of root rot in cotton and compatibility of potential bioagents with fungicides. **Indian Journal of Plant Protection**, v.38, p.176-182, 2010.

GOMES EV, COSTA MN, DE PAULA RG, AZEVEDO RC, DA SILVA FL, NORONHA EF, ULHOA CJ, MONTEIRO VN, CARDOZA RE, GUTIÉRREZ S, SILVA RN,. The Cerato-Platanin protein Epl-1 from *Trichoderma harzianum* is involved in mycoparasitism, plant resistance induction and self-cell wall protection. **Scientific Reports**, 5:17998, DOI: 10.1038/srep17998, 2015

HORN, Daniella Simantob. **Propriedades nutricionais do maracujá**. 2014. Disponível em: <<http://www.nutricaoeacao.com.br/propriedades-nutricionais-do-maracujá/>>. Acesso em 06 julho. 2016.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção agrícola municipal : culturas temporárias e permanentes**. Rio de Janeiro: IBGE, v. 37, 91p, 2013.

JIMENÉZ, A.M. Physicochemical characterisation of gulupa (*Passiflora edulis* Sims *edulis*) fruit from Colombia during the ripening. **Food Research International**, 44: 1912–1918., 2011.

LAMDAN, N.L., SHALABY, S., ZIV, T., KENERLY, C.M., HORWITZ, B.A., **Secretome of Trichoderma interacting with maize roots: role in induced systemic resistance**. Mol. & Cell. Proteomics 14:1054-1063, 2015.

LIMA, G.; ARRU, S.; DE CURTIS, F.; ARRAS, G. **Influence of antagonist, host fruit and pathogen on the biological control of postharvest fungal diseases by yeasts**. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, Hampshire, v.23, n.3, p.223-229, 1999.

KLUGE, R. A.; NACHTIGAL, J. C.; FACHINELLO, J. C.; BILHALVA, A. B. **Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado**. Campinas-SP. ed. 2.: Livraria e Editora Rural Ltda., 214p.,2002.

KRAMER, A. Fruits and Vegetables. In: e TWIGG, B.A. **Quality Control for the Food Industry**. Connecticut: Avi Publishing Company, V. 2, p. 157 – 227, 1973.

MACHADO, A.V.; BARBOSA, L.S; MACEDO, J.L.; SANTOS, C.M. Estudo da secagem de frutos tropicais do Nordeste. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró – RN, v.9, n.1, p.186-190, jan-mar, 2014.

MACHADO, S. S. **Caracterização física e físico-química de frutos de maracujá amarelo provenientes da região de Jaguaquara - Bahia**. *Magistra*, v. 15, n. 2, p. 229-223, 2003.

MARI, M.; GUIZZARDI, M. **The postharvest phase: Emerging technologies for the control of fungal diseases**. *Phytoparasitica*, Bet Dagan, v.26, n.1, p.59-66, 1998.

MARTÍNEZ-MEDINA, A., ALGUACIL, M.D.M., PASCUAL, J.A., WEES, S.C.M.V., **Phytohormone profiles induced by Trichoderma isolates correspond with their biocontrol and plant growth-promoting activity on melon plants**. *J. Chem. Ecol.* 40 (7): 804-815, 2014.

MATSUURA, F. C. A. U.; FOLEGATTI, M. I. S.; **Maracujá. Pós-colheita. Embrapa Mandioca Fruticultura** (Cruz das Almas, BA). - Brasília: Embrapa Tecnológica, 2002. 51 p. Informação Tecnológica, ,51p, 2002.

MEDEIROS, S.A.F.; PIRES, M.C.; YAMANISHI, O. K.; RIBEIRO, J.B.G.L.; PEIXOTO, J.R.; NILTON, T. V. J.; **Caracterização físico-química de progênies de maracujá-azedo cultivados no distrito federal**. **Rev. Bras. Fruticultura.**, Jaboticabal - SP, v. 31, n. 2, p. 492-499, Junho 2009.

MELETTI, L. M. M.; BERNACCI, L. C.; SOARES-SCOTT, M. D.; AZEVEDO FILHO, J. A.; MARTINS, A. L. M. Variabilidade genética em caracteres morfológicos, agronômicos e citogenéticos de populações de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis). **Rev. Bras. Frutic.**, v. 25, n. 2, p. 275-278, 2003.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; MARTINS, F. P. Caracterização de germoplasma de *Passiflora* I: *Passiflora amethystina* e *Passiflora cincinnata*. In: **SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS**, 1., 1997, Campinas. **Resumos**. Campinas: IAC, 1997. p. 73-74.

NASCIMENTO, T.B. do; RAMOS, J.D.; MENEZES, J.B. Características físico-químicas do maracujá amarelo produzido em diferentes épocas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 2, n. 1, p. 59-63, 2009.

PICCININ, E.; DI PIERO, R.M.; PASCHOLATI, S.F. Efeito de *Saccharomyces cerevisiae* na produtividade de sorgo e na severidade de doenças foliares no campo.30 **Fitopatologia Brasileira**, v, p.5-9, 2005.

PINHEIRO, A.M; FERNANDES, A.G.; FAI, A.E.C.; PRADO, G.M.; SOUSA, PH.M; MAIA, G.A. Avaliação química, físico-química e microbiológica de sucos de frutas integrais: abacaxi, caju e maracujá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 26 (1): 98-103, 2006

RAO, G.S., REDDY, N.N.R., SUREKHA, C.H.,. Induction of plant systemic resistance in legumes *Cajanus cajan*, *Vignaradiata*, *Vigna mungo* against plant pathogens *Fusarium oxysporum* and *Alternaria alternata* – a *Trichoderma viride* mediated reprogramming of plant defense mechanism. **Int. J. Recent Sci. Res.** 6 (5): 4270-4280, 2015

RAMADA MH, STEINDORFF AS, BLOCH C JR, ULHOA CJ, **Secretome analysis of the mycoparasitic fungus *Trichoderma harzianum* ALL 42 cultivated in different media supplemented with *Fusarium solani* cell wall or glucose. *Proteomics*. doi: 10.1002/pmic.201400546, 2015.**

RODRIGUES, A. C.; CAVALCANTE, L. F.; DANTAS, T. A. G.; CAMPOS, V. B.; DINIZ, A. A. **Caracterização de frutos de maracujazeiro-amarelo em solo tratado com biofertilizante supermagro e potássio.** *Magistra*, Cruz das Almas, v. 20, p. n. 3, p.264-272, 2008.

ROCHA, M. C.; SILVA, A. L. B.; ALMEIDA, A.; COLLAD, F. H. Efeito do uso de biofertilizante agrobio sobre as características físico-químicas na pós-colheita do maracujá-azedo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) no município de Taubaté. **Revista Biociências**, Taubaté, v. 7, n. 2, p. 7-13, 2001.’

SAS. **Statistical Analysis Systems User's Guide**. Version 2001, SAS Institute, Cary, NC, 2001.

SALAS-MARINA, M.A., ISORDIA-JASSO, M., ISLAS-OSUNA, M.A., DELGADO-SÁNCHEZ, P., JIMÉNEZ-BREMONT, J.F., RODRÍGUEZ-KESSLER, M., ROSALES-SAAVEDRA, M.T., HERRERAESTRELLA, A., CASAS-FLORES, S., **The Epl1 and Sm1 proteins from *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma virens* differentially modulate systemic disease resistance against different life style pathogens in *Solanum lycopersicum***. *Front. Plant Sci.* 6: (77). doi: 10.3389/fpls.2015.00077, 2015.

SALAS-MARINA MA, ISORDIA-JASSO M, ISLAS-OSUNA MA, DELGADO SÁNCHEZ P, JIMÉNEZ- BREMONT JF, RODRÍGUEZ-KESSLER M, ROSALES-SAAVEDRA MT, HERRERA-ESTRELLA A, CASAS- FLORES S, **The Epl1 and Sm1 proteins from *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma virens* differentially modulate systemic disease resistance against diferente life style pathogens in *Solanum lycopersicum***. **Frontiers in Plant Science** 6: (77). doi: 10.3389/fpls.2015.00077, 2015.

SILVA, T. T.; DELLA MODESTA, R. C.; PENHA, E. M.; MATTA, V. M.; CABRAL, L. M. C. Suco de maracujá orgânico processado por microfiltração. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.4, p.419-422, 2005.

SINGH, B.N., SINGH, A., SINGH, B.R., SINGH, H.B., 2014. ***Trichoderma harzianum* elicits induced resistance in sunflower challenged by *Rhizoctonia solani***. *J. App. Microbiol.* 116 (3): 654–666.

VIANNA-SILVA, T., RESENDE, E.D., VIANA, A.P., CARRIELO, R.C., PEREIRA, S.M.F., CARLOS, L.A., & VITORAZI, L. **Influência dos estádios de maturação sobre as características físicas dos frutos de maracujá-amarelo**. *Bragantia*, 67: 521-525.2008.

VOS, C.M.F., DE CREMER, K., CAMMUE, B.P.A., DE CONINCK, B., **The toolbox of *Trichoderma* spp. in the biocontrol of *Botrytis cinerea* disease**. **Mol. Plant Pathol.** 16(4): 400–412, 2015.

WIJESINGHE, C.J., WIJERATNAM, R.S.W., SAMARASEKARA, J.K.R.R., WIJESUNDERA, R.L.C., **Development of a formulation of *Trichoderma asperellum* to control black rot disease on pineapple caused by (*Thielaviopsis paradoxa*)**. Crop Protection 30(3): 300– 306, 2011.

ZERAIK, M. L. et al. Maracujá: um alimento funcional? **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.20, p.459-471, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2010000300026>>. Acesso em: 06 julho. 2016

Capítulo III

**CONTROLE BIOLÓGICO DE *Colletotrichum*
gloeosporioides IN VITRO E EM FOLHAS
DESTACADAS DE MARACUJAZEIRO
AMARELO (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*)**

Araújo, A.K.O. **Controle biológico de *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro e em folhas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*)**. Areia: CCA/UFPB, 2015. (Dissertação de Mestrado em Agronomia), 70paginas.

RESUMO

O maracujazeiro amarelo é acometido de muitas doenças que causam prejuízos econômicos, destacando-se as de origem fúngica, como antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.). Apesar da importância deste patógeno para a cultura, são poucas as informações relacionadas ao estudo do mesmo, *in vitro*. O objetivo do trabalho foi avaliar o controle de *C. gloeosporioides* pela quantificação do crescimento micelial do patógeno e da severidade da doença em folhas destacadas de plantas de maracujazeiro amarelo tratadas com *Trichoderma asperellum* e *Sacharomyces cerevisiae*. Os tratamentos utilizados foram água destilada esterilizada (ADE) (T1); 4 concentrações de *S. cerevisiae* (T2) e *T. asperellum* (T3), 0,5%, 1%, 1,5%, e 2% e o fungicida mancozebe (T4) na concentração de 2,0 g/L. Na avaliação do crescimento micelial *in vitro* foram utilizadas colônias puras de *C. gloeosporioides* com 7 dias de idade, incubadas em meio BDA suplementado com os tratamentos descritos. O ensaio foi conduzido com dez tratamentos de cinco repetições, com 3 placas por repetição. A avaliação foi realizada diariamente, com mensurações dos raios das colônias do patógeno com as concentrações dos tratamentos com régua graduada em milímetros em dois sentidos diametralmente opostos. Na avaliação da severidade da doença em folhas destacadas, utilizaram-se folhas de maracujazeiro amarelo com aproximadamente 7 cm de diâmetro. Cada parcela útil foi composta por três discos de folhas dispostos em uma placa de Petri. A inoculação nas folhas foi realizada pela pulverização com borrifador manual de suspensão de esporos de *C. gloeosporioides* na concentração de 10^5 esporos.mL⁻¹. Determinou-se o período de latência através de monitoramento diário da severidade da doença. Para a inibição do crescimento micelial *in vitro*, as concentrações de 1,5% e 2%, de *S. cerevisiae* proporcionaram maior efeito fungitóxico. A maior inibição da severidade em folhas foi observada nos tratamentos com *S. cerevisiae* a 1% e 2%; *T. asperellum* a 2% e fungicida Mancozebe.

Palavras chaves: Antracnose, *Sacharomyces cerevisiae*, *Trichoderma asperellum*, crescimento micelial, severidade.

Araujo, A. K.O. **Biological Control of *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro and in Leaves of Yellow Passion Fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*)** Sims Sand: CCA / UFPB, 2015. (Dissertation in Agronomy), 70 pages.

ABSTRACT

The yellow passion fruit is afflicted with many diseases that cause economic losses, especially those of fungal origin, such as anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.). Despite the importance of this pathogen to culture, there is little information related to the study of the same in vitro. The objective was to evaluate the control *C. gloeosporioides* by quantifying the mycelial growth of the pathogen and the severity of anthracnose yellow passion fruit in detached leaves treated with *Trichoderma asperellum* and *Saccharomyces cerevisiae*. The treatments were used sterile distilled water (SDW) (T1); 4 concentrations of *S. cerevisiae* (T2) and *T. asperellum* (T3) 0.5%, 1%, 1.5% and 2% and mancozeb fungicide (T4) at a concentration of 2.0g / L. In the assessment of mycelial growth in vitro were used pure colonies of *C. gloeosporioides* 7-day-old incubated on PDA medium added with the described treatments. The test was conducted with ten treatments of five replications with 3 plates by repetition.. The evaluation was conducted daily with measurements of radio of pathogen colonies in two diametrically opposite directions . In disease severity evaluation was used leaves of yellow passion fruit, with approximately 7 cm in diameter. Each useful plot consisted of three discs arranged leaves in a Petri dish. The inoculation the leaf was carried out by spraying with spray suspension manual *C. gloeosporioides* spores at a concentration of 10^5 esporos. mL⁻¹. It was determined the latency period by daily monitoring of disease severity. For in vitro inhibition of mycelial growth, the concentrations of 1.5% and 2%, *S. cerevisiae* showed higher fungitoxic effect in concentrations of various treatments assessed. The greatest inhibition of severity in leaves was observed in treatments with *S. cerevisiae* at 1% and 2%; *T. asperellum* 2% and fungicide Mancozeb.

Key words: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichoderma asperellum*, mycelial growth, detached leaves

INTRODUÇÃO

Dentre as principais doenças que acometem a cultura do maracujazeiro amarelo, pode-se destacar a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) como uma doença que ataca todos os órgãos da parte aérea, causando apodrecimento nas folhas, frutos e órgãos reprodutivos) ou crestamento nas folhas e ramos (NASCIMENTO et al., 2004; FISCHER et al., 2005).

Os prejuízos causados pelo uso frequente de produtos químicos, para controlar doenças de plantas, motivam a busca de métodos alternativos de controle. Agentes de controle biológico e indutores de resistência bióticos e abióticos são alternativas ao uso de pesticidas (PERAZZOLLI et al., 2008).

As espécies de *Trichoderma* são os microrganismos mais utilizados como agentes de biocontrole de fungos fitopatogênicos (INCH et al., 2011; WIJESINGHE et al., 2011; MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2014). Estes organismos são considerados agentes de biocontrole de diversos fitopatógenos. (BELETE et al., 2015; EL-KOMY et al., 2015; KOTASTHANE et al., 2015; RAO et al., 2015; TALLA et al., 2015; VOS et al., 2015). Alguns são conhecidos também pela sua capacidade de induzir a resistência sistêmica contra doenças bem como fatores de crescimento de plantas (SINGH et al., 2014; LAMDAN et al., 2015; RAO et al., 2015; SALAS-MARINA et al., 2015; VOS et al., 2015).

Em estudos realizados para o controle biológico de doenças de plantas destacam-se também as leveduras, em especial as do gênero *Saccharomyces*, que tem sido utilizadas no controle de doenças de diversas espécies de plantas. (ANTONIOLLI et al., 2011; MELLO et al., 2011; MÜLLER, 2011).

Considerando-se a necessidade de substituir o controle químico de patógenos por alternativas que não prejudiquem o homem e meio ambiente, objetivou-se no presente trabalho determinar a eficiência dos tratamentos biológicos, *Trichoderma asperelum* e *Saccharomyces cerevisiae* no controle biológico de *C. gloeosporioides* in vitro e em folhas destacadas de maracujazeiro amarelo.

MATERIAL E METODOS

Local do experimento

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia, Centro de Ciências Agrárias - CCA, Universidade Federal da Paraíba – UFPB em Areia, PB.

Isolamento e multiplicação do patógeno

Os isolados de *C. gloeosporioides* foram obtidos de frutos de maracujazeiro amarelo apresentando sintomas típicos da antracnose, como lesões arredondadas, e necróticas, oriundos da Central de Abastecimento da Secretaria de Agricultura (CEASA) de Campina Grande, PB.

Foram retirados fragmentos das lesões com aproximadamente 1,0 cm de diâmetro, na região limítrofe entre a área lesionada e a área sadia. Esses fragmentos foram desinfestados em álcool a 70% por 1 minuto depois foram colocados em solução de hipoclorito de sódio a 5% por 1 minuto, em seguida lavados com água destilada e esterilizada (ADE) e em papel de filtro esterilizado. Os fragmentos de lesões foram transferidos para as placas de Petri (9 cm de diâmetro), contendo o meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e incubados durante oito dias em condições ambiente (25 ± 2 °C e UR de $65 \pm 1\%$), até o surgimento de estruturas vegetativas e reprodutivas do fungo.

Foi utilizado um disco de 7 mm de diâmetro da colônia fúngica por placa, sendo incubado no centro das placas com BDA, nas condições anteriormente descritas, até o crescimento do fungo, para obtenção de colônias puras a serem utilizadas em ensaios posteriores.

Avaliação de inibição do crescimento micelial *in vitro*

Foram retirados individualmente de colônias puras, discos com 7 mm de diâmetro de *C. gloeosporioides* cultivados em meio batata-dextrose-ágar (BDA) e incubados individualmente em placas de Petri contendo o meio BDA com os tratamentos diluídos no mesmo.

Os tratamentos utilizados foram ADE (T1); 4 concentrações de (T2) *S. cerevisiae* e (T3) *T. asperellum*, 0,5%, 1%, 1,5%, e 2% e (T4) fungicida mancozebe na dose de 2,0g/L.

Após a aplicação dos tratamentos ocorreu a incubação do fungo, onde o mesmo foi realizado em temperatura ambiente 25 °C com fotoperíodo de 12 h de claro e escuro.

A variável analisada foi percentagem de inibição micelial, onde as avaliações foram realizadas diariamente durante 7 dias, mediante o uso de paquímetro digital, com mensurações diametralmente opostas na placa, sendo aferida a média.

Foram utilizados três placas de Petri por concentração utilizada dos tratamentos comparando-os com a testemunha ADE e o fungicida Mancozebe.

Controle biológico em folhas destacadas de maracujazeiro amarelo

As folhas de maracujazeiro sadias, utilizadas na pesquisa foram oriundas de plantas localizadas na fazenda experimental Chã de Jardim, da Universidade Federal da Paraíba, município de Areia (6°51'47", 7°02'04"S, 35°34'13" e 35°48'28"W). As folhas de maracujazeiro amarelo foram coletadas, utilizando-se de uma tesoura de poda, identificadas por tratamento, acondicionadas em caixas isotérmicas, desinfestadas pela imersão em solução de hipoclorito de sódio a 5% por dez minutos e posteriormente lavadas em água destilada e secas à temperatura ambiente.

O antagonista *S. cerevisiae* foi obtido a partir de fermento biológico industrial e *T. asperellum* foi obtido através do produto comercial Quality® WG, do Grupo Farroupilha.

Os tratamentos utilizados foram constituídos pela testemunha com frutos tratados apenas com água destilada esterilizada (ADE) (T1); 4 concentrações de produto a base de (T2) *S. cerevisiae* e 4 de (T3) *T. asperellum* a 0,5%, 1%, 1,5%, e 2%, diluídos em ADE e (T4) fungicida Mancozebe na dose de 2,0 g/L, recomendada pelo fabricante.

Três discos de folhas, de aproximadamente 7 cm de diâmetro, foram retirados com auxílio de um perfurador manual flambado, depositados em placas de Petri contendo dupla camada de papel de filtro umedecidos com ADE.

Os tratamentos foram aplicados nas folhas em ambas às faces destacadas do maracujazeiro, com auxílio de uma seringa estéril (5 mL) e as mesmas foram mantidas

em temperatura ambiente de $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ por seis dias; com alternância luminosa de 12 h de claro e escuro. Determinou-se o período de latência através de monitoramento diário, para identificação do surgimento dos primeiros sinais e sintomas da doença.

As variáveis analisadas foram Diâmetro médio das lesões, onde as análises foram feitas ao final do período de seis dias mensurando-se o tamanho das lesões presentes na superfície foliar de cada disco de folha.

Avaliou-se a AACPD, a partir dos dados de incidência da doença, relativo à porcentagem de folhas com sintomas e intensidade da doença, avaliadas pelo diâmetro médio das lesões.

O cálculo da AACPD foi realizado pelo método da integralização trapezoidal (CAMPBELL; MADDEN, 1990)) usando a seguinte fórmula.

:

$$\sum_{1}^{n-1} \left(\frac{y_1 + y_{1+1}}{2} \right) (t_{1+1} - t_1)$$

,em que: n = número de avaliações, y = intensidade da doença, t = tempo quando da avaliação da intensidade da doença, $(y_i + y_{i+1})$ = altura média do retângulo entre os pontos y_i e y_{i+1} , $t_{i+1} - t_i$ = diferença da base do retângulo entre os pontos t_{i+1} e t_i .

Delineamento Experimental

O delineamento utilizado foi Inteiramente Casualizado (DIC), dispostos em fatorial de 2 tratamentos x 4 concentrações x 5 repetições mais dois tratamentos adicionais compostos pela, testemunha negativa e controle positivo para crescimento micelial e avaliação da severidade em folhas destacadas. Cada placa de Petri com o fungo crescido em BDA ou com três discos de folhas foram considerados como uma repetição.

O software SAS foi utilizado na avaliação estatística dos resultados. Os dados de crescimento micelial e severidade nas folhas destacadas forma analisados por meio de regressão em parcelas subdivididas no tempo pelo programa SISVAR[®]. As médias foram comparadas entre si pelo teste de Skot-Knott a 5% de probabilidade utilizando o SISVAR[®].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 5 pode-se observar que os tratamentos com *S. cerevisiae* apresentaram maior inibição do crescimento micelial, semelhante ao fungicida, com percentuais superiores a 90%.

A mensuração dos dados de crescimento micelial iniciou-se 24h após a inoculação do patógenos nos discos de folhas destacados e tratados com *S. cerevisiae* e *T. asperellum* sendo medido até o sexto dia de crescimento, período em que a colônia fúngica ocupou todo o diâmetro linear da placa de Petri. (Figura 5)

As melhores condições de inibição do crescimento micelial ocorreram nos tratamentos com *S. cerevisiae* a 0,5%, 1,5% e a 2% e o fungicida mancozebe, no entanto não houveram diferenças entre as concentrações avaliadas, a saber: 91,24%, 96,12%, 97,19% e 98,58 de inibição.

Os meios acrescidos de *T. asperillum* não foram eficazes na inibição de *C. gloeosporioides* com observação para o tratamento com *T. asperellum* a 2%, que contribuiu para acelerar o crescimento micelial do fungo *C. gloeosporioides* com o valor de 2,33% (Figura 6).

Diversos estudos têm mencionado variação de sensibilidade dos fungos fitopatogênicos a metabólitos produzidos por antagonistas (DUFFY et al (2003). e também em função dos compostos antifúngicos secretados (LORITO et al 2010).

Živković et al. (2010) e Prasad; Kumar (2011) demonstraram que metabólitos antimicrobianos produzidos por *Trichoderma* são eficazes contra uma ampla gama de fitopatógenos fúngicos, como *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Curvularia luneta*.

Já Odebode; Sobowale (2001) constataram de moderada a forte atividade antagonista em espécies de *Trichoderma* contra os patógenos em pós-colheita causadores da podridão em frutos de pimenta (*Capsicum annum* L.).

Louzada et al., (2009) se referiram às espécies de *T. asperellum* como parasitas de uma ampla gama de fitopatógenos, a despeito da maioria dos agentes empregados no biocontrole de doenças de plantas apresentarem certo grau de especialização.

Segundo Bomfim et al. (2010) a menor ação antagônica nesses tratamentos pode ser resultado de uma maior competição pelos nutrientes do meio, ou uma menor produção de protease e cisteína, enzimas produzidas pelas espécies de *Trichoderma* que inativam a capacidade enzimática do fitopatógeno.

Na realidade, os mecanismos empregados pelos agentes de biocontrole são muitos complexos e sua ação varia de acordo com o tipo de agente de biocontrole, do patógeno e da planta hospedeira envolvida na interação (HOWELL, 2003).

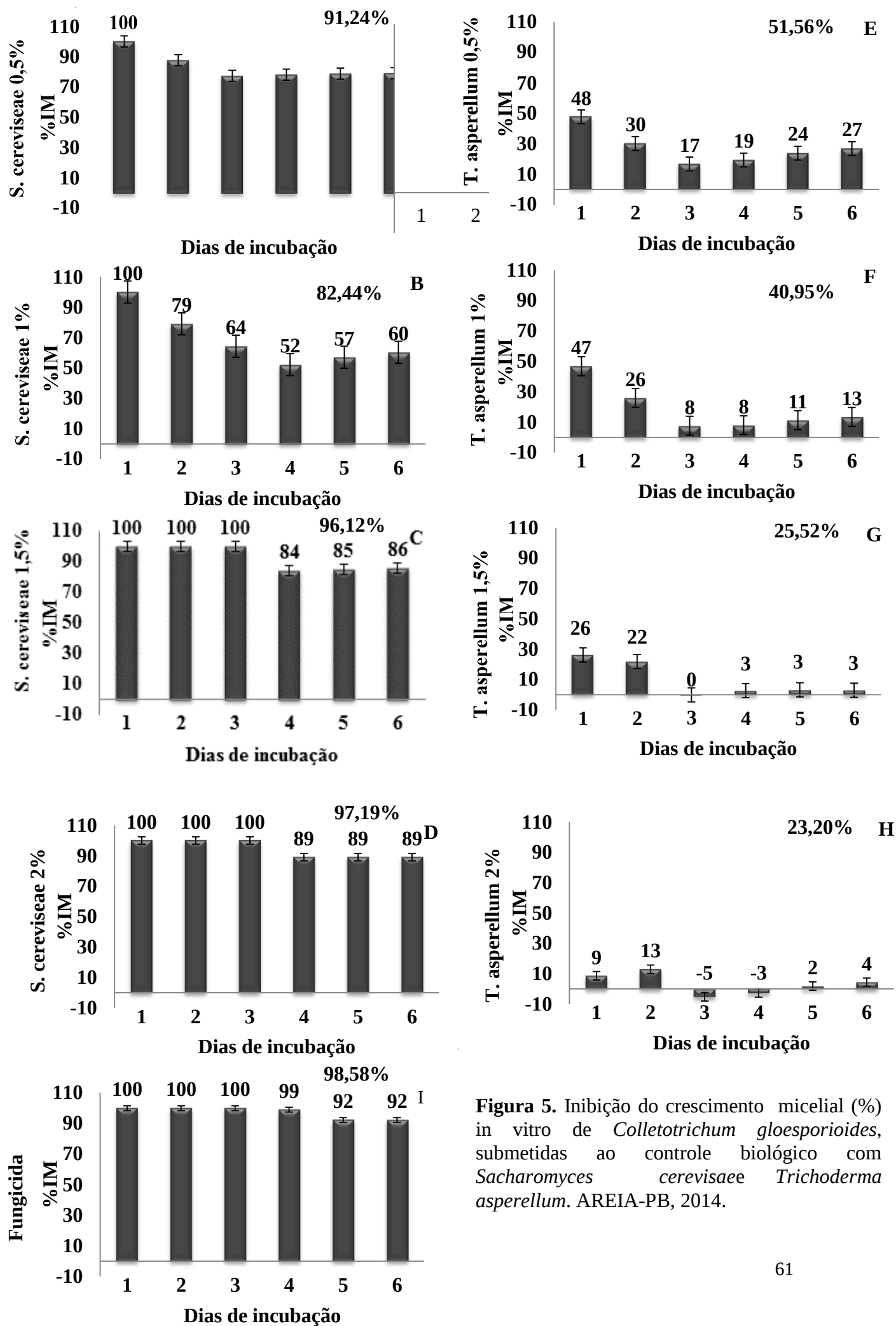


Figura 5. Inibição do crescimento micelial (%) in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides*, submetidas ao controle biológico com *Sacharomyces cerevisiae* *Trichoderma asperellum*. AREIA-PB, 2014.

Analisando os resultados obtidos para AACPD em discos de folhas de maracujazeiro destacadas, em relação aos sintomas causados por *C. gloesporioides* é possível afirmar que os tratamentos com antagonistas e fungicida reduziram a severidade da doença quando comparados com a testemunha (Figura 6) com níveis significativos de redução de diâmetro da doença nas folhas para todos os tratamentos.

Observou-se que os tratamentos com *S. cerevisiae* e *T. asperellum* a 2%, não diferiram estatisticamente, além do fungicida onde foram eficientes no controle de *C. gloesporioides*, reduzindo a AACPD com valores de 174,12; 169,12 e 159,75, respectivamente (Figura 6).

Há relatos de sucesso no uso de *S. cerevisiae* no progresso da mancha de *Exserohilum turcicum* em sorgo (*Sorghum bicolor* L., Moench) (PICCININ et al., 2005). Lopez (1991) demonstrou que plantas de sorgo pré-tratadas com o *S. cerevisiae* apresentaram aumento no acúmulo de compostos fenólicos, sugerindo que a levedura pode modificar o metabolismo da planta no sentido de induzir resistência contra o patógeno.

Existem produtos comerciais que contêm elicitores derivados da parede celular de *S. cerevisiae* na sua composição. Alguns desses produtos estão registrados como biofertilizantes e têm mostrado efeitos positivos no controle de doenças em plantas quando utilizados em conjunto com fungicidas tradicionais (TOSUN, 2012).

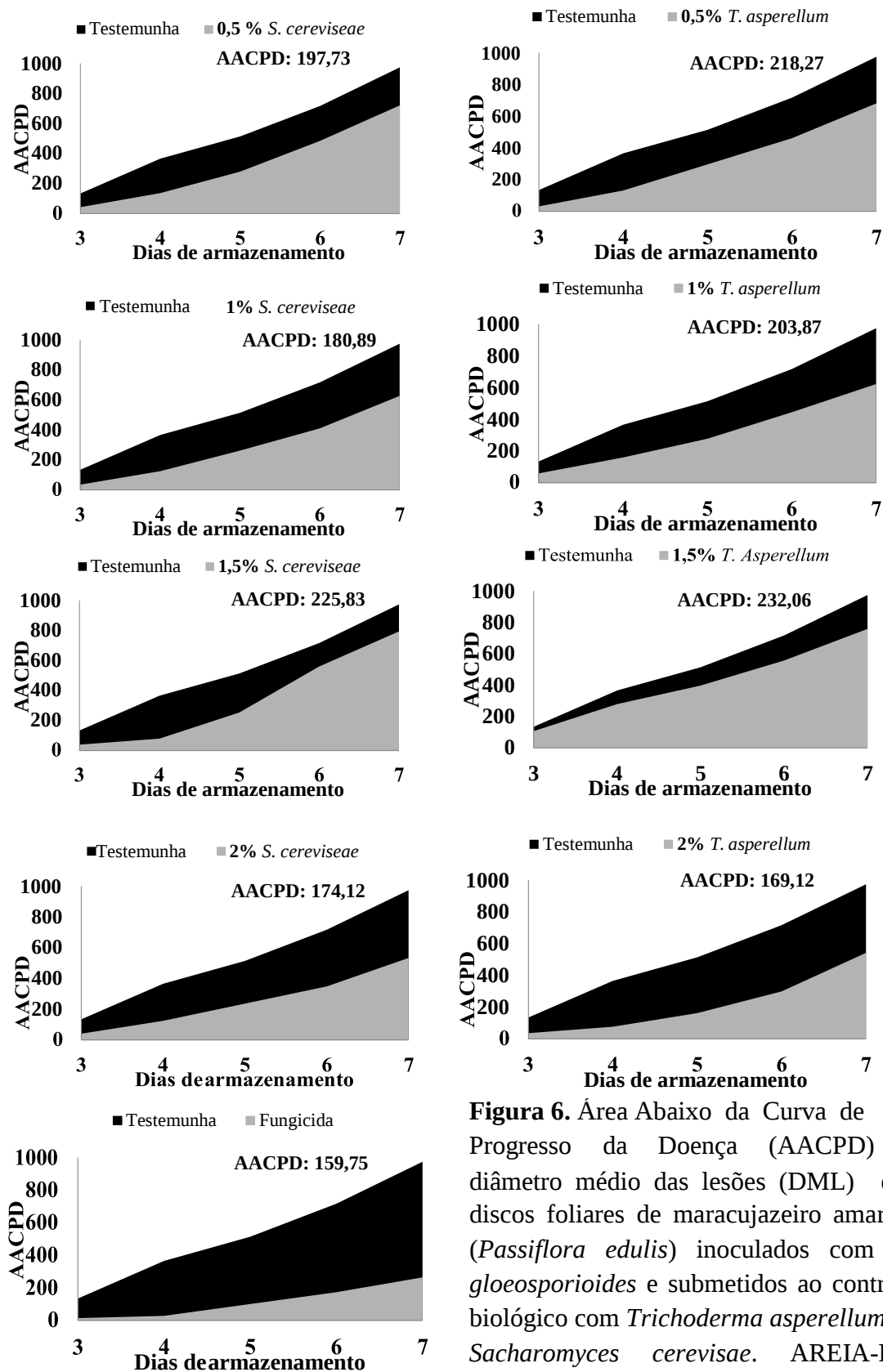


Figura 6. Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) e diâmetro médio das lesões (DML) em discos foliares de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis*) inoculados com *C. gloeosporioides* e submetidos ao controle biológico com *Trichoderma asperellum* e *Sacharomyces cerevisiae*. AREIA-PB,

O tratamento biológico com *T. asperillum* a 2% foi o mais eficiente na redução das lesões e na AACPD nos discos de folhas com 169,12% de controle de antacnose em relação aos demais tratamentos.

O potencial de *Trichoderma* spp., como agentes de biocontrole, é conhecido há mais de 60 anos, e muitos isolados são simbiossiontes de plantas e podem atuar no controle de fitopatógenos (BROTMAN et al., 2010). As espécies do gênero *Trichoderma* estão entre os antagonistas mais estudados, pois são encontradas naturalmente em quase todos os tipos de solo e agem contra fitopatógenos por diferentes mecanismos de ação como antibiose, micoparasitismo, produção de enzimas degradadoras de parede celular, competição por nutrientes e substrato, promoção do crescimento das plantas e indutores de resistência contra diversos patógenos, com efeitos benéficos para as plantas (VINALE et al., 2008).

A variedade e o número de compostos encontrados no metabolismo de espécies de *Trichoderma* são surpreendentemente altos e incluem enzimas líticas e hormônios, além de muitos metabólitos secundários com importantes funções biológicas (LORITO, et al., 2010.), sendo porém a antibiose considerada um dos principais mecanismos de ação desses microrganismos (REINO, et al., 2008).

Os resultados da AACPD observados em discos foliares de maracujazeiro destacados e inoculados com o patógeno apresentaram resposta positiva para diminuição do progresso da doença para *S. cerevisiae* e *T. asperillum* a 2%.

Este fenômeno está associado ao aumento da capacidade da planta para uma ativação das respostas de defesa celular, as quais são induzidas somente após o contato com o patógeno desafiante resultando em diferentes níveis de controle (KUHN; PASCHOLATI, 2010).

De acordo com Yedidia et al., (2003) utilizando o tratamento com *T. harzianum* no solo e a inoculação do patógeno nas folhas, que resultou na redução da mancha-angular nas folhas de pepino (*Cucumis sativus* L.), evidenciou a ocorrência de indução de resistência sistêmica nesse patossistema. Segarra et al. (2009) em estudos realizados em *Arabidopsis thaliana*, com o isolado T-34 de *T. asperillum* para induzir resistência contra *P. syringae* pv. *tomato*, foi observado que as plantas tratadas apresentaram menos sintomas de doença do que as plantas controle.

A aplicação dos metabólitos de *Trichoderma*, obtidos via cultivo massal desses fungos ou por meio de síntese química, pode viabilizar a obtenção de novos biofertilizantes e biopesticidas baseado em compostos bioativos. Isto tem um efeito

benéfico significativo no impacto sobre o manejo de doenças em plantas (VINALE et al. 2009).

CONCLUSÃO

As concentrações 1,5% e 2% foram as mais eficientes no controle de *C. gloeosporioides* in vitro e a severidade da doença em folhas destacadas foi reduzida pela concentração de 2% de *S. cerevisiae* e de *Trichoderma*.

REFERENCIAS

- ANTONIOLLI, L. R.; SILVA, G. A.; ALVES, S. A. M.; MORO, L. Controle alternativo de podridões pós-colheita de framboesas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.9, p.979-984. 2011.
- BELETE, E., AYALEW, A., AHMED, S. Evaluation of local isolates of *Trichoderma* Spp. against black root rot (*Fusarium solani*) on faba bean. **J. Plant Pathol. Microb.** 6(6): 279. doi:10.4172/2157-7471.1000279, 2015.
- BOMFIM, M.P. *et al.* **Avaliação antagônica in vitro e in vivo de Trichoderma spp. a Rhizopus stolonifer em maracujazeiro amarelo.** *Summa Phytopathol*, v.36, n.1, p.61- 67, 2010.
- BROTMAN, Y.; GUPTA, K.J.; VITERBO, A. *Trichoderma*. **Current Biology**, v.20, p.R390-R391, 2010.
- CAMPBELL, C. L. & MADDEN, L. V. **Introduction to Plant Disease 1 Epidemiology.** New York, NY, USA, John Wiley and Sons, 1990.
- EL-KOMY, M.H., SALEH, A.A., ERANTHODI, A., MOLAN, Y.Y., Characterization of novel *Trichoderma asperellum* isolates to select effective biocontrol agents against tomato *Fusarium* wilt. **Plant Patholol. J.** 31(1): 50-60, 2015.
- FISHER, I.H.; KIMATI, H.; REZENDE, J.A.M. Doenças do maracujazeiro. In: KIMATI, H.; AM FISHER, I.H.; KIMATI, H.; REZENDE, J.A.M. Doenças do maracujazeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.) **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas.** Piracicaba: Agronômica Ceres, p.467-474. 2005.
- INCH, S., WALKER, D.J., GILBERT, J., DAAYF, F., FERNANDO, W.G.D., PIERCEY-NORMORE, M., The development of a model to predict the potential efficacy of *Trichoderma harzianum* isolates on perithecial production of *Gibberella zeae* based on secondary metabolite production. **Can. J. Plant Pathol.** 33(3): 337-346, 2011.

LAMDAN, N.L., SHALABY, S., ZIV, T., KENERLY, C.M., HORWITZ, B.A. Secretome of *Trichoderma* interacting with maize roots: role in induced systemic resistance. *Mol. & Cell. Proteomics* 14:1054-1063, 2015.

LOPEZ, A.M.Q. **Controle alternativo da antracnose causada por *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. em sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench)** (Dissertação de Mestrado). Rio Claro. Universidade Estadual Paulista. 1991.

LORITO, M.; WOO, S.L.; HARMAN, G.E.; Monte, E. Translational research on *Trichoderma*: from 'omics to the field. *Annual Review Phytopathology*, Palo Alto, v. 498, p. 395–417, 2010.

LOUZADA, G.A.S. et al. **Potencial antagônico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani***. *Biot. Neotr.*, v.9, n.3, p.145-149, 2009.

MARTÍNEZ-MEDINA, A., ALGUACIL, M.D.M., PASCUAL, J.A., WEES, S.C.M.V., Phytohormone profiles induced by *Trichoderma* isolates correspond with their biocontrol and plant growth-promoting activity on melon plants. *J. Chem. Ecol.* 40 (7): 804-815, 2014.

MELLO, M. R. F.; SILVEIRA, E. B.; VIANA, I. O.; GUERRA, M. L.; MARIANO, R. L. R. Uso de antibióticos e leveduras para controle da podridão-mole em couve- chinesa. **Horticultura Brasileira**, v.29, n.1, p.78-83. 2011.

MÜLLER, S. F. Custo adaptativo da indução de resistência por *Saccharomyces boulardii* em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), Marechal Cândido Rondon, 2011. 43 p. **Dissertação** (Mestrado) Universidade Estadual do Oeste do Paraná. 2011.

NASCIMENTO, A.S.; SOUZA, A.R.R.; ALFENAS, P.F.; ANDRADE, G.P.; CARVALHO, M.G.; PIO-RIBEIRO, G.; ZERBINI, F.M. Análise filogenética de potyvírus causando endurecimento dos frutos do maracujazeiro no Nordeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, p.378-383, 2004.

ODEBODE, A.C.; SOBOWALE, A. Antagonistic activity of fungal flora isolated from pepper phylloplane on post harvest pathogens of pepper (*Capsicum annuum*). **Acta Phytopathol Entomol Hungarica**, v.36, n.1, p.287-292, 2001.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The History and evolution of current concepts. **Plant Disease**, St. Paul, v.87, p. 4-10, 2003.

PRASAD, B.N.; KUMAR, M.R. Effect of non-volatile compounds produced by *Trichoderma* spp. on growth and sclerotial viability of *Rhizoctonia solani*, incitant of sheath blight of rice. **Ind. J. Fund. Appl. Lif. Sci.**, v.1, n.2, p.37-42, 2011.

PERAZZOLLI, M.; DAGOSTIN, S.; FERRARI, A.; ELAD, Y.; PERTOT, I. Induction of systemic resistance against *Plasmopara viticola* in grapevine by *Trichoderma harzianum* T39 and benzothiadizole. **Biological Control**, v.47, p.228-234, 2008.

PICCININ, E.; DI PIERO, R.M.; PASCHOLATI, S.F. Efeito de *Saccharomyces cerevisiae* na produtividade de sorgo e na severidade de doenças foliares no campo. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, p.5-9, 2005.

RAO, G.S., REDDY, N.N.R., SUREKHA, C.H.. Induction of plant systemic resistance in legumes *Cajanus cajan*, *Vignaradiata*, *Vigna mungo* against plant pathogens *Fusarium oxysporum* and *Alternaria alternata* – a *Trichoderma viride* mediated reprogramming of plant defense mechanism. **Int. J. Recent Sci. Res.** 6 (5): 4270-4280, 2015.

REINO, J.L.; GUERRERO, R.F.; HERNÁNDEZ-GALÁN R.; COLLADO, I.G. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. **Phytochemistry Reviews**, New York, v. 7, p. 89–123, 2008.

SALAS-MARINA, M.A., ISORDIA-JASSO, M., ISLAS-OSUNA, M.A., DELGADO-SÁNCHEZ, P., JIMÉNEZ-BREMONT, J.F., RODRÍGUEZ-KESSLER, M., ROSALES-SAAVEDRA, M.T., HERRERA- ESTRELLA, A., CASAS-FLORES, S., The Epl1 and Sm1 proteins from *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma virens* differentially modulate systemic disease resistance against different life style pathogens in *Solanum lycopersicum*.

Front. Plant Sci. 6: (77). doi: 10.3389/fpls.2015.00077, 2015.

SAS INSTITUTE. **Statistical Analysis System: user guide: Stat.** Version 8.2. Cary, 2001.

SEGARRA, G.; VAN DER ENT, S.; TRILLAS, I.; PIETERSE, C.M.J. MYB72, a node of convergence in induced systemic resistance triggered by a fungal and a bacterial beneficial microbe. **Plant Biology**, v.11, p.90-96, 2009.

SINGH, B.N., SINGH, A., SINGH, B.R., SINGH, H.B., *Trichoderma harzianum* elicits induced resistance in sunflower challenged by *Rhizoctonia solani*. **J. App. Microbiol.** 116 (3): 654–666, 2014.

TALLA, S.G., RAJU, A.S.R., KARRI, S., KUMAR, Y.S., Production and antagonistic effect of *Trichoderma* spp. against pathogenic microorganisms (*Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporium*, *Macrophomina phaseolina* and *Rhizoctonia solani*). **Afric. J. Biotechnol.** 14(8): 668-675. 2015.

TOSUN, N. **Disease control with a yeast elicitor in conjunction with fungicides.** (Department of Plant Protection, Ege University, Izmir, Turkey). Flyer. 2012.

VOS, C.M.F., DE CREMER, K., CAMMUE, B.P.A., DE CONINCK, B., The toolbox of *Trichoderma* spp. in the biocontrol of *Botrytis cinerea* disease. **Mol. Plant Pathol.** 16(4): 400–412, 2015.

WIJESINGHE, C.J., WIJERATNAM, R.S.W., SAMARASEKARA, J.K.R.R., WIJESUNDERA, R.L.C., Development of a formulation of *Trichoderma asperellum* to control black rot disease on pineapple caused by (*Thielaviopsis paradoxa*). **Crop Protection** 30(3): 300– 306, 2011.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERT, E.L.; MARA, R.; BARBETTI, M.J.; LI, H.; WOO, S.L.; LORITO, M. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.72, p.80-86, 2008.

YEDIDIA, I.; SRIVASTVA, A.K.; KAPULNIK, Y.; CHET, I. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. **Plant and Soil**, v.235, p.235-242, 2003.

KOTASTHANE, A., AGRAWAL, T., KUSHWAH, R., RAHATKAR, O.V., *In-vitro* antagonism of *Trichoderma* spp. against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani* and their response towards growth of cucumber, bottle gourd and bitter gourd. **Eur. J. Plant Pathol.** 141(3): 523-543, 2015.

KUHN, O. J. & PASCHOLATI, S. F. **Custo adaptativo da indução de resistência em Feijoeiro mediada pela rizobacteria *Bacillus cereus* ou acibenzolar- S-metil: atividade de enzimas, síntese de fenóis e lignina e biomassa.** Summa Phytopathologica, v.36, n.2, p.107-114, 2010.

ŽIVKOVIĆ, S. Screening of antagonistic activity of microorganisms against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*. **Arch. Biol. Sci.**, v.62, n.3, p.611- 623, 2010.