

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**ASSOCIAÇÃO DE QUITOSANA COM EXTRATOS
VEGETAIS NO CONTROLE PÓS-COLHEITA DE
ANTRACNOSE EM MAMÃO ‘FORMOSA’**

JAQUELINE CLARA LONGO CASEMIRO

**DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2016**

**ASSOCIAÇÃO DE QUITOSANA COM EXTRATOS
VEGETAIS NO CONTROLE PÓS-COLHEITA DE
ANTRACNOSE EM MAMÃO ‘FORMOSA’**

JAQUELINE CLARA LONGO CASEMIRO
Engenheira Agrônoma

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. LILIAN MARIA ARRUDA BACCHI

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal da Universidade Federal Da Grande Dourados, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

C337a	<p>Casemiro, Jaqueline Clara Longo. Associação de quitosana com extratos vegetais no controle pós-colheita de antracnose em mamão 'formosa'. / Jaqueline Clara Longo Casemiro. – Dourados, MS : UFGD, 2016. 60f.</p> <p>Orientadora: Prof. Dra. Lilian Maria Arruda Bacchi. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. <i>Carica papaya</i> L. 2. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>. 3. Pós-colheita.. I. Título.</p>
-------	---

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.

ASSOCIAÇÃO DE QUITOSANA COM EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE
PÓS-COLHEITA DE ANTRACNOSE EM MAMÃO FORMOSA
por

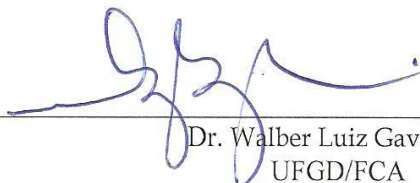
JAQUELINE CLARA LONGO CASEMIRO

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
MESTRE EM AGRONOMIA

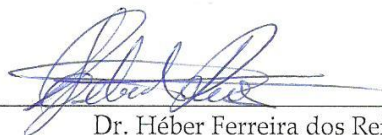
Aprovada em: 11/03/2016



Dr.^a Lilian Maria Arruda Bacchi
Orientadora – UFGD/FCA



Dr. Walber Luiz Gavassoni
UFGD/FCA



Dr. Héber Ferreira dos Reis
AGRAER

***Aos meus pais,
Edson Casemiro
Jandira Groff Longo Casemiro***

*Pela confiança, apoio e exemplo de vida,
que tornaram possível a realização de mais uma etapa de minha vida.*

Aos meus avós

*Mafalda de Rossi Casemiro
Victorina Groff Longo
Abrahmo Longo (in memoriam)*

Ao meu marido, Renan Kaku Silveira

*Pelos conselhos, apoio e dedicação.
Pela compreensão nos momentos difíceis.
Pela colaboração durante a realização deste trabalho.*

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade de realizar este sonho e de aprendizado, e pelo enriquecimento profissional.

À Prof^ª. Dr^ª. Lilian Maria Arruda Bacchi, por todo ensinamento, dedicação e competente orientação que me permitiu amadurecer como estudante e pesquisadora.

Ao Dr^º. Engenheiro Agrônomo Héber Ferreira dos Reis pelas informações, sugestões, materiais e demonstrações de análise em laboratório.

Aos professores da banca examinadora Silvana de Paula Quintão Scalon e Walber Luiz Gavassoni, pelas sugestões e correções muito ajudaram na redação deste trabalho.

A Daiane M. Dresh, Larissa F. Bento, Mirian Analy A. Licorini, Cassia de Carvalho, Cláudia Marsiglia, Jerusa Rech, Suelen Pieta pelo auxílio na condução dos experimentos, sugestões, convivência e amizade.

Aos colegas de classe, de laboratório e aos amigos, pelas colaborações, amizade e bons momentos de descontração.

À Universidade Federal da Grande Dourados pela oportunidade de cursar o Programa de Pós-graduação em Agronomia.

À CAPES pelo auxílio financeiro concedido para realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
INTRODUÇÃO GERAL	1
Coberturas comestíveis	3
Quitosana	5
Extratos vegetais	6
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	8

CAPÍTULO I – PRODUTOS NATURAIS NO CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz	13
RESUMO	14
ABSTRACT	15
INTRODUÇÃO.....	16
MATERIAL E MÉTODOS.....	18
Crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz sob diferentes extratos naturais	18
Crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz sob diferentes concentrações de extrato aquoso de cravo-da-índia.....	19
RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
Crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz sob diferentes extratos naturais.....	21
Crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz sob diferentes concentrações de extrato aquoso de cravo-da-índia.....	26
CONCLUSÃO.....	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

CAPÍTULO II – CONTROLE DE ANTRACNOSE EM FRUTOS DE MAMOEIRO COM EXTRATOS VEGETAIS E QUITOSANA	32
RESUMO	33
ABSTRACT	34

INTRODUÇÃO.....	35
MATERIAL E MÉTODOS.....	37
RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
APÊNDICE I.....	48
APÊNDICE II.....	58

LISTA DE QUADROS

PÁGINA

CAPÍTULO I

- QUADRO 1. Diâmetro médio de colônias (cm) de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, *in vitro*, sob diferentes tratamentos: extrato aquoso de cravo-da-índia 15%, extrato aquoso de canela 15%, quitosana 4%, extrato aquoso de cravo-da-índia 15% + quitosana 4%, extrato aquoso de canela 15% + quitosana 4%, fungicida Procloraz e testemunha. Dourados-MS, UFGD, 2015..... 22
- QUADRO 2. Diâmetro médio das colônias de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, *in vitro*, sob diferentes tratamentos: alho a 20%, gengibre a 30%, canela a 30% e testemunha aos 2, 4, 6, 8 e 10 dias após a repicagem. Dourados – MS, UFGD, 2015..... 24

CAPÍTULO II

- QUADRO 1. Severidade de antracnose causada pelo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, em frutos de mamão, sob diferentes tratamentos: extrato aquoso de cravo-da-índia 10%, extrato aquoso de canela 30%, extrato aquoso de cravo-da-índia 10% + quitosana a 4%, extrato aquoso de canela a 30% + quitosana 4%, quitosana 4%, fungicida Procloraz 0,75 mL/L e testemunha aos 2, 4 e 6 dias após a inoculação. Dourados – MS, UFGD, 2015..... 40

LISTA DE FIGURAS

PÁGINA

CAPÍTULO I

- FIGURA 1 Diâmetro médio de colônias (cm) de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, *in vitro*, sob diferentes tratamentos: Testemunha (TEST), extrato aquoso de cravo-da-índia 15% (CR), extrato aquoso de canela 15% (CAN), quitosana 4% (QUI), extrato aquoso de cravo-da-índia 15% + quitosana 4% (CR+QUI), extrato aquoso de canela 15% + quitosana 4% (CAN+QUI), e fungicida Procloraz (FUNG). Dourados-MS, UFGD, 2015..... 21
- FIGURA 2. Diâmetro médio de colônias (cm), de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, *in vitro*, sob diferentes extratos vegetais: testemunha (TEST), alho a 20% (ALH), canela a 30% (CAN), e gengibre a 30% (GEN) aos 2, 4, 6, 8, e 10 dias após a repicagem. Dourados-MS, UFGD, 2015..... 24
- FIGURA 3. Diâmetro médio de colônias (cm) de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, *in vitro*, sob diferentes concentrações de extratos aquosos de cravo-da-índia: Testemunha (TEST), 2,5%, 5,0%, 10% e 15%, aos 2, 4, 6, 8, 10, 12, 12, 16, 18 e 20 dias após a repicagem. Dourados-MS, UFGD, 2015..... 24
- FIGURA 4. Área abaixo da curva de crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz sob as concentrações 2,5%, 5%, 10% e 15% de cravo-da-índia. Dourados – MS, 2015..... 27

LISTA DE APÊNDICES

	PÁGINA
FIGURA 1. Detalhes das placas de Petri de A – pedaços de casca com lesões de antracnose e B - colônia do <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz. Fonte: Dourados – MS, 2015.....	49
FIGURA 2. Detalhes dos materiais utilizados: A – Quitosana; B – Canela ; C – Cravo –da-índia; D – Gengibre, E - Alho. Fonte: Dourados–MS, UFGD, 2015.....	49
FIGURA 3. Detalhes do processo de produção dos extratos aquosos. Fonte: Dourados–MS, UFGD, 2015.....	50
FIGURA 4. Avaliação do crescimento do diâmetro micelial em dois sentidos. Fonte: Dourados-MS, UFGD, 2015.....	50
FIGURA 5. Colônias de <i>C. gloeosporioides</i> Penz ao 12º dia de avaliação conforme os tratamentos: A - Test; B – Cravo 15%; C- Canela 15%; D – Quitosana 4%; E – Cravo 15% + Quitosana 4%; F – Canela 15% + Quitosana 4%; G – Fungicida Procloraz 100ppm. Dourados - MS, 2015.....	51
FIGURA 6. Colônias de <i>C. gloeosporioides</i> Penz ao 10º dia de avaliação, conforme os tratamentos: A – Testemunha; B – Alho 20%; C – Gengibre 30%; D – Canela 30%. Dourados – MS, 2015.....	52
FIGURA 7. Colônias de <i>C. gloeosporioides</i> Penz ao 20º dia de avaliação, conforme os tratamentos: A- Testemunha; B- Cravo 2,5%; C- Cravo 5%; D- Cravo 10%; E – Cravo 15%. Dourados – MS 2015	52
FIGURA 8. Preparo da solução de quitosana a 4%. A - Quitosana comercial; B - Pesagem da quitosana; C - Dissolução em água destilada, em agitação constante e fervura; D – Detalhe da aferição do pH a 5,5. Dourados – MS. 2015.....	53

FIGURA 9.	Preparo do extrato vegetal de canela. A - Pesagem da casca de canela. B - casca de canela e água destilada para trituração por 1 min em liquidificador; C – Detalhe da solução de canela sendo peneirada; D - Extrato de Canela coado em gaze, algodão e peneira. Dourados – MS. 2015.....	53
FIGURA 10.	Detalhe do processo de esterilização dos extratos, banho-maria a 65°C durante 1 hora. A- Extrato aquoso de cravo-da-índia; B- Extrato aquoso de canela. Dourados - MS. 2015.....	54
FIGURA 11.	Detalhe dos frutos de mamão higienizados, previamente separados, antes de receber os tratamentos com os extratos, a quitosana e o fungicida. Dourados - MS. 2015.....	54
FIGURA 12.	Detalhe do tratamento dos frutos. A - Testemunha; B – Quitosana 4%; C - Canela a 30%; D - Cravo-da-índia a 10%; Dourados - MS. 2015.....	55
FIGURA 13.	Detalhe do tratamento dos frutos. A - Cravo-da-índia a 10% + quitosana 4%; B - Canela a 30% + quitosana 4%; C- Fungicida Procloraz. Dourados - MS. 2015.....	55
FIGURA 14.	Detalhe da câmara úmida feita nos frutos após os tratamentos, permanecendo por 24h. Dourados - MS. 2015.....	56
FIGURA 15.	Detalhes da inoculação do <i>C. gloeosporioides</i> Penz nos frutos de mamão, 24 horas após os tratamentos dos frutos. A - placa de Petri com micélios de <i>C. gloeosporioides</i> Penz utilizado para o preparo da solução; B - Inoculação da solução em quatro pontos equidistantes na região ao redor do pedúnculo dos frutos, com auxílio de uma seringa; C – Câmara úmida sobre a região da inoculação do fungo, permanecendo por 48h. Dourados – MS. 2015.....	56
FIGURA 16.	Detalhes dos frutos armazenados em fotoperíodo de 12h, a temperatura de 25° C, durante todo período de avaliação. Dourados - MS. 2015	57

QUADRO 1.	Resumo do quadro da análise de variância para o experimento que avaliou o diâmetro médio de colônias (cm) de <i>C. gloeosporioides</i> Penz, <i>in vitro</i> , sob diferentes tratamentos: extrato aquoso de cravo-da-índia a 15%, extrato aquoso de canela a 15%, quitosana a 4%, extrato aquoso de cravo-da-índia a 15% + quitosana a 4%, extrato aquoso de canela a 15% + quitosana a 4%, fungicida Procloraz e testemunha, dos fatores dias, tratamentos, dias x tratamentos. Dourados – MS, 2015	59
QUADRO 2.	Resumo do quadro de análise de variância para o experimento que avaliou o diâmetro médio de colônias (cm) de <i>C. gloeosporioides</i> Penz, <i>in vitro</i> , sob diferentes tratamentos: extrato aquoso de canela a 30%, extrato aquoso de gengibre a 20%, extrato aquoso de alho a 20% e testemunha. Dourados – MS, 2015	59
QUADRO 3.	Resumo do quadro de análise de variância para o experimento que avaliou o diâmetro médio de colônias (cm) de <i>C. gloeosporioides</i> Penz, <i>in vitro</i> , sob diferentes concentrações de extrato aquoso de cravo-da-índia: 0%, 2,5%, 5,0%, 10%, 15%. Dourados – MS, 2015.....	60
QUADRO 4.	Resumo do quadro de análise de variância para o experimento que avaliou a incidência e severidade da antracnose em frutos de mamão Formosa tratados com: extrato aquoso de cravo-da-índia a 10%, extrato aquoso de canela a 30%, quitosana a 4%, extrato aquoso de cravo-da-índia a 10% + quitosana a 4%, extrato aquoso de canela a 30% + quitosana a 4%, fungicida Procloraz e testemunha. Dourados – MS, 2015.....	60

ASSOCIAÇÃO DE QUITOSANA COM EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE PÓS-COLHEITA DE ANTRACNOSE EM MAMÃO ‘FORMOSA’

Autor: Jaqueline Clara Longo Casemiro

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lilian Maria Arruda Bacchi

RESUMO – O mamão Formosa (*Carica papaya* L.) é uma fruta de padrão respiratório do tipo climatérico, o que favorece as perdas de qualidade na pós-colheita e também tem sua deterioração acelerada pelo ataque de patógenos. O *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) é o agente causal da antracnose, principal doença pós-colheita da cultura do mamão. O uso excessivo de produtos químicos para o controle dessa doença tem levado ao surgimento de raças tolerantes do patógeno, além de deixar resíduos tóxicos que são prejudiciais ao meio ambiente e a saúde humana. Em decorrência desses problemas, as linhas de pesquisa que visam um método alternativo de controle têm crescido, principalmente por métodos que aliem a manutenção da conservação dos frutos com o controle de doenças. A utilização de coberturas comestíveis como a quitosana têm a capacidade filmogênica e ação fungitóxica já comprovadas. Os extratos vegetais de algumas plantas medicinais contém, em sua composição, metabólitos secundários com ação antimicrobiana. Visando um método de controle alternativo ao uso de agroquímicos, o presente trabalho avaliou a eficácia da quitosana e de extratos vegetais de cravo-da-índia, canela, alho e gengibre e do fungicida Procloraz na inibição do crescimento micelial do *C. gloeosporioides*, *in vitro*, e da quitosana e dos extratos vegetais de cravo-da-índia, canela e fungicida Procloraz na redução da severidade da antracnose na pós-colheita em mamão Formosa. No ensaio *in vitro* os tratamentos com extratos aquosos de cravo-da-índia a 15%, cravo-da-índia a 15% + quitosana a 4%, de canela a 30% e fungicida Procloraz na concentração de 100 ppm inibiram completamente o crescimento micelial do patógeno. No ensaio *in vivo*, os extratos aquosos de cravo-da-índia a 10% e o de canela a 30% associado à quitosana 4% e o fungicida reduziram a severidade da antracnose.

PALAVRAS-CHAVE: *Carica papaya* L., *Colletotrichum gloeosporioides*, pós-colheita.

CHITOSAN ASSOCIATION WITH VEGETABLE EXTRACTS IN CONTROL ANTHRACNOSE POST-HARVEST IN PAPAYA 'FORMOSA'

Author: Jaqueline Clara Longo Casemiro

Supervisor: Prof^a. Dr^a. Lilian Maria Arruda Bacchi

ABSTRACT – Formosa Papaya (*Carica papaya* L.) is a breathing pattern of fruit climacteric type, which favors quality losses in post-harvest and also has its deterioration accelerated by pathogen attack. The *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) is the causal agent of anthracnose, main postharvest disease of papaya crop. Overuse of chemicals to control this disease has led to the emergence of tolerant pathogen races, and leave toxic residues that are harmful to the environment and human health. Because of these problems, the lines of research aimed at an alternative method of control have grown mainly by methods that combine the maintenance of conservation of fruits with disease control. The use of edible coatings as chitosan have filmogenic capacity and fungitoxic proven. The plant extracts of medicinal plants contains, in its composition, secondary metabolites with antimicrobial action. Seeking an alternative control method to use of agrochemicals, this study evaluated the efficacy of chitosan and plant extracts of clove, cinnamon, garlic and ginger and fungicide Prochloraz in inhibiting the mycelial growth of *C. gloeosporioides* in vitro, and chitosan and plant extracts of clove cloves, cinnamon and fungicide Prochloraz in reducing the severity of anthracnose in postharvest in Formosa papayas. In the assay in vitro treatments with aqueous extracts of clove India 15%, clove India 15% + chitosan to 4%, cinnamon 30% and fungicide Prochloraz in the concentration of 100 ppm completely inhibited growth mycelium of the pathogen. In the in vivo test, the aqueous extracts of clove India 10% and cinnamon to 30% associated with 4% chitosan and fungicide reduced the severity of anthracnose.

KEYWORDS: *Carica papaya* L., *Colletotrichum gloeosporioides*, post-harvest.

INTRODUÇÃO GERAL

O mamão (*Carica papaya L.*) é uma espécie pertencente à família Caricaceae, é amplamente cultivado em todo o mundo, e em quase todo o território brasileiro, sendo o Espírito Santo o maior estado produtor seguido pelo Rio Grande do Norte (GALEANO e MARTINS, 2015). A produção brasileira de mamão, em 2014, ficou em aproximadamente 1,2 milhões de toneladas, em 25 mil hectares, sendo que a produtividade chegou a 65 toneladas por hectare (FIOROT, 2015).

A agricultura moderna busca produzir com quantidade, qualidade e preços competitivos (CARNELOSSI et al., 2009), entretanto as perdas pós-colheita são um grande problema enfrentado pelos produtores de frutas e hortaliças. Estima-se que o desperdício desses produtos seja de 30% no modelo atual de desenvolvimento agrícola no Brasil (TEODOSIO, 2014), e essas perdas são em decorrência de vários fatores, como por exemplo: colheita e transporte inadequados, falta de beneficiamento e classificação dos frutos, ausência de armazenamento refrigerado, ausência de práticas adequadas de embalagens e de tratamentos auxiliares como reguladores de maturação, controle de pragas e doenças pela aplicação de defensivos, entre outros (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

A cultura do mamão apresenta crescimento significativo no Brasil, tendo como um grande desafio, a produção de frutos com qualidade pós-colheita (TEODÓSIO, 2014). O padrão de amadurecimento climatérico dos frutos causa perdas naturais na pós-colheita, além disso, as injúrias causadas pelo manuseio inadequado durante a colheita podem acelerar o processo de maturação e servir de porta de entrada para microrganismos fitopatogênicos, e, na maioria dos casos, as doenças da pós-colheita são originadas ainda no campo, na fase de produção dos frutos (DICKMAN e ALVAREZ, 1983), permanecendo seu inóculo no fruto até as fases finais da pós-colheita (NERY-SILVA et al., 2007).

A comercialização dos frutos de mamão é afetada pela ocorrência de doenças fúngicas como a antracnose, causada pelo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz). A podridão causada por esse patógeno pode levar a perda total da produção (DANTAS, 2003). Essa é considerada a mais importante das doenças pós-colheita e ocorre em todos os países produtores, podendo se manifestar em todos os estádios de desenvolvimento, mas preferencialmente nos frutos maduros (VIDAL, 2013).

O fungo pode atacar todos os órgãos da parte aérea, causando apodrecimento (nas folhas, frutos e órgãos reprodutivos) ou crestamento (folhas e ramos). Nos pecíolos, formam-se manchas deprimidas escuras onde se desenvolvem peritécios. Nas folhas, as lesões são circulares, de bordos irregulares com centro acinzentado e pontuações negras que correspondem à frutificação do fungo. A infecção nas folhas novas começa com lesões quase imperceptíveis, circulares, isoladas, translúcidas que envolvem, coalescem e tornam-se marrons, causando deformações nos tecidos com o amarelecimento das folhas (OLIVEIRA e SANTOS 2000). Os frutos jovens quando atacados cessam o seu desenvolvimento, mumificam e caem (FREIRE e CARDOSO, 2003). Nos frutos em fase de maturação mais avançada os sintomas são lesão arredondada e necrótica com o centro deprimido, onde há formação de massa de conídios de cor alaranjada (BAILEY et al., 1992).

Esse patógeno é caracterizado pela formação de acérvulos, em forma de disco achatado, subepidérmico, com espinhos ou setas, conidióforos simples e alongados, conídios hialinos unicelulares, geralmente em forma de bastonete, que permanecem nos acérvulos aderidos por uma massa mucilaginosa de polissacarídeos, solúveis em água. Os micélios do fungo podem permanecer viáveis por um período de tempo longo, mesmo não sendo estruturas de resistência (CAPDEVILLE e SANTOS, 2005).

Devido às lesões na casca que compromete a aparência, afetando também a polpa dos frutos, a comercialização é prejudicada, tornando os frutos impróprios para consumo (TEODÓSIO, 2014). Mesmo que os frutos sejam colhidos sem sintomas da doença, a antracnose pode se manifestar na pós-colheita (CAPDEVILLE e SANTOS, 2005), porque a penetração do fungo pode ocorrer por ferimentos ou injúrias mecânicas na epiderme dos frutos, que servem de porta de entrada para microrganismos, ou ainda a infecção pode ocorrer no campo, pois o patógeno é capaz de sobreviver na forma quiescente, e os sintomas se manifestarem apenas durante o amadurecimento do fruto (KIMATI et al., 2005; MORAES et al., 2008).

Depois de colhidos, os frutos passam por uma série de transformações metabólicas, que resultam em alterações nas suas características, como, textura, cor, sabor e aroma, indicativas do processo de amadurecimento e posterior senescência. Durante a ocorrência desses processos metabólicos, os frutos se tornam mais suscetíveis à invasão de patógenos, isso por que há uma queda nos componentes fenólicos e uma maior predisposição às injúrias mecânicas, disponibilizando substrato para o desenvolvimento do patógeno (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

O controle das doenças pós-colheita inicia-se ainda no campo, pois a infecção nos frutos geralmente ocorre após a floração (BENATO, 1999), e o uso de fungicidas é uma das maneiras mais eficazes no controle da antracnose durante a formação dos frutos (LIBERATO e ZAMBOLIM, 2002).

Atualmente, têm-se utilizado na pós-colheita de frutos de mamão o tratamento hidrotérmico, que consiste na imersão dos frutos em água a 48°C durante 20 minutos (NERY-SILVA et al., 2001), mas por este método não ter efeito residual, preconiza-se a aplicação de fungicida e cera, para aumentar a sobrevida do fruto e prevenir infecção futura (CIA, 2005; REIS, 2014).

A não observância das doses recomendadas dos fungicidas utilizados e o uso de princípios ativos não registrados para a cultura oferecem risco à saúde humana e podem causar graves danos ao meio ambiente (OLIVEIRA, 2013), e, além disso, o uso frequente de fungicidas pode levar ao aparecimento de variações resistentes do fungo (GOMES, 2011).

Perante este fato, têm-se buscado por métodos alternativos que sejam viáveis no controle de doenças pós-colheita. Além do armazenamento refrigerado dos frutos, que já é uma prática conhecida pelos seus benefícios no retardo do processo de senescência e redução do ataque de patógenos, e do já citado tratamento hidrotérmico associado a controle químico, práticas mais utilizadas na pós-colheita de mamão, as pesquisas investem no estudo de ceras, óleos e extratos naturais que possam complementar as técnicas já existentes, ou até mesmo substituir o uso de fungicidas. Estudos presentes na literatura mostram-se promissores quanto à utilização de coberturas comestíveis, como a quitosana e extratos vegetais de diversas plantas.

Coberturas comestíveis

A prática de se aplicar ceras ou coberturas, comestíveis ou não, vem sendo utilizada para prolongar a sobrevida dos frutos, manter a qualidade e reduzir a intensidade de doenças após a colheita (OLIVEIRA et al., 1995; ASSIS et al., 2008).

Ao aplicar um revestimento sobre as frutas, forma-se uma cobertura que preenche parcialmente os estômatos e lenticelas, reduzindo a transferência de umidade (transpiração) e as trocas gasosas (respiração). O processo de amadurecimento está associado à produção de etileno e ao reduzir a respiração e transpiração dos frutos, cria-se uma barreira, modifica-se a atmosfera interna dos frutos e diminui a degradação,

prolongando a vida do fruto. Além disso, algumas coberturas podem atuar, também, como carreadores de compostos antimicrobianos, antioxidantes, entre outros (MAIA et al., 2000; ASSIS et al., 2009).

Os revestimentos ou coberturas comestíveis não podem alterar a aparência natural da fruta, devem ter boa aderência e não devem alterar o sabor ou odor original (GONTARD e GUILBERT, 1996; ASSIS et al., 2009). A aplicação da cobertura pode ser feita através da imersão dos frutos na solução do agente espessante, ou então a solução pode ser aspergida sobre os frutos, em ambos os processos, após o tratamento, o fruto é deixado em repouso até que a água evapore e a película se forme na superfície (JUNIOR et al., 2010).

A utilização de coberturas comestíveis não tem como objetivo substituir o uso dos métodos convencionais, embalagens ou de eliminar o emprego do resfriamento, mas sim de ter uma atuação funcional e coadjuvante, que aliada a outros métodos possa contribuir para manutenção da qualidade e valor nutricional (ASSIS e BRITTO, 2014), e também possa contribuir para o controle de doenças pós-colheita. Ao serem consideradas comestíveis essas coberturas passam a fazer parte do alimento a ser consumido, e devem, portanto, serem atóxicos e seguros para alimentação (FDA, 2016).

O uso desse tipo de cobertura ainda é uma tecnologia em desenvolvimento, mas que tem apresentado resultados significativos nas últimas décadas. Com relação à atividade antimicrobiana, vários modelos de ação têm sido apresentados como em decorrência das coberturas. A hipótese mais estudada seria a da interação entre as coberturas polissacarídeas e as membranas externas dos microrganismos (GOY et al., 2009; ASSIS e BRITTO, 2014).

As pesquisas avaliando a utilização e os efeitos desse tipo de cobertura tem-se intensificado, e tem-se descoberto novos biopolímeros, isso leva a crer que em breve esses produtos serão utilizados no sistema de produção para a conservação de frutas e hortaliças. Esses estudos apontam que a combinação com extratos ou óleos essenciais de plantas é uma estratégia promissora, aliando conservação do fruto e controle de doenças (AZEREDO, 2003; ASSIS e BRITTO, 2014; CECHIN, 2014; REIS, 2014).

Destaca-se o estudo de revestimentos comestíveis a base de lipídios, como óleos, cera de carnaúba, cera de abelha; polissacarídeos, como celulose, pectina, amido e quitosana, e proteínas como caseína, gelatina e albumina (CERQUEIRA, 2007).

Quitosana

A quitosana é um derivado da desacetilação da quitina, trata-se de um polissacarídeo que pode ser encontrado em invertebrados marinhos, insetos, fungos e leveduras. Como é um produto natural extraído da carapaça de crustáceos, é uma alternativa de baixo custo e que não apresenta riscos de contaminação ao meio ambiente ou a saúde humana (MATHUR e NARANG, 1990).

Já é conhecida sua capacidade de formar um recobrimento semipermeável sobre os frutos, que prolonga a vida pós-colheita, por reduzir a taxa de transpiração e de perda de água nos frutos (BAUTISTA-BANOS et al., 2006). Além disso, possui propriedades fungistáticas contra patógenos de várias frutas e vegetais (ASSIS e SILVA, 2003), o que permite seu uso sobre as superfícies cortadas ou nos frutos que possuem alta taxa de maturação pós-colheita (PARK et al., 2004).

A quitosana tanto pode agir de forma direta no desenvolvimento do patógeno, quanto ativando respostas de defesa no tecido vegetal (EL GHAOUTH, 1994). Pode-se citar como mecanismos de ação da quitosana, o acúmulo de quitinase, síntese de inibidores de proteinase, lignificação e indução da síntese de calose. A quitosana tem a capacidade de induzir a formação de barreiras estruturais no tecido hospedeiro, restringindo o desenvolvimento do patógeno invasor, bem como atrasando a retomada de seu desenvolvimento de infecções quiescentes (EL GHAOUTH et al., 1992; EL GHAOUTH 1994).

Conforme se verifica na literatura, a quitosana tem sido alvo de muitas pesquisas. Camili et al. (2007) comprovaram o efeito fungitóxico ao utilizarem a quitosana no recobrimento de uva “Itália”, observando supressão do crescimento de *Botrytis cinerea* (Pers. & Fr.), causador do mofo cinzento. Cechin (2014) concluiu que a quitosana atuou reduzindo a incidência do mofo cinzento em pós-colheita de morangos ‘Camarosa’.

As informações quanto à utilização da quitosana na cultura do mamão ainda são insuficientes, justificando o interesse por um estudo mais amplo e detalhado, visando o desenvolvimento de práticas viáveis de seu uso, bem como as concentrações e métodos de utilização.

Extratos vegetais

O estudo sobre o uso de extratos vegetais no controle de doenças pós-colheita têm se intensificado. A utilização de compostos secundários, presentes tanto no extrato como no óleo essencial de plantas medicinais, é uma alternativa potencial de combate dessas doenças fúngicas.

Durante o processo de evolução, as espécies desenvolveram estratégias para se proteger, como barreiras químicas, compostas por substâncias oriundas do metabolismo secundário, após o contato de invasores com seus tecidos (BRAGA e DIETRICH, 1987; TAIZ e ZEIGER, 2004). Essas substâncias não participam diretamente do crescimento e manutenção dos vegetais, não estão presentes em todos eles, e são atribuídas ao metabolismo secundário. Sua função está ligada a interação da planta com o ambiente (CROTEAU et al., 2000).

Dentre as muitas espécies estudadas, destacam-se o cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry, Myrtaceae), canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume, Lauraceae), alho (*Allium sativum* Linn), e também o gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) (CHALFOUN et al., 2004; VENTUROSO et al., 2011; REIS, 2014). O composto secundário do cravo-da-índia já é bastante conhecido pelo sua ação antimicrobiana, denominado eugenol. Essa substância é encontrada tanto no extrato quanto no óleo essencial em grande concentração (RANASINGHE et al., 2002; COSTA et al., 2011). O eugenol é um líquido fracamente amarelado, que escurece ao ar, com aroma de cravo e com sabor ardente e picante (MOUCHREK FILHO, 2001).

O extrato vegetal obtido a base de alho (*Allium sativum* Linn) tem sido testado e comprovado o seu poder inibitório em uma diversa gama de fungos (NUNES, 2011). O alho contém duas substâncias, a aliinase e a aliína, armazenadas separadamente e, quando suas membranas são rompidas, foram a alicina, responsável pela defesa das plantas. Seus efeitos tóxicos inativam os microrganismos (HEINZMANN, 2001). Além da alicina, o alho apresenta como principais constituintes químicos alicina, inulina, nicotinamida, galantamina, ajoeno, ácidos fosfórico e sulfúrico, vitaminas A, B e C, proteínas e sais minerais, óleos essenciais, glicosídeos, glicinas, resinas, enzimas e sulfuretos (LORENZI e MATOS, 2002).

O composto secundário com ação antimicrobiana presente na canela, que justifica as pesquisas com essa espécie é chamado cinemaldeído (HEINZMANN, 2001).

O gengibre é muito utilizado como condimento e uso medicinal, pois possui em sua composição química o óleo essencial, curcuminas e seus derivados, resina, amidos e substâncias terpenóides e sais minerais, além de uma substância com alto poder fungicida denominada metoxicinamato de etila (LORENZI e MATOS, 2002). O óleo essencial do gengibre tem como constituintes químicos o gingerol, zingibereno, β -bisaboleno, zingerona, β -felandreno, citral, cafeno, cineol, entre outros (MARTINS et al., 2000).

Devido aos compostos antibióticos desses e outros extratos vegetais que atuam no controle de doenças de plantas, sua utilização tem se tornado uma das práticas de maior enfoque na agricultura sustentável (STANGARLIN et al., 1999).

Diante das possibilidades de uso de tecnologias alternativas que permitam combater doenças e prolongar a conservação de frutas em pós-colheita, teve-se por objetivo neste trabalho avaliar o uso da quitosana associada a extratos vegetais, *in vitro* e *in vivo*, como um produto alternativo no controle de *C. gloeosporioides*, agente causal da antracnose em frutos de mamão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSIS, O.B.G.; BRITO, D.; FORATO, L.A. **O uso de biopolímeros como revestimentos comestíveis protetores para conservação de frutas in natura e minimamente processadas.** Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. São Carlos, Embrapa Instrumentação Agropecuária, 23 p. 2009.

ASSIS, O. B. G; BRITTO, D. Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. **Brazilian Journal Of Food Technology**, v. 17, n. 2, p. 87-97, abr./jun. 2014.

ASSIS, O. B. G.; FORATO, L.A.; BRITTO, de. Revestimentos comestíveis protetores em frutos minimamente processados. **Higiene Alimentar**, v.22, n.160, p. 99-106, 2008.

ASSIS, O.B.G.; SILVA, V.L. Caracterização estrutural e da capacidade de absorção de água em filmes finos de quitosana processados em diversas concentrações. **Polímeros**, v. 13, n. 4 p. 223-228. 2003.

AZEREDO, H. M. C. de. Películas comestíveis em frutas conservadas por métodos combinados: potencial da aplicação. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 21, n. 2 p. 267-278, jul/dez, 2003.

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.** British Society for Plant Pathology, p.88-120. 1992.

BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERNÁNDEZ-LAUZARDO, A.N.; VELÁZQUEZ-DELVALLE, M.G.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M.; BARKA, E.A.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; WILSON, C.L. Chitosan as a potencial natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. **Crop Protection**, v. 25, n.2, p. 108-118, 2006.

BENATO, E.A. Controle de doenças pós-colheita em frutas tropicais. **Summa Phytopathologica**, v.25, n.1, p.90-93, 1999.

BRAGA, M. R.; DIETRICH, S. M. C. Defesas químicas de plantas: fitoalexinas. **Acta Botanica Brasilica**, v. 1, p. 3-16, 1987.

CAMILI, E. C.; BENATO, E. A.; PASCHOLATI, S. F.; CIA, P. Avaliação de quitosana, aplicada em pós-colheita, na proteção de uva 'Itália' contra *Botrytis cinerea*. **Summa Phytopathologica**, v.33, n.3, p.215-221, 2007.

CARNELOSSI, P.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; ITAKO, A.T.; MESQUINI, R.M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.4, p.399-406, 2009.

CAPDEVILLE, G.; SANTOS, J. R. P. **Metodologia para seleção e teste de microrganismos epífitas de frutos de mamão para utilização em controle biológico contra *Colletotrichum gloeosporioides***. Boletim de Pesquisas e desenvolvimento-Embrapa, 21p. 2005.

CECHIN, F. E. **Quitosana na indução de resistência e controle in vitro de mofo cinzento, podridão parda e podridão amarga**. 2014. 97 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco.

CERQUEIRA, T. S. **Recobrimentos comestíveis em goiabas cv. “Kumagai”**. 2007. 69 f. Dissertação. Esalq.

CHALFOUN, S.M.; PEREIRA, M.C.; RESENDE, M.L. V.; ANGÉLICO, C.L.; SILVA, R.A. Effect of powdered spice treatments growth, sporulation and production of aflatoxin by toxigenic fungi. **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, n.4, p.856–862, 2004.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 785 p. 2005.

CIA, P. **Avaliação de agentes bióticos e abióticos na indução de resistência e no controle pós-colheita da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) em mamão (*Carica papaya*)**. 2005. 197f. Tese (Doutorado em Agronomia – Área de concentração: Fitopatologia), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Piracicaba – SP.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Natural products (secondary metabolites). In: BUCHANAN, B. G., W AND JONES, R. (Ed.). **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000, p. 1286-1292.

COSTA, A. R. T.; AMARAL, M. F. Z. J.; MARTINS, P. M.; PAULA, J. A. M.; FIUZA, T. S.; TRESVENZOL, L. M. F.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, p. 240-245, 2011.

DANTAS, S.A.F. **Doenças fúngicas pós-colheita em frutas de mamão e laranja: ocorrência e indução de resistência com elicitores bióticos e abióticos**. 2003. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

DICKMAN, M. B. e ALVAREZ, A. M. Latente infection of papaya caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Plant Disease**, v. 67, n. 7, p. 748-750, 1983.

EL GHAOUTH, A. ARUAL, J.; GRENIER, J.; ASSELIN, A. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. **Phytopathology**, v. 82, n. 4, p. 398-402, 1992.

EL GHAOUTH, A. et al. Ultrastructural and cytochemical aspects of the effect of chitosan on decay of bell pepper fruit. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 44, n. 6, p. 417-432, 1994.

FIOROT, F. Bahia lidera produção de mamão. **Revista Campo e Negócios**. p 87. Anuário Hortifruti 2015. 116p. Disponível online em: <http://issuu.com/revistacampoenegocios/docs/anu_rio_hf_2015> Acesso em: 18 de janeiro de 2016.

FREIRE, F. C. O, CARDOSO, J.E. **Doenças de fruteiras tropicais de interesse agroindustrial**. Ed Embrapa agroindústria tropical. .2003. p 394-396.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA. **Generally recognized as safe (GRAS)**. Silver Spring. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/>>. Acesso em: 13 fevereiro de 2016.

GALEANO, E. V.; MARTINS, D. dos S.; Evolução da produção e comércio de mamão. **Anais do VI Simpósio do Papaya Brasileiro**. Vitória- ES. 2015. Disponível online em: <<http://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/bitstream/item/1050/1/BRT-papayabrasileiro6-galeano.pdf> > Acesso em: 1º de março de 2016.

GOMES, E. C. S. **Extrato de *Allamanda blanchetti* na indução de fitoalexinas em sorgo e resistência em videira ‘Superior Seedless’ contra *Uncinula necator***. 2011. 90 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Área de Concentração em Agricultura Tropical) – Universidade Federal da Paraíba, Areias, 2011.

GONTARD, N.; GUILBERT, S. Bio-packaging: echnology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. **Boletim SBCTA**, v. 30 n 1. p 3-15. 1996.

GOY, R. C.; BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. A Review of the Antimicrobial Activity of Chitosan. **Polímeros**, v. 19, n. 3, p. 241-247, 2009.

HEINZMANN, B.M. Compostos com enxofre. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p.633-650.

JUNIOR, E.B.; MONARIM, M.M.S.; CAMARGO, M.; MAHL, C.E.A.; SIMÕES, M.R.; SILVA, C.F. Efeito de diferentes biopolímeros no revestimento de mamão (*Carica papaya L*) minimamente processado. **Revista Varia Scientia Agrarias**, v. 1, n. 1 p. 131-142. 2010.

KIMATI, H; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L E. A. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p. 10-11.

LIBERATO, J.R. & ZAMBOLIM, L. Controle das doenças causadas por fungos, bacterias e fitonematóides em mamoeiro. In: Zambolim, L., Vale, F.X.R., Monteiro,

A.J.A. & Costa H (Eds.) **Controle de doenças de plantas fruteiras**. v 2. Viçosa. Universidade Federal de Viçosa. p.1023-1169. 2002.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Instituto Plantarum, 2002. 512p.

MAIA, L.H.; PORTE, A.; SOUZA, V.F. **Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira à umidade e oxigênio**. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, v. 18, n. 1, p.105-128. 2000.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C. DIAS, J.E.; **Plantas medicinais**. Viçosa: UFV, 2000. 220 p.

MATHUR, N. K.; NARANG, C.K. Chitin and Chitosan, Versatile Polysaccharides from Marine Animals. **Journal of Chemical Education**, Madison, v.67, n.11, p.938–942, 1990.

MORAES, W.S; ZAMBOLIM, L.; LIMA, J.D. Quimioterapia de banana “prata anã” no controle de podridões em pós-colheita. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.75, n.1, p.79-84, 2008.

MOUCHREK FILHO, V.E. **Introdução à Química de Óleos Essenciais**. São Luís. 2001, 72p.

NERY-SILVA, F.A.; MACHADO, J.C.; LIMA, L.C.O.; RESENDE, M.L.V. Controle químico da podridão peduncular de mamão causada por *Colletotrichum gloeosporioides*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.25, n.3, p.519-524, 2001.

NERY-SILVA, F. A., MACHADO da C. J., RESENDE de M. L. V., Metodologia de inoculação de fungos causadores da podridão peduncular em Mamão. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 5, p. 1374-1379, set./out., 2007.

NUNES, G. M. **Uso de extratos vegetais no controle da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc) do mamoeiro (*Carica papaya L.*)**. 2011 (Trabalho de Conclusão de Curso). 31f. Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo AL, UFAL-CECA.

OLIVEIRA, B. F. **Película de amido de mandioca, associada ou não, a óleos essenciais no controle pós-colheita da antracnose do mamão**. 2013. 92 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras.

OLIVEIRA, A.; SANTOS, H. P.; **Frutas do Brasil - Mamão - Fitossanidade**. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical; Cruz das Almas, BA 2000.

OLIVEIRA, A. M. G.; OLIVEIRA, M. de A.; DANTAS, J. L. L.; SANCHES, N. F.; MEDINA, V. M.; CORDEIRO, Z. J. M.; SANTOS FILHO, H. P.; CARVALHO, J. E. B. **A cultura do mamoeiro**. Circular Técnica, 21. EMBRAPA-CNPMF, 1995. 80p.

PARK, S.I.; DAESCHEL, M.A.; ZHO, Y. Functional properties of antimicrobial Lysozyme – Chitosan Composite Films. **Journal of Food Science**, v. 69, n.8, p 215 - 221, 2004.

RANASINGHE, L.; JAYAWARDENA, B.; ABEYWICKRAMA, K. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeilanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et LM. Perry against crown rot anthracnose pathogens isolated from banana. **Letters in Applied Microbiology**, v.35, n 3, p.208-211, 2002.

REIS, H, F dos. **Conservação pós-colheita de mamão formosa (*Carica papaya* L.) e controle alternativo in vitro e in vivo de *Colletotrichum gloeosporioides***. 2014. 128f TESE (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS.

STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v.2, n.11, p.16-21, 1999.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Rio de Janeiro: Artmed, 2004. p. 687.

TEODOSIO, A. E. M. M. **Qualidade pós colheita do mamão “Golden” (*Carica papaya* L.) utilizando recobrimentos biodegradáveis**. 2014. 50f. Trabalho de conclusão de curso – Curso de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

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

VIDAL, J. M; **Controle alternativo da antracnose em frutos de mamoeiro e qualidade pós-colheita**. 2013. 36f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

CAPÍTULO I

EXTRATOS VEGETAIS E QUITOSANA NO CRESCIMENTO MICELIAL DE

Colletotrichum gloeosporioides Penz

EXTRATOS VEGETAIS E QUITOSANA NO CRESCIMENTO MICELIAL DE

Colletotrichum gloeosporioides Penz

RESUMO – O uso excessivo de produtos químicos na cultura do mamão (*Carica papaya* L.) coloca em risco a eficácia de fungicidas, em razão dos problemas de resistência dos patógenos a esses produtos. Diante disto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a eficácia de produtos naturais no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, *in vitro*. Foram conduzidos três experimentos, no Laboratório de Microbiologia Agrícola e Fitopatologia da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, em Dourados–MS. No primeiro avaliaram-se os extratos aquosos de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (L.), Merr. & Perry, Myrtaceae) e canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume, Lauraceae) a 15%, e quitosana 4%, isoladamente, e a associação desses extratos aquosos com quitosana a 4%, e também o fungicida Procloraz, (Sportak® 450 EC) na concentração de 100 ppm, e uma testemunha (sem adição de produto ao meio de cultura BDA), em esquema fatorial 7 tratamentos x 6 avaliações, com oito repetições. O segundo experimento avaliou os extratos aquosos de canela a 30%, gengibre (*Zingiber officinalis* Roscoe) a 20%, alho (*Allium sativum* Linn), e testemunha, em esquema fatorial 4 tratamentos x 5 avaliações, e oito repetições. No terceiro experimento avaliou-se diferentes concentrações do extrato aquoso do cravo-da-índia (0; 2,5; 5,0; 10; e 15%), no esquema fatorial 5 tratamentos x 6 dias de avaliação com oito repetições. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado e os dados de crescimento micelial foram submetidos à análise de variância e tendo ocorrido significância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey e as médias de períodos de avaliação e sua interação com os outros tratamentos foram ajustadas pela análise de regressão, ambos a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa SANEST. Verificou-se que os extratos aquosos de cravo-da-índia a 10% e canela a 30% foram tão eficazes quanto fungicida Procloraz na dose de 100 ppm, inibindo 100% do crescimento micelial de *C. gloeosporioides*. Os extratos aquosos de gengibre e alho não foram eficientes no controle do patógeno avaliado. A associação da quitosana 4% com o extrato de canela 15% teve eficiência intermediária, mas a quitosana é uma alternativa promissora devido ao seu potencial fungitóxico e deve continuar a ser estudada.

PALAVRAS-CHAVE: *Carica papaya* L., pós-colheita, antracnose.

**EXTRACTS AND VEGETABLE CHITOSAN IN *Colletotrichum gloeosporioides*
Penz GROWTH OF MYCELIAL**

ABSTRACT - Overuse of chemicals in papaya crop (*Carica papaya* L.) puts at risk the effectiveness of fungicides, because of problems of resistance of pathogens to such products. Therefore, this study aimed to evaluate the effectiveness of natural products to control *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, in vitro. Three experiments were conducted at the Agricultural Microbiology Laboratory of Phytopathology, Federal University of Grande Dourados - UFGD in Dourados-MS. In the first we evaluated the aqueous extracts of clove cloves (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry, Myrtaceae) and cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume, Lauraceae) to 15%, and 4% chitosan alone, and the association of these aqueous extracts with chitosan to 4%, and also the fungicide Prochloraz (Sportak® 450 EC) at a concentration of 100 ppm, and a control (without addition of product to PDA culture medium) in a factorial 7 x treatments 6 reviews with eight repetitions. The experimental design was completely randomized and the mycelial growth data were submitted to analysis of variance and has been significant, the means were compared by Tukey test and means of evaluation periods and its interaction with other treatments were adjusted by regression analysis, both the 5% probability, using the SANEST program. It has been found that aqueous extracts of clove and cinnamon 10% to 30% was as effective as the fungicide Prochloraz at a dose of 100 ppm, 100% inhibiting mycelial growth of *C. gloeosporioides*. The aqueous extracts of ginger and garlic were not effective in controlling the pathogen evaluated.

KEYWORDS: *Carica papaya* L., postharvest anthracnose.

INTRODUÇÃO

Fungos do gênero *Colletotrichum* são causadores da antracnose que é a principal doença de frutos em pós-colheita (SERRA e SILVA, 2004). Esses fungos são importantes nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, e podem causar outras doenças como podridão de pedúnculo e varicela em manga, abacate e mamão (BAILEY e JEGER, 1992), que causam a depreciação dos frutos, prejudicando sua comercialização.

Nos frutos de mamoeiro, a antracnose é causada pela espécie *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) e é caracterizada por lesões arredondadas, grandes, necróticas, com o centro dos tecidos deprimidos, onde há formação de massa de conídios de cor alaranjada (BAILEY et al., 1992) que pode atacar todos os órgãos da parte aérea, causando apodrecimento (nas folhas, frutos e órgãos reprodutivos) ou crestamento (folhas e ramos) (FISCHER et al., 2005).

O controle das doenças pós-colheita em mamão tem sido feito através do tratamento hidrotérmico, onde os frutos são imersos em água a 48-49°C por 20 minutos, seguido de outra imersão a 14°C por 20 minutos, porém como esse método só tem efeito curativo é recomendado à aplicação de fungicida na sequência, para aumentar o tempo de armazenamento do fruto (ZAMBOLIM et al., 2002; FERREGUETTI, 2006).

O controle químico ainda é o mais utilizado pela sua eficiência, contudo, o uso excessivo de fungicidas no controle de doenças pós-colheita em mamão, e a falta de novos produtos no mercado, têm levado ao aparecimento de raças tolerantes do patógeno que comprometem o uso desses produtos (MORAES et al., 2008).

A busca por alternativas que minimizem os danos ao meio ambiente e ao homem tem crescido, e dentre as várias estratégias o controle alternativo através da indução de resistência é promissor, principalmente, por não causar danos ao meio ambiente e não deixar resíduos nos frutos (CECHIM, 2014).

O potencial de diversas moléculas tem potencial para induzir mecanismos de defesas nas plantas e a quitosana é uma delas (CECHIN, 2014). Trata-se de um polissacarídeo natural comestível extraído do exoesqueleto de crustáceos, que forma uma película semipermeável sobre os frutos, comumente referido como biofilme. O seu reduz as trocas gasosas, diminui a perda de água, aumentando a sobrevida dos frutos.

Diversos autores relatam sua ação fungitóxica e bactericida sobre diversos patógenos (BAUTISTA-BANOS et al., 2006).

Muitas plantas também possuem substâncias bioativas (compostos secundários, fitocomplexos, óleos essenciais, dentre outros) que podem ter ação antimicrobiana direta, ou ativar mecanismos de defesa nas plantas tratadas com esses compostos (BONALDO et al., 2005).

Dentre as várias plantas estudadas com potencial antimicrobiano, diversos autores têm relatado a ação fungitóxica do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (L.), Merr. & Perry, Myrtaceae) e da canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume, Lauraceae). O eugenol do cravo-da-índia seria o principal componente tóxico, presente tanto no extrato aquoso quanto no óleo, e o cinemaldeído na canela (RANASINGHE et al., 2002; VENTUROSO et al., 2011).

O alho (*Allium sativum* Linn) e o gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) também são plantas promissoras que têm sido fonte de estudos para o controle de fitopatógenos. O bulbo do alho quando intacto contém um aminoácido inodoro chamado aliina, que é convertido pela enzima alinase em alicina. Essa conversão ocorre quando o alho é esmagado ou triturado. A alicina além de ser responsável pelo odor característico, também é responsável pela defesa das plantas, e inativam os microrganismos (GÓMEZ; SÁNCHEZ-MUNIZ, 2000; HEIZMAN, 2001). O gengibre possui em seu rizoma princípios ativos antimicrobianos como o gingerol e zingibereno (ALBUQUERQUE, 1989).

Um dos ingredientes ativos utilizados no controle do *C. gloeosporioides* teve seu uso proibido no Brasil. Através da RESOLUÇÃO – RDC N° 60, de 3 de fevereiro de 2016 publicada no Diário Oficial da União (DOU, 2016), a ANVISA (2015) cancelou o registro do ingrediente ativo Prochloraz, devido aos risco de distúrbios hormonais e danos ao aparelho reprodutor

Devido à capacidade fungitóxica da quitosana e dos compostos antimicrobianos presentes nos extratos vegetais, a hipótese deste trabalho é que esses produtos naturais são tão eficazes quanto os fungicidas químicos recomendados para o controle de antracnose na cultura do mamão. O objetivo do presente trabalho foi, então, avaliar a eficácia da quitosana em associação com extratos vegetais de cravo-da-índia, canela, alho e gengibre, no crescimento micelial, *in vitro*, de *C. gloeosporioides*, isolado de frutos de mamão.

MATERIAL E MÉTODOS

No Laboratório de Microbiologia Agrícola e Fitopatologia da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, em Dourados-MS, foram conduzidos experimentos *in vitro*, no período de fevereiro a julho de 2015.

A partir de lesões de antracnose coletadas de frutos de mamão Formosa, o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz foi isolado e cultivado em meio BDA (batata-dextrose-ágar) por dez dias a 25° C, com fotoperíodo de 12 horas. Após o crescimento dos isolados, foram feitas repicagens consecutivas até a obtenção de culturas puras. A confirmação da identificação do fungo foi realizada com base em suas características morfológicas, por meio de preparo de lâminas e observações em microscópio.

Crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz sob diferentes extratos naturais

Foram realizados dois experimentos *in vitro* com diferentes extratos naturais, em delineamento inteiramente casualizado, com oito repetições. Os tratamentos do primeiro experimento foram: **1** – testemunha (sem adição de produto ao meio de cultura); **2** – testemunha com fungicida Procloraz, (Sportak® 450 EC) na concentração de 100 ppm; **3** – extrato aquoso de cravo-da-índia a 15%; **4** – extrato aquoso de canela a 15%; **5** – quitosana 4%; **6** – extrato aquoso de cravo-da-índia 15% + quitosana 4%; **7** – extrato aquoso de canela 15% + quitosana 4%, em esquema fatorial 7 (tratamentos) x 6 (avaliações).

O segundo experimento teve os tratamentos: **1** – testemunha (sem adição de produto ao meio de cultura); **2** – extrato aquoso de canela 30%; **3** – extrato aquoso de gengibre 30%; **4** – extrato aquoso de alho 20%, em esquema fatorial com 4 (tratamentos) x 5 (avaliações).

Para o preparo dos extratos aquosos foi utilizado o rizoma do gengibre, a casca de canela, botão floral do cravo-da-índia e bulbos de alho. Trinta gramas de material vegetal foram triturados em 120 mL de água destilada por um minuto. Após a trituração, o material foi filtrado em peneira, gaze e algodão e peneira, acondicionado

em erlenmeyer e deixado em banho-maria a 65° C por 60 minutos, a fim de descontaminar a solução.

A solução de quitosana a 4% foi preparada, segundo El Ghaouth et al. (1991), pela dissolução de 4,0 g de quitosana em 100 mL de água destilada com 2 mL de ácido acético e agitação constante por 24 horas. A solução foi ajustada para pH 5,5, adicionando-se hidróxido de sódio 1N e, ao final, 0,1 mL de Tween 80. A solução de quitosana foi então esterilizada em autoclave a 120° C por 15 minutos (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2006).

As soluções de extratos, quitosana e fungicida foram adicionadas aos meios de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) fundentes, de maneira a se obter as concentrações previamente determinadas. Após a homogeneização dos meios, estes foram vertidos em placas de Petri, identificadas, onde, após a solidificação, fez-se a transferência de discos de micélio de 0,5 cm de diâmetro de *C gloeosporioides*, provenientes de culturas de 12 dias de incubação. Em seguida, as placas de Petri foram vedadas com filme plástico e incubadas em câmara BOD a uma temperatura de 25° C, com fotoperíodo de 12 horas.

As avaliações foram realizadas a cada dois dias, medindo-se o crescimento do diâmetro micelial em dois sentidos, perpendicularmente, com uma régua graduada em milímetros (mm), até que as colônias das testemunhas atingissem mais de 75% da placa de Petri.

Os dados de crescimento micelial foram submetidos à análise de variância e tendo ocorrido significância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey e as médias de períodos de avaliação e sua interação com os outros tratamentos foram ajustadas pela análise de regressão, ambos a 5% de probabilidade.

Crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz sob diferentes concentrações de extrato aquoso de cravo-da-índia

Foram testadas diferentes concentrações de extrato aquoso de cravo-da-índia, sendo os tratamentos: **1** – testemunha (sem adição de produto ao meio de cultura); **2** – extrato aquoso de cravo-da-índia 2,5%; **3** – extrato aquoso de cravo-da-índia 5,0%; **4** – extrato aquoso de cravo-da-índia 10%; **5** – extrato aquoso de cravo-da-índia 15%. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 (tratamentos) x 6 (avaliações) com 8 repetições.

Os extratos vegetais, meio de cultura, bem como o preparo dos tratamentos em placas de Petri foram realizados conforme os experimentos anteriores.

Os dados de crescimento micelial foram submetidos à análise de variância e tendo ocorrido significância, as médias de períodos de avaliação e sua interação com os outros tratamentos foram ajustadas pela análise de regressão, ambos a 5% de probabilidade. As médias de crescimento micelial foram utilizadas para o cálculo da área abaixo da curva de crescimento micelial, através da equação:

$$AACCM = \sum [(y_i + y_{i+1}) / 2] \times (t_{i+1} - t_i)$$

onde, y_i é média do crescimento micelial (cm), no tempo t_i , em dias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz sob diferentes extratos naturais

O crescimento micelial de *C. gloeosporioides* foi suprimido nos tratamentos com extrato aquoso de cravo-da-índia 15%, extrato aquoso de cravo 15% + quitosana 4% e com o fungicida Procloraz. Ocorreu crescimento micelial, tendo nos demais tratamentos sido superior na testemunha e menores nos tratamentos com canela 15% + quitosana 4%, seguido de extrato aquoso de canela 15% e quitosana 4%, os quais apresentaram controle semelhante ao longo do período de avaliação (Figura 1).

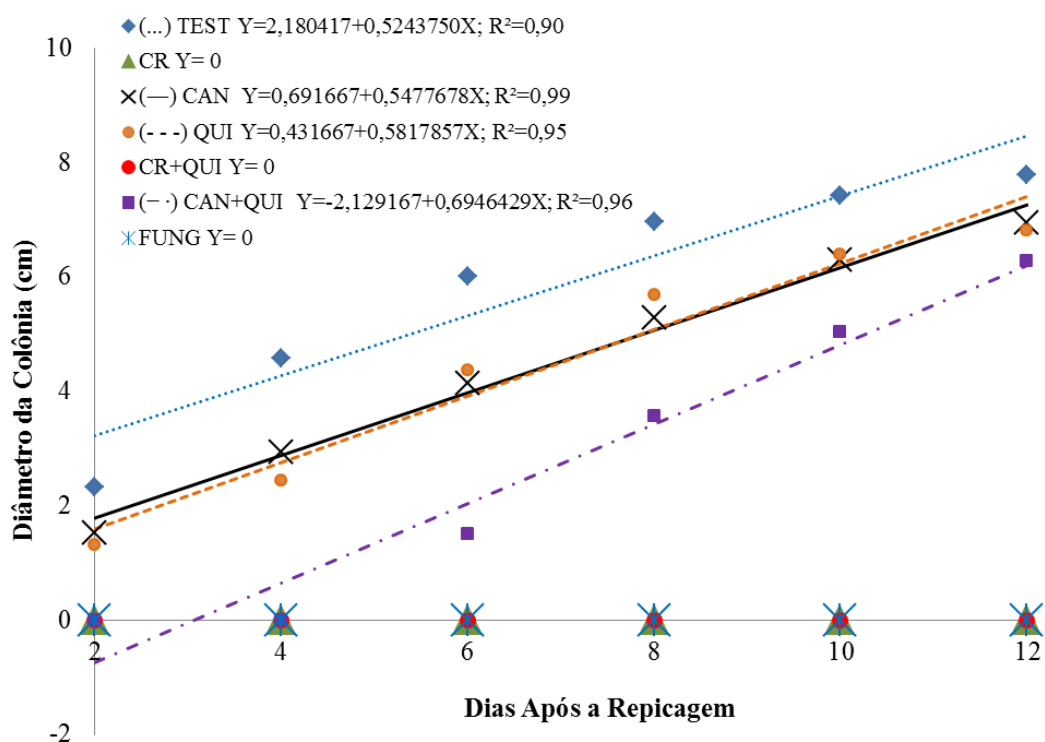


FIGURA 1: Diâmetro médio de colônias (cm) de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, *in vitro*, sob diferentes tratamentos: Testemunha (TEST), extrato aquoso de cravo-da-índia 15% (CR), extrato aquoso de canela 15% (CAN), quitosana 4% (QUI), extrato aquoso de cravo-da-índia 15% + quitosana 4% (CR+QUI), extrato aquoso de canela 15% + quitosana 4% (CAN+QUI), e fungicida Procloraz (FUNG). Dourados-MS, UFGD, 2015.

Estes resultados são complementados no Quadro 1, em que se verifica que os tratamentos com fungicida Procloraz, extrato aquoso de cravo-da-índia a 15% e a associação do extrato aquoso de cravo-da-índia a 15% com a quitosana a 4% foram, significativamente, mais eficientes em relação aos demais tratamentos, principalmente a partir do oitavo dia de incubação. O tratamento com canela 15% + quitosana 4% apresentou eficiência intermediária, diferindo significativamente dos tratamentos mais eficazes, somente a partir do 8º dia de avaliação. A associação do extrato aquoso de canela a 15% com a quitosana a 4% foi mais eficaz do que cada um dos tratamentos isolados. Verifica-se que o extrato aquoso de canela 15% até o 8º dia de avaliação, igualando-se no final do período de avaliação, juntamente com canela 15% + quitosana.

QUADRO 1: Diâmetro médio de colônias (cm) de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, *in vitro*, sob diferentes tratamentos: extrato aquoso de cravo-da-índia 15%, extrato aquoso de canela 15%, quitosana 4%, extrato aquoso de cravo-da-índia 15% + quitosana 4%, extrato aquoso de canela 15% + quitosana 4%, fungicida Procloraz e testemunha. Dourados-MS, UFGD, 2015

Tratamentos	Dias a Repicagem					
	Dia 2	Dia 4	Dia 6	Dia 8	Dia 10	Dia 12
Cravo 15%	0,0 b	0,0 c	0,0 c	0,0 d	0,0 c	0,0 b
Canela 15%	1,5 ab	2,9 b	4,1 b	5,3 b	6,3ab	6,9 a
Quitosana 4%	1,3 ab	2,4 b	4,4 b	5,7 ab	6,4 ab	6,8 a
Cravo 15% + Quitosana 4%	0,0 b	0,0 c	0,0 c	0,0 d	0,0 c	0,0 b
Canela 15% + Quitosana 4%	0,0 b	0,0 c	1,5 c	3,6 c	5,0 b	6,3 a
Fungicida Procloraz	0,0 b	0,0 c	0,0 c	0,0 d	0,2 c	0,2 b
Testemunha	2,3 a	4,6 a	6,0 a	6,9 a	7,4 a	7,8 a
CV= 43,1%						

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados semelhantes foram obtidos por Rozwalka et al. (2008) que, avaliando o efeito fungitóxico de plantas medicinais e aromáticas no crescimento micelial de *Glomerella cingulata* (*C. gloeosporioides*), verificaram que o extrato aquoso de cravo-da-índia na concentração de 10% inibiu totalmente o crescimento do patógeno, e em ensaio prévio foi igualmente eficaz na concentração de 1%.

Venturoso et al. (2011) não verificaram crescimento de *Colletotrichum* sp. *in vitro*, até os quinze dias de avaliação, utilizando extrato aquoso de cravo-da-índia 20%,

e Reis (2014) também não observou desenvolvimento do *C. gloeosporioides*, na concentração de extrato aquoso de cravo-da-índia a 15%, a partir de isolados de mamão.

A quitosana mostrou-se eficiente somente quando associada ao extrato de cravo-da-índia a 15%. Reis (2014) realizou dois experimentos com quitosana, na concentração de 1 e 3%, e obteve resultados distintos para o crescimento micelial *in vitro* em cada um dos testes, onde no primeiro experimento a quitosana teve efeito intermediário e no segundo inibiu completamente o desenvolvimento do *C. gloeosporioides*. O pesquisador justifica as divergências de resultados, pelo fato de que os isolados do fungo utilizados não foram os mesmos para os dois experimentos. Ainda, Alves (2008) verificou a influência dos isolados de *C. gloeosporioides* na eficiência de controle da antracnose do pimentão pelos extratos aquosos de gengibre, malva e alho.

A ação fungitóxica da quitosana é relatada por diversos autores, e pode ser explicada devido a desorganização das estruturas celulares do *Colletotrichum* sp. causada pela ligação entre as cargas positivas da quitosana e os sítios negativos da parede celular e das membranas celulares, que pode levar as mudanças de permeabilidade e até a morte celular (ASSIS, 2008).

Cechim (2014), ao avaliar diferentes concentrações de quitosana (0,25, 0,5, 1, 2%) no crescimento micelial *in vitro*, de *Colletotrichum* sp., observou que a solução de quitosana nas concentrações de 0,25 e 0,5% suprimiram o crescimento micelial após 48h.

Como era esperado, o fungicida Procloraz suprimiu o crescimento micelial do *C. gloeosporioides*, o que corrobora com os resultados de diversos autores. Reis (2014) observou completa inibição micelial para a mesma dose testada no presente trabalho (100 ppm). De maneira semelhante, Rondón et al. (2006) verificaram 100% de inibição do crescimento de *C. gloeosporioides* Penz isolado de manga, nas concentrações de 100 e 1000 ppm. Tavares e Souza (2005), avaliando diferentes fungicidas, *in vitro*, no controle do mesmo fitopatógeno, constataram inibição total a partir de 10 ppm pelo fungicida Procloraz.

No segundo experimento, em que foram avaliados os extratos aquosos de alho a 20%, gengibre a 30% e canela a 30%, apenas o extrato aquoso de canela a 30% foi capaz de inibir completamente o crescimento micelial do *C. gloeosporioides*, enquanto que o extrato de alho a 20% reduziu o diâmetro da colônia em relação à testemunha, mas não foi capaz de inibir o desenvolvimento do fungo (Figura 2). Apesar de diferir estatisticamente da testemunha aos 4, 6 e 8 dias de avaliação, o extrato de gengibre a

30% igualou-se a testemunha no fim do período de avaliação, não sendo eficaz no controle do crescimento micelial, como pode ser observado no Quadro 2.

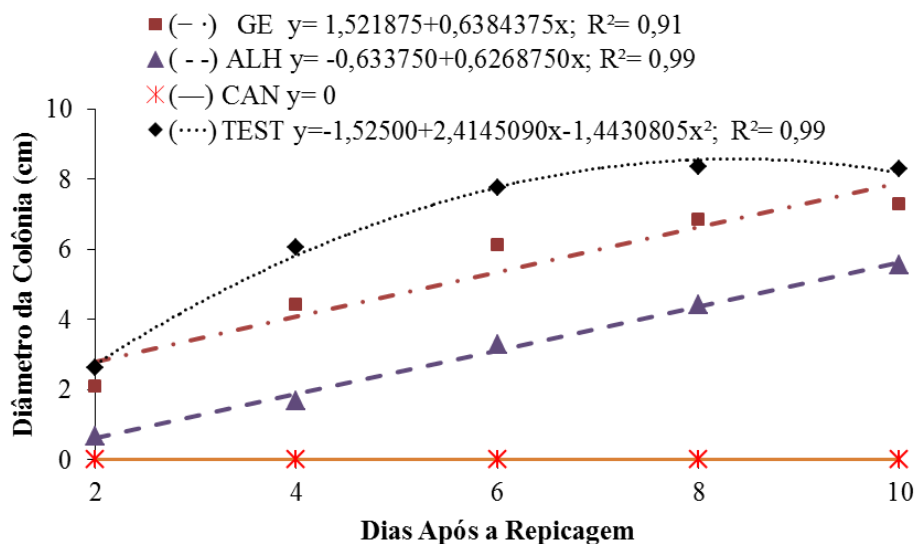


FIGURA 2: Diâmetro médio de colônias (cm), de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, *in vitro*, sob diferentes extratos vegetais: testemunha (TEST), alho a 20% (ALH), canela a 30% (CAN), e gengibre a 30% (GEN) aos 2, 4, 6, 8, e 10 dias após a repicagem. Dourados-MS, UFGD, 2015.

QUADRO 2: Diâmetro médio das colônias de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, *in vitro*, sob diferentes tratamentos: alho a 20%, gengibre a 30%, canela a 30% e testemunha aos 2, 4, 6, 8 e 10 dias após a repicagem. Dourados – MS, UFGD, 2015

Tratamentos	Dias Após a Repicagem				
	Dia 2	Dia 4	Dia 6	Dia 8	Dia 10
Alho 20%	0,67 b	1,67 c	3,30 c	4,43 c	5,56 b
Gengibre 30%	2,10 a	4,43 b	6,11 b	6,83 b	7,28 a
Canela 30%	0,00 b	0,00 d	0,00 d	0,00 d	0,00 c
Testemunha	2,61 a	6,04 a	7,75 a	8,35 a	8,29 a

CV= 20,83 %

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Marcondes et al. (2014) verificaram 100% de inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* isolado de maçã, utilizando o extrato de alho 20%, preparado por meio de infusão dos bulbilhos em água destilada fervente por 20 minutos. Entretanto,

utilizando o mesmo método de preparo de extratos, Sousa et al. (2012) avaliaram o crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. isolado da cultura da chicória, sob diferentes concentrações de extrato aquoso de alho, e verificaram que a maior concentração testada, 10%, foi a mais eficiente, mas não inibiu completamente o desenvolvimento do patógeno.

Venturoso et al. (2011) observaram menor diâmetro da colônia de *Colletotrichum* sp. com o aumento das concentrações do extrato aquoso de alho, obtido através da trituração dos bulbos em água destilada por 1 minuto, sendo 100% inibido o desenvolvimento, *in vitro*, do patógeno nas concentrações de 10% e 20%.

Oliveira et al. (2013) testaram diferentes concentrações de extratos de alho e gengibre, preparados por meio de trituração do material vegetal em água destilada, adicionados ao meio de cultura CDA (cenoura-dextrose-ágar), e mediram o crescimento micelial do *C. gloeosporioides* isolado de mamão, observando que nas maiores concentrações, 20 e 40%, o extrato de alho inibiu 100% do crescimento micelial. No entanto, as mesmas concentrações de extrato de gengibre inibiram apenas, aproximadamente, 70% do desenvolvimento.

O extrato de alho, na concentração de 20%, reduziu significativamente o crescimento micelial em relação aos demais tratamentos testados por Venturoso (2009), e o extrato de canela 20% mostrou atividade antifúngica intermediária no crescimento micelial de *Colletotrichum* sp., isolado de sementes de soja. Os extratos também foram preparados pelo método da trituração do material vegetal.

Nos tratamentos com extrato aquoso de canela a 5% e a 15%, Reis (2014) verificou uma redução menos pronunciada do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* em comparação com os outros tratamentos testados, mas que diferiram da testemunha. Em contrapartida, Carli et al. (2010) não observaram efeito deletério sobre o crescimento micelial do *C. gloeosporioides*, *in vitro*, mesmo utilizando concentrações mais elevadas (20, 40 e 80%) de extrato aquoso de canela, o que pode ser devido ao preparo do extrato ter sido feito através da infusão de cascas de canela em água destilada em ebulição, diferente do processo realizado por Reis (2014) e no presente trabalho, que foi por meio da trituração do material vegetal em água destilada a temperatura ambiente.

A divergência de resultados pode ser tanto devido ao modo de preparo do extrato e de sua esterilização, como também pela qualidade e quantidade de princípio ativo presente no material vegetal utilizado, visto que os processos desde o cultivo até a

comercialização podem causar alterações nas propriedades medicinais, onde práticas culturais, manejo, ataque de pragas e doenças, etc, podem afetar a concentração dos princípios ativos com ação fungitóxica das plantas medicinais (MING, 1994).

Crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz sob diferentes concentrações de cravo-da-índia

Testando-se diferentes concentrações de cravo-da-índia, notou-se que o crescimento micelial do *C. gloeosporioides* Penz, foi inibido na concentração de 15%, e teve um crescimento inexpressivo, de 0,90 cm, na concentração de 10%, a partir do 18º dia de avaliação. A menor concentração testada, 2,5%, mostrou um crescimento micelial mais lento que a testemunha no início da avaliação, mas igualou-se no final do período. Na concentração de 5%, o crescimento micelial foi inicialmente lento e após o 10º dia de avaliação superou o crescimento da testemunha (FIGURA 3).

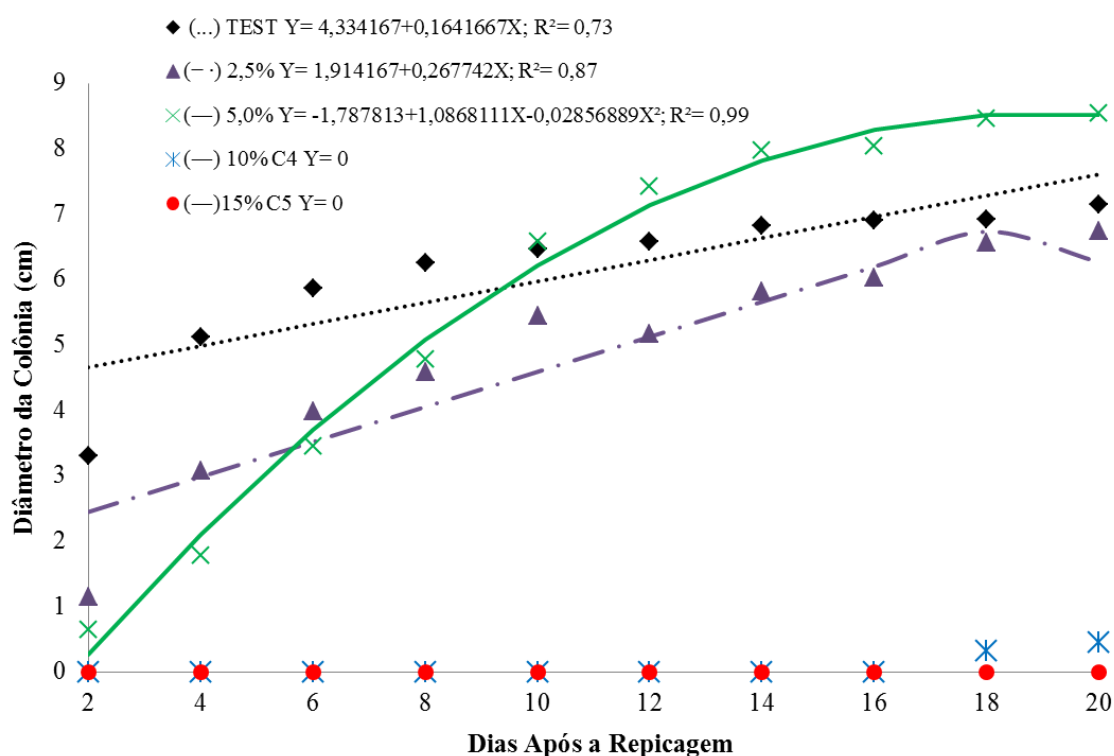


FIGURA 3: Diâmetro médio de colônias (cm) de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, *in vitro*, sob diferentes concentrações de extratos aquosos de cravo-da-índia: Testemunha (TEST), 2,5%, 5,0%, 10% e 15%, aos 2, 4, 6, 8, 10, 12, 12, 16, 18 e 20 dias após a repicagem. Dourados-MS, UFGD, 2015.

Testando diferentes concentrações de cravo-da-índia, Venturoso et al. (2011) também obtiveram resultados significativos com concentrações a partir de 5%, e puderam verificar a supressão total do crescimento micelial do fungo com a utilização de concentrações superiores a 7,4%. Marcondes et al. (2014) observaram crescimento micelial de apenas 0,90 cm, após 96 horas de incubação, na concentração de 20%, a maior concentração testada.

Na Figura 4 é apresentado um efeito linear da concentração de extrato de cravo sobre o crescimento micelial, sendo que com o aumento da concentração do extrato, há uma diminuição, no crescimento micelial do fungo. Na concentração de 13,67% o crescimento é completamente inibido.

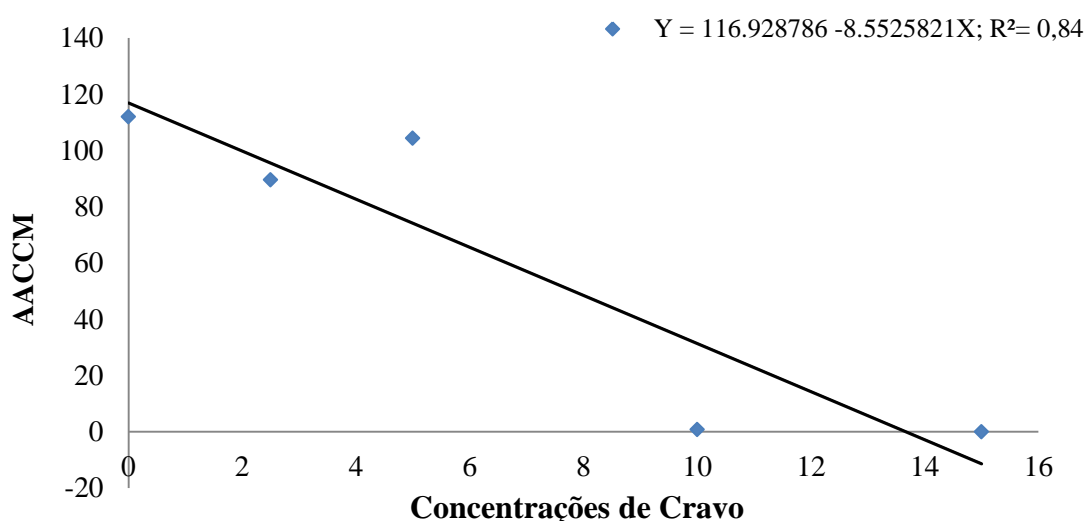


FIGURA 4: Área abaixo da curva de crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz sob as concentrações 2,5%, 5%, 10% e 15% de cravo-da-índia. Dourados – MS, 2015.

De maneira semelhante ao observado na presente pesquisa, o extrato aquoso de cravo-da-índia a 20% controlou o desenvolvimento dos patógeno, dentre eles o *C. gloeosporioides* Penz (SILVA et al., 2012).

Ascensão e Moucherek Filho (2013) observaram 100% de inibição no crescimento micelial de *Fusarium oxysporum*, em meio BDA com óleo essencial de cravo-da-índia na concentração de 0,001%.

CONCLUSÕES

De maneira geral, nas condições *in vitro*, para os extratos naturais testados, pode-se concluir em relação ao controle de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, que:

- O extrato aquoso de cravo-da-índia na concentração de 15%, o extrato aquoso de canela na concentração de 30% e o fungicida Procloraz na concentração de 100 ppm foram os tratamentos mais eficazes, inibindo 100% do crescimento micelial.

- O extrato aquoso de cravo-da-índia em concentração acima de 13,67% inibiu completamente o crescimento micelial.

- O alho e o gengibre não apresentaram eficácia, nesse experimento, apenas reduziram o crescimento micelial.

- A associação da quitosana com o extrato aquoso de canela a 15% apresentou um efeito sinérgico, sendo mais eficaz do que quando isolados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, Pe. J. M. **Plantas medicinais de uso popular**. Rio de Janeiro, Abeas . 1989.

ALVES, K. F. **Controle alternativo da antracnose do pimentão com extratos vegetais**. 2008. 47 f. Dissertação (mestrado em Fitopatologia), Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE.

ANVISA. Reavaliação toxicológica do ingrediente ativo Prochloraz. **Nota Técnica**. Gerência Geral de Toxicologia. Brasília, 15 de abril de 2015. Disponível online em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/fe89a70048f5938889569905df47c43c/Nota+T%C3%A9cnica+Prochloraz.pdf?MOD=AJPERES>> Acesso em 06 de março de 2016.

ASCENÇÃO, V. L.; MOUCHREK FILHO, V. E. Extração, caracterização química e atividade antifúngica de óleo essencial *Syzygium aromaticum* (cravo-da-Índia). **Cadernos de Pesquisa**, v. 20, n. especial, julho 2013.

ASSIS, O. B. G. The effect of chitosan as a fungistatic agent on cut apples **Revista Iberoamericana Tecnología Postcosecha**, vol. 9, núm. 2, 2008, pp. 148-152, Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, S.C. México.

BAILEY, A. J.; JEGER, J. M. **Colletotrichum: biology, pathology and control**. Oxford: British Society for Plant Pathology, 1992. 388p.

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

BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERNÁNDEZ-LAUZARDO, A. N.; VELÁZQUEZ-DELVALLE, M. G.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M.; BARKA, E. A.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; WILSON, C. L. Chitosan as a potencial natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. **Crop Protection**, v. 25, n. 2, p. 108-118, 2006.

BONALDO, S.M.; PASCHOLATI, S.F., ROMEIRO, R.S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005, p.11-28.

CARLI MD; FARIA CMDR; BALDIN I; FARIA MV; RESENDE JTV. Extrato de canela no controle *in vitro* de patógenos de pós-colheita. **Horticultura Brasileira** v. 28, n. 2 (Suplemento - CD Rom) S1091-S1093, julho 2010

CECHIM, F. E. **Quitosana na indução de resistência e controle in vitro de mofo cinzento, podridão parda e podridão amarga**. 2014. 97 f. Tese (Doutorado em

Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco.

DOU. DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO RESOLUÇÃO - RDC Nº 59, DE 3 DE FEVEREIRO DE 2016. Disponível online em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=48&data=04/02/2016>> Acesso em: 06 de março de 2016.

EL GHAOUTH, J.; PONNAMPALAM, R.; BOULET, M. Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. **Journal of Food Science**, v.56, n. 6, p.1618-1620, 1991.

FERREGUETTI, G. **Produção de mamão para o mercado externo e interno**. Campo Grande: Caliman Agrícola SA, 2006. 1CD-ROM.

FISCHER, I.H., KIMATI, H., RESENDE, J.A.M. **Doenças do maracujazeiro (*Passiflora spp.*)**. In: Kimati, H., Amorim, L., Resende, J.A.M., Bergamin Filho, A., Camargo, L.E.A. (Eds.) **Manual de fitopatologia** vol. 2 Doenças de plantas cultivadas - 4º ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p.467-474.

GÓMEZ, L.J.G.; SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J. Efectos cardiovasculares del ajo (*Allium sativum*). **Archivos latinoamericanos de nutrición**, Caracas, v.50, n.3, p.219-229, 2000.

HEINZMANN, B.M. **Compostos com enxofre**. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p 633-650.

MARCONDES, M.M.; MARTINS MARCONDES, M.; BALDIN, I.; MAIA, A.J.; LEITE, C.D.; FARIA, C.M.D.R. Influência de diferentes extratos aquosos de plantas medicinais no desenvolvimento de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Fusarium moniliforme*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.16, n.4, p.896-904, 2014.

MORAES, W.S; ZAMBOLIM, L.; LIMA, J.D. Quimioterapia de banana “Prata Anã” no controle de podridões em pós-colheita. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.75, n.1, p.79-84, 2008.

MING, L. C. Estudo e pesquisa de plantas medicinais na agronomia. **Horticultura Brasileira**, v. 12, n. 1, p. 3-9, 1994.

OLIVEIRA B. C. N.; NASCIMENTO M. B.; COSTA C. A.; ROCHA L. P.; SILVA I. L. **Avaliação do crescimento micelial em diferentes extratos de vegetais de *colletotrichum gloeosporioides*** 65º Reunião Anual da SBPC. 2013. Disponível em: <<http://www.sbpcnet.org.br/livro/65ra/resumos/resumos/6947.htm>> Acesso em 08 de dezembro de 2015.

RANASINGHE, L.; JAYAWARDENA, B.; ABEYWICKRAMA, K. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeilanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et LM. Perry against crown rot anthracnose pathogens isolated from banana. **Letters in Applied Microbiology**, v.35n. 3, p.208-211, 2002.

REIS, H, F dos. **Conservação pós-colheita de mamão formosa (*Carica papaya* L.) e controle alternativo *in vitro* e *in vivo* de *Colletotrichum gloeosporioides***. 2014. 128f TESE (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS.

RONDÓN, O.; ALBARRACÍN, N.S.; RONDÓN, A. Respuesta *in vitro* a la acción de fungicidas para el control de antracnosis, *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, en frutos de mango. **Agronomia Tropical**, v.56, n.2, p.219-235, 2006.

ROZWALKA, L.C.; LIMA, M.R.L.Z.C.; MIO, L.L.M.; NAKASHIMA, T. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, v.38, n.2, p.301-307, 2008.

SERRA, I. M. R. de S.; SILVA, G. S. da. Caracterização morfofisiológica de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* agentes de antracnose em frutíferas no Maranhão. **Summa Phytopathologica**, v. 30, n. 4, p. 475-480. 2004.

SILVA, J. L. da; TEIXEIRA, R.N.V.; SANTOS, D. I. P.; PESSOA, J. O. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o crescimento *in vitro* de fitopatógenos. **Revista Verde** v.7, n.1, p. 80 – 86. 2012.

SOUSA, A.L.; PONTE, N.H.T.; BAIA, A.D.B; COSTA, C. A.; NASCIMENTO, M. B.; SILVA, I.L.S.S. Utilização de extrato aquoso de alho (*Allium sativum* L.) no controle alternativo de *Colletotrichum* sp. da cultura da chicória (*Chicorium endivia* L.) *in vitro*. **Tropical Plant Pathology** **38** (Suplemento), agosto 2012 In. 45º Congresso Brasileiro de Fitopatologia - Manaus, AM. Disponível online em: <<http://webftp.cpa.embrapa.br/site/Trabalhos/796.pdf>> Acesso em: 04 de março de 2016.

TAVARES, G.M.; SOUZA, P.E. Efeito de fungicidas no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da antracnose do mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Viçosa, v.29, n.1, p.52-59, 2005.

VENTUROSO, L.R. *Extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos à soja*. 2009. 99 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS.

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

ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; VENTURA, J.A.; VALE, F.X.R. Controle de doenças pós-colheita de frutas tropicais. In: Zambolim, L. (Ed.). **Manejo integrado: fruteiras tropicais** – doenças e pragas. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002. cap. 12, p.443-511.

CAPÍTULO II

CONTROLE DE ANTRACNOSE EM MAMÃO FORMOSA COM EXTRATOS VEGETAIS E QUITOSANA

CONTROLE DE ANTRACNOSE EM MAMÃO FORMOSA COM EXTRATOS VEGETAIS E QUITOSANA

RESUMO - O mamão (*Carica papaya* L.) é uma das frutas mais produzidas e consumidas no Brasil, entretanto as doenças como as podridões são a principal causa de perdas na pós-colheita. A crescente preocupação com resíduos nos frutos e o aparecimento de genótipos de patógenos resistentes aos fungicidas, justificam o desenvolvimento de técnicas alternativas que minimizem o uso de produtos químicos. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia de extratos vegetais associados com a quitosana no controle do *Colletotrichum gloeosporioides* Penz em mamão Formosa. O experimento foi conduzido no Laboratório de Microbiologia Agrícola e Fitopatologia da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, em Dourados–MS. Os frutos de mamão Formosa foram submetidos aos seguintes tratamentos: 1 – Testemunha (água destilada); 2 Testemunha – fungicida Procloraz (Sportak® 450 EC) na concentração de 0,75 mL/L; 3 – quitosana 4%; 4 – extrato aquoso de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry, Myrtaceae) 10%; 5 – extrato aquoso de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume, Lauraceae) 30%; 6– extrato aquoso de cravo da índia 10% + quitosana 4%; 7 – extrato aquoso de canela 30% + quitosana 4%. Após 24h, os frutos foram inoculados com *C. gloeosporioides* e avaliados quanto a severidade da doença a cada dois dias. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 7 tratamentos e 4 repetições. Observou-se, que apenas na terceira avaliação, os tratamentos com fungicida e extrato aquoso de canela a 30% associado à quitosana a 4% diferiram estatisticamente da testemunha. Avaliando a área abaixo da curva de progresso da doença, observou-se que o tratamento com extrato aquoso de cravo também foi eficaz em reduzir a severidade da antracnose nos frutos.

PALAVRAS CHAVE: *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, *Carica papaya* L., pós-colheita.

ANTHRACNOSE CONTROL IN TAIWAN WITH PAPAYA EXTRACT VEGETABLES AND CHITOSAN

ABSTRACT – Papaya (*Carica papaya* L.) is one of the fruits produced in Brazil and consumed, however diseases such as rots are the major cause of loss in post-harvest. The growing concern about residues in fruits and the emergence of pathogen genotypes resistant to fungicides, justify the development of alternative techniques that minimize the use of chemicals. Thus, this study aimed to evaluate the efficacy of plant extracts associated with chitosan in control of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz in Formosa papayas. The experiment was conducted at the Agricultural Microbiology Laboratory of Phytopathology, Federal University of Grande Dourados - UFGD in Dourados-MS. The fruits of papaya Formosa were submitted to the following treatments: 1 - Witness (distilled water); 2 Witness - fungicide Prochloraz (450 Sportak® CS) at a concentration of 0.75 ml / L; 3 - 4% chitosan; 4 - aqueous extract of clove cloves (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry, Myrtaceae.) 10%; 5 - aqueous extract of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume, Lauraceae) 30%; 6- aqueous extract dianthus 10% + 4% chitosan; 7 - aqueous extract of cinnamon 30% + 4% chitosan. After 24 hours, the fruits were inoculated with *C. gloeosporioides* and the severity of the disease was assessed every two days. The experimental design was completely randomized with 7 treatments and 4 repetitions: It was observed, only in the third assesment, that, treatment with fungicide and aqueous extract of cinnamon to 30% associated with chitosan to 4% differed significantly from the control. Evaluating the area under the disease progress curve, it was observed that treatment with aqueous extract of clove was also effective in reducing the severity of the fruit anthracnose.

KEYWORDS: *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, *Carica papaya* L., postharvest.

INTRODUÇÃO

As doenças pós-colheita em frutos são responsáveis por perdas, em muitos casos, superiores a 50%, antes de chegar à mesa do consumidor, e os frutos que chegam, nem sempre possuem a qualidade desejada (TAVARES, 2004). Dentre as muitas doenças que ocorrem na pós-colheita, as podridões são um dos principais problemas enfrentados pelos produtores de frutas e hortaliças (GOMES, 2007).

A antracnose é uma podridão causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., sendo uma das mais importantes doença fúngica pós-colheita, da cultura do mamoeiro (*Carica papaya* L.), podendo acarretar perda total da produção (DANTAS, 2003; GOMES, 2007).

No geral, os agentes causais das doenças pós-colheita têm em comum a capacidade de ingressarem no fruto ainda no campo, e permanecerem em estado latente, não provocando sintomas, até que as condições sejam favoráveis, manifestando-se apenas nas fases de embalagem, transporte, amadurecimento e comercialização (NERY-SILVA et al., 2001; CIA e BENATO, 2005).

O manejo das doenças em qualquer cultura deve ser empregado visando à redução dos danos causados a níveis economicamente aceitáveis, que não acarretem em prejuízos para o agroecossistema (ZAMBOLIM et al., 1997).

O controle das doenças pós-colheita, na cultura do mamão, é feito através do tratamento hidrotérmico, que tem alta eficiência, porém não tem efeito residual, e preconiza-se a aplicação, em sequência, de ceras fungicidas para prevenir infecções futuras, e reduzir as perdas causadas pela antracnose (ALVAREZ e NISHIJIMA, 1987).

O uso de fungicidas, em curto prazo, foi eficaz para o alcance de grandes produtividades, mas em longo prazo contribuíram para o surgimento de isolados de fitopatógenos resistentes a essas substâncias químicas, e também são um risco para o meio ambiente e a saúde humana por causa de seus resíduos (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

O ingrediente ativo Procloraz utilizado em produtos agroquímicos para o controle de doenças pós-colheita como a antracnose em frutos de mamão teve sua utilização proibida através da RESOLUÇÃO - RDC Nº 60, de 3 de fevereiro de 2016 publicada no Diário Oficial da União (DOU, 2016). Uma nota técnica de reavaliação toxicológica deste ingrediente ativo feita pela ANVISA (2015), concluiu que provoca

distúrbios hormonais e danos ao aparelho reprodutor e que deveria ter seu registro cancelado no Brasil. O mesmo documento relata também a detecção de resíduos acima do permitido em diversas culturas, sendo que o mamão foi a cultura com maior número de detecções (157). Cabe ressaltar que o fungicida apresentava registro para apenas três culturas, entretanto, em outras onze culturas analisadas, foi encontrado resíduo de Procloraz, o que indica o uso indevido da substância.

Este fato aumenta o interesse pela busca de substituto para os produtos químicos, e a utilização de plantas com potencial antimicrobiano é uma alternativa de interesse econômico e ecológico bastante promissor (SOUZA et al., 2007). A determinação de plantas e de seus metabólitos secundários, capazes de controlar o desenvolvimento de fitopatógenos, ou de induzir resistência nas plantas, pode contribuir para aquisição de conhecimentos que reforçam a possível utilização de extratos e óleos vegetais como um método de controle alternativo (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

A eficácia de extratos vegetais e de moléculas naturais no controle de patógenos causadores de doenças pós-colheita *in vitro*, já foi objetivo de muitas pesquisas, entretanto há pouca informação quanto ao seu efeito *in vivo* (REIS, 2014). Necessita-se de pesquisas visando elucidar o modo de ação dos extratos vegetais e óleos essenciais e também sua aplicabilidade, para que se possa definir sua utilização de modo eficiente para cada fitopatógeno e cultura.

Considerando a eficácia dos produtos naturais em controlar o *C. gloeosporioides*, *in vitro*, faz-se necessário que seja verificada sua eficácia *in vivo*. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a utilização de extratos aquosos de cravo-da-índia e de canela, associados à quitosana, como agentes de controle da antracnose em frutos de mamão.

MATERIAL E MÉTODOS

No Laboratório de Microbiologia Agrícola e Fitopatologia da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, em Dourados-MS, foi conduzido o experimento *in vivo*, em agosto de 2015.

Foram adquiridos mamões Formosa de um produtor da região, de Dourados-MS, em agosto de 2015, sem nenhum tratamento prévio, adotando-se como padrão, frutos em estágio 2 de maturação, segundo a escala utilizada por Ferregueti (2006).

Os frutos foram envolvidos em papel jornal e acondicionados em caixas plásticas e, então, transportados ao Laboratório de Microbiologia Agrícola e Fitopatologia da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, em Dourados-MS, onde foi feita uma seleção, descartando-se aqueles com coloração inadequada ou lesões, a fim de uniformizar o estágio de maturação e o aspecto qualitativo, sem a presença injúrias ou sinais de doenças. Os frutos foram lavados com água e detergente e secos ao ar, para em seguida serem submetidos aos tratamentos.

Os mamões foram imersos durante 5 minutos, dois a dois, em bacia contendo a solução dos seguintes tratamentos, com posterior secagem natural dos frutos: 1 – Testemunha (água destilada); 2 – Testemunha - fungicida Procloraz (Sportak® 450 EC) na concentração de 0,75 mL do produto comercial por 1 litro de água, por 2 minutos; 3 – quitosana a 4%; 4 – extrato aquoso de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry, Myrtaceae) a 10%; 5 – extrato aquoso de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume, Lauraceae) a 30%; 6 – extrato aquoso de cravo da índia (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry, Myrtaceae) a 10% + quitosana a 4%; 7 – extrato aquoso de canela – extrato aquoso de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume, Lauraceae) a 30% + quitosana a 4%.

As soluções dos extratos vegetais foram preparadas utilizando cascas de canela e o botão floral do cravo-da-índia. Trinta gramas de cada material vegetal foram triturados em 120 mL de água destilada por um minuto. Após a trituração, o material foi filtrado em peneira, gaze e algodão, acondicionado em Erlenmeyer e deixado em banho-maria a 65° C por 60 minutos, a fim de descontaminar a solução.

A solução de quitosana 4% foi preparada pela dissolução de 400 g de quitosana em 10 L de água destilada, com aquecimento a 100° C e agitação constante por 5 horas.

Durante o preparo, a solução foi ajustada e mantida a pH 5,5 através da adição de ácido acético P.A.

Imediatamente após a imersão nos tratamentos, os frutos foram colocados em copos de isopor para dar suporte, com a região peduncular voltada para cima, e, envoltos por sacos plásticos, por 24 horas. Ao término deste período, os frutos foram inoculados.

Para inoculação do fungo, foi preparada uma suspensão de conídios de um isolado de *C. gloeosporioides* incubado por 12 dias, adicionando-se 10 mL de água destilada esterilizada sobre a superfície da placa de Petri, raspando-a suavemente com alça de Drigalsky. A suspensão foi filtrada em camada dupla de gaze esterilizada e, com auxílio de um hemacitômetro, obtêve-se uma concentração de $1,7 \times 10^5$ conídios/mL.

Os frutos foram então perfurados na região peduncular com um perfurador flambado, a uma profundidade de 2 cm, em quatro locais equidistantes. Sobre a superfície de cada área ferida, foi depositada uma gota (~ 0,04 mL) de suspensão de conídios. Para a testemunha, o procedimento foi repetido utilizando-se água destilada esterilizada. Após a inoculação, a região peduncular de cada fruto foi submetida à câmara úmida, por meio de copos de plásticos descartáveis de 50 ml. Estes foram perfurados na base, na qual foi colocado a seção de gaze esterilizado de 5 cm², umedecido com água destilada esterilizada. O copo foi fixado sobre a região do pedúnculo, com auxílio de fita adesiva na superfície do fruto. A câmara úmida foi desfeita após 48 horas da inoculação, sendo os frutos armazenados em uma câmara a 25°C, com fotoperíodo de 12 horas (NERY-SILVA et al., 2007; NASCIMENTO et al., 2008).

As avaliações foram realizadas aos 2, 4 e 6 dias da inoculação, onde foram atribuídas notas aos sintomas da podridão peduncular, de acordo com a escala de notas de severidade da doença, sugerida por Nery-Silva et al. (2001), em que: 1- Ausência de sintomas da podridão peduncular; 2- Presença de pequenas pontuações (até 3 mm), aquosas superficiais na região do pedúnculo; 3- Presença de lesões aquosas ou mumificadas, não coalescentes, abrangendo maior área em torno do pedúnculo; 4- Presença de lesões coalescentes, com aspecto translúcido ou mumificado, limitando-se à região peduncular; 5- Lesões semelhantes às descritas na escala 4, abrangendo maior extensão na polpa do fruto, podendo chegar até a cavidade das sementes; o tecido dessa região pode apresentar excessivo amaciamento.

As notas foram utilizadas para calcular a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), utilizando-se a equação:

$$AACPD = \sum [(y_i + y_{i+1}) / 2] \times (t_{i+1} - t_i)$$

onde, y_i é a nota atribuída ao sintomas da podridão peduncular no fruto, no tempo t_i , em dias.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado – DIC com 7 tratamentos e 4 repetições por tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância e tendo ocorrido significância, as médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A severidade da antracnose em frutos de mamão foi afetada pelos diferentes tratamentos testados (QUADRO 1). As avaliações *in vivo* demonstram que não houve diferença significativa entre os tratamentos no segundo e quarto dias de avaliação. Entretanto, no sexto dia após a inoculação, o fungicida e o tratamento com canela 30% + quitosana 4% apresentaram menor índice de lesões causadas pelo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz com médias significativamente inferiores à testemunha. Considerando-se a área abaixo da curva de progresso da doença, os tratamentos com extrato aquoso de cravo-da-índia a 10%, de canela a 30% + quitosana a 4% e o fungicida Procloraz na concentração de 0,75 mL/L reduziram a severidade da doença.

QUADRO 1. Severidade de antracnose causada pelo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, em frutos de mamão, sob diferentes tratamentos: extrato aquoso de cravo-da-índia 10%, extrato aquoso de canela 30%, extrato aquoso de cravo-da-índia 10% + quitosana a 4%, extrato aquoso de canela a 30% + quitosana 4%, quitosana 4%, fungicida Procloraz 0,75 mL/L e testemunha aos 2, 4 e 6 dias após a inoculação. Dourados – MS, UFGD, 2015

Tratamento	Dias Após Inoculação			AACPD
	2	4	6	
Cravo 10%	1,25 a	2,00 a	2,75 b	8,00 a
Canela 30%	1,75 a	2,50 a	3,50 b	10,25 b
Cravo 10% + Quitosana 4%	1,50 a	2,50 a	3,25 b	9,75 b
Canela 30% + Quitosana 4%	1,50 a	1,75 a	2,25 a	7,25 a
Quitosana 4%	1,75 a	2,75 a	3,50 b	10,75 b
Fungicida Procloraz	1,00 a	1,25 a	1,50 a	5,00 a
Testemunha	1,75 a	2,25 a	3,25 b	9,50 b
CV %	30,28	30,83	22,05	24,28

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

Em estudo realizado por Fischer et al. (2012) a quitosana, em concentrações mais elevadas do que a do presente trabalho (10 e 60%), também não foi eficaz na redução da incidência da antracnose, causada pelo *C. gloeosporioides*, em frutos de goiaba. Já outros trabalhos relatam a eficácia em controlar doenças em outras culturas,

como na concentração de 4% em mamão Golden, 3,5 a 7% em pimenta (GOMES e SERRA, 2013); em morango, pêssigo e maçã (CECHIN, 2014); e em mamão Formosa na concentração de 8% (REIS, 2014); esse resultado ter sido atribuído à concentração utilizada, ou mesmo em função de frutas e fungos de diferentes espécies (REIS, 2014). Entretanto, a quitosana associada a outros produtos naturais, como o extrato aquoso de canela, foi eficiente.

Existem evidências de que a quitosana pode atuar de três modos distintos na proteção das plantas: primeiro inibindo o crescimento dos fungos, principalmente devido à quitina ser o constituinte principal da parede; em segundo, induzindo a produção da enzima quitinase e da glucanase e por último induzindo a produção de fitoalexinas pela planta (DEVLIEGHIERE et al., 2004).

Em trabalho semelhante, Reis (2014) verificou redução na severidade de antracnose em frutos de mamão 'Formosa' tratados com extrato aquoso de cravo-da-índia na concentração de 15%. Trabalhos que avaliaram o efeito do óleo essencial do cravo-da-índia, também se mostraram eficazes, como por exemplo, a redução no diâmetro da lesão causada por *C. gloeosporioides* em mamão 'Golden' tratado com óleo essencial na concentração de 3%, após seis dias da inoculação (GOMES, 2008). Sementes de café inoculadas com o *C. gloeosporioides*, e posteriormente tratadas com o óleo essencial de cravo-da-índia a 0,75 e 1,0% não apresentaram incidência da doença mancha manteigosa, e quando tratadas com o extrato na concentração de 10% apresentaram apenas 27,5% de incidência do fungo (PIERRE, 2009). O composto secundário eugenol está presente tanto no óleo como extrato aquoso, e esses resultados apontam o potencial antimicrobiano do cravo-da-índia para o controle de diversos patógenos em diferentes espécies de plantas.

O extrato aquoso de canela a 30% só foi eficaz em reduzir a severidade da antracnose quando associado à quitosana a 4%, assim como foi observado no experimento *in vitro* com as mesmas concentrações, o que demonstra um efeito sinérgico entre esses dois produtos naturais, potencializando suas ações fungitóxicas.

A eficácia da canela em controlar fitopatógenos é relatada por outros autores. Em concentrações maiores do que neste experimento, 60 e 80%, houve redução na severidade da podridão por *Lasiodiplodia* em maracujazeiro amarelo (SILVA, 2012); e utilizando o óleo essencial, na concentração de 7,5% reduziu-se a severidade da antracnose causada pelo *Colletotrichum musae* Berk em frutos de banana 'Prata' (BORGES, 2011).

A divergência nos resultados nas diversas alternativas testadas tem sido relatada em diferentes frutíferas, épocas de aplicação e concentração dos produtos. Isso porque, em cada patossistema, a reposta desses produtos no controle de doenças pós-colheita pode acontecer de forma diferente (OLIVEIRA et al., 2004). Além desses fatores, a forma de aproveitamento do material vegetal (seco ou fresco), os métodos de extração, bem como as concentrações utilizadas, podem resultar em maior eficiência e credibilidade dos resultados (ROZWALKA et al., 2008).

O controle da antracnose apresentado pelo fungicida Procloraz também é descrito por outros autores: a partir do quarto dia após inoculação, na concentração de 0,75 mL/L, em frutos de mamão 'Formosa' (REIS, 2014); e nas concentrações de 250 e 350 mg do i.a/L, (NERY-SILVA et al., 2001).

Pelos resultados obtidos, os extratos vegetais de cravo-da-índia, canela e a quitosana devem continuar a ser estudados, pois se mostram alternativas viáveis no controle do *C. gloeosporioides* em frutos de mamão. O fungicida Procloraz foi eficaz no controle da antracnose no mamão, como era esperado.

CONCLUSÕES

Nas condições testadas, pode-se concluir que:

- O extrato aquoso de cravo-da-índia a 10% e o extrato aquoso de canela a 30% associado à quitosana 4% e o fungicida Procloraz reduziram a severidade da antracnose em relação aos demais tratamentos.

- A ação sinérgica entre o extrato aquoso de canela e a quitosana mostra-se uma alternativa eficaz no controle da antracnose causada pelo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz em mamão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ, A.M.; NISHIJIMA, W.T. Postharvest diseases of papaya. **Plant Disease**, v.71, n.7, p.681-686, 1987.

ANVISA. Reavaliação toxicológica do ingrediente ativo Prochloraz. **Nota Técnica**. Gerência Geral de Toxicologia. Brasília, 15 de abril de 2015. Disponível online em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/fe89a70048f5938889569905df47c43c/Nota+T%C3%A9cnica+Prochloraz.pdf?MOD=AJPERES>> Acesso em 06 de março de 2016.

BORGES, D. I. **Óleos essenciais no comportamento da antracnose em pós-colheita de banana Prata**. 2011. 154f. Tese (Doutorado - Fitotecnia) Universidade Federal de Lavras – Lavra-MG.

CECHIM, F. E. **Quitosana na indução de resistência e controle in vitro de mofo cinzento, podridão parda e podridão amarga**. 2014. 97 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco-PR.

CIA, P. **Avaliação de agentes bióticos e abióticos na indução de resistência e no controle pós-colheita da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) em mamão (*Carica papaya* L.)**. 2005. 197f. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Piracicaba – SP.

CIA, P.; BENATO, E.A. Doenças do mamão. **Informe Agropecuário**, v.26, n.167, p.25-29, 2005.

DANTAS, S. A. F. **Doenças fúngicas pós-colheita em frutas de mamão e laranja: ocorrência e indução de resistência com elicitores bióticos e abióticos**. 2003. 32f Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

DEVLIEGHIERE, F.; VERMEULEN, A.; DEBEVERE, J. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. **Food Microbiol**, v. 21, n.6, p. 703-714, 2004.

DOU. DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO RESOLUÇÃO - RDC Nº 59, DE 3 DE FEVEREIRO DE 2016. Disponível online em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=48&data=04/02/2016>> Acesso em: 06 de março de 2016.

FERREGUETTI, G. **Produção de mamão para o mercado externo e interno**. Campo Grande: Caliman Agrícola SA, 2006. 1CD-ROM.

FISCHER, I. H.; SILVA, B. L. DA; SOARES, A. R.; ARRUDA, M. C. DE; PARISI, M.C.M.; AMORIM, L. Efeito de fungicidas e produtos alternativos no controle da

antracnose e da pinta preta da goiaba. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, suplemento 1, p. 2753-2766, 2012.

GOMES, P.; **Fruticultura brasileira**, São Paulo: Ed Nobel 2007, p304.

GOMES, L. I. S. **Métodos de inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides* e efeito dos óleos essenciais no controle da antracnose em frutos de mamoeiro**. 2008. 67f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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

NASCIMENTO, L.C.; NERY, A.R.; RODRIGUES, L.N. Controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamoeiro, utilizando extratos vegetais, indutores de resistência e fungicida. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.30, n.3, p.313-319, 2008.

NERY-SILVA, F.A.; MACHADO, J.C.; LIMA, L.C.O.; RESENDE, M.L.V. Controle químico da podridão peduncular de mamão causada por *Colletotrichum gloeosporioides*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.3, p.519-524, 2001.

NERY-SILVA, F.A.; MACHADO, J.C.; RESENDE, M.L.V.; LIMA, L.C.O. Metodologia de inoculação de fungos causadores da Podridão peduncular em mamão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.5, p. 1374-1379, 2007.

OLIVEIRA, S. M. A.; DANTAS, S. A. F.; GURGEL, L. M. S. Indução de resistência em doenças pós-colheita em frutas e hortaliças. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, São Paulo, v. 12, p. 343-371, 2004.

PIERRE, R. O. **Óleo essencial e extrato de cravo-da-índia no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* agente causal da mancha manteigosa em sementes e mudas de café**. 2009. 61 p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Fitopatologia). Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG.

REIS, H, F dos. **Conservação pós-colheita de mamão formosa (*Carica papaya* L.) e controle alternativo in vitro e in vivo de *Colletotrichum gloeosporioides***. 2014. 128f Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS.

ROZWALKA, L.C.; LIMA, M.R.L.Z.C.; MIO, L.L.M.; NAKASHIMA, T. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.2, p.301-307, 2008.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Floresta**, Curitiba, v.30, n. 1, p.129-37, 2000.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Extratos vegetais e de cogumelos no controle de doenças de plantas, **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v.27, n.2, p.4038-4045, 2009. Suplemento - CD-ROM.

SILVA, E. K. C. **Condições favoráveis para ocorrência da podridão por *lasiodiplodia* e métodos alternativos de controle na pós-colheita do maracujá-amarelo.** 2012. 95f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) Universidade Federal Rural de Pernambuco – Recife -PE.

SOUZA, A. E. F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L. C. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Viçosa, v.32, n.6, p.465-471, 2007.

TAVARES, G.M. **Controle químico e hidrotérmico da antracnose em frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) na pós-colheita.** 2004. 55p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; COSTA, H. **Controle integrado das doenças de hortaliças.** Viçosa: UFV, 1997. 122p.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante da preocupação mundial com os resíduos deixados pelos agrotóxicos utilizados na agricultura, e os riscos que os mesmos podem causar ao meio ambiente e a saúde humana, além do surgimento de raças de patógenos tolerantes aos produtos químicos utilizados no seu controle, justifica-se a busca por alternativas não poluentes.

Os compostos antimicrobianos presentes em algumas espécies de plantas medicinais e também de produtos naturais como a quitosana se mostram alternativas promissoras para a substituição dos produtos químicos.

O presente trabalho concluiu que os extratos aquosos vegetais de cravo-da-índia e canela foram eficazes no controle do *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, agente causal da antracnose em mamão, *in vitro*, e também a associação do extrato aquoso de canela com a quitosana. Em ensaio *in vivo*, também foi observada a sinérgia entre o extrato aquoso de canela e a quitosana, reduzindo a severidade da doença. Esses resultados sugerem o potencial desses produtos em substituir a utilização de fungicida, no entanto, mais estudos devem ser realizados para que seja recomendado como método de controle.

APÊNDICE I

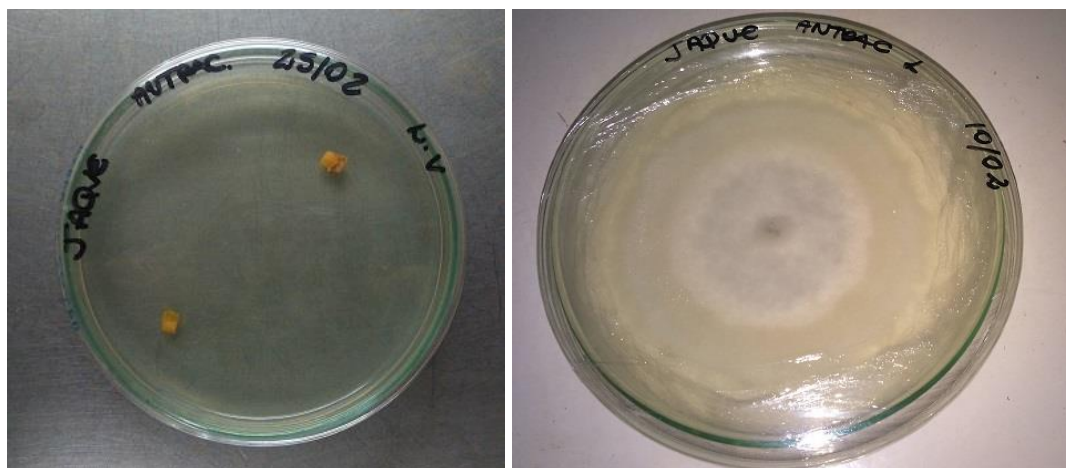


FIGURA 1. Detalhes das placas de Petri de A – pedaços de casca com lesões de antracnose e B - colônia do *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Fonte: Dourados – MS, 2015.



FIGURA 2. Detalhes dos materiais utilizados: A – Quitosana; B – Canela ; C – Cravo –da-índia; D – Gengibre, E - Alho. Fonte: Dourados–MS, UFGD, 2015.

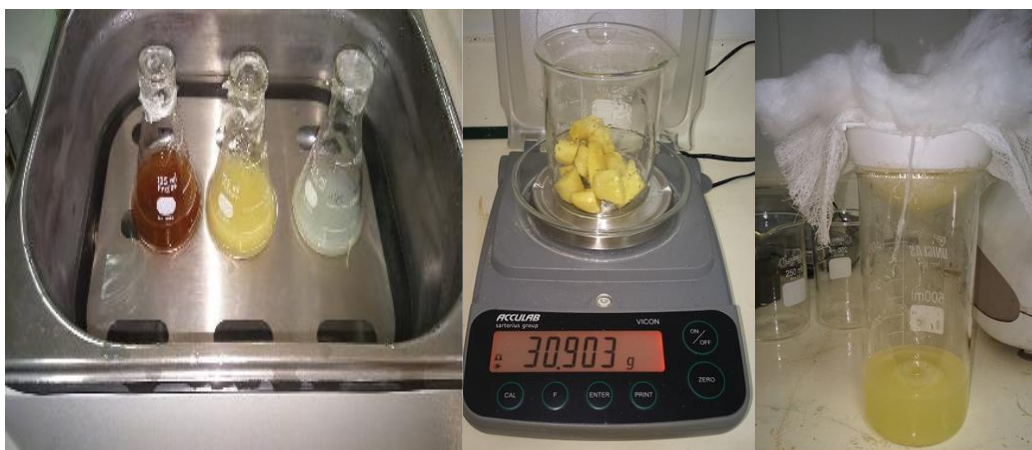


FIGURA 3. Detalhes do processo de produção dos extratos aquosos. Fonte: Dourados-MS, UFGD, 2015.

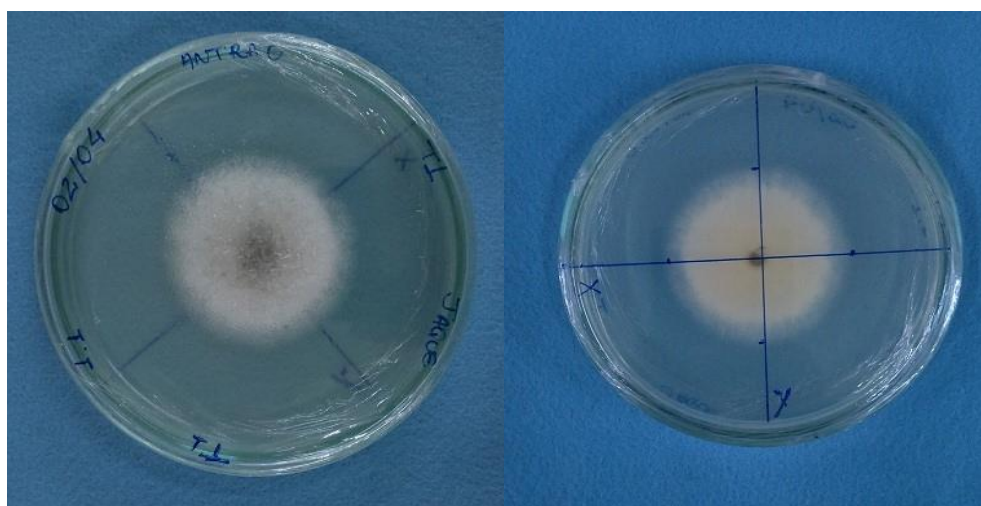


FIGURA 4. Avaliação do crescimento do diâmetro micelial em dois sentidos. Fonte: Dourados-MS, UFGD, 2015.

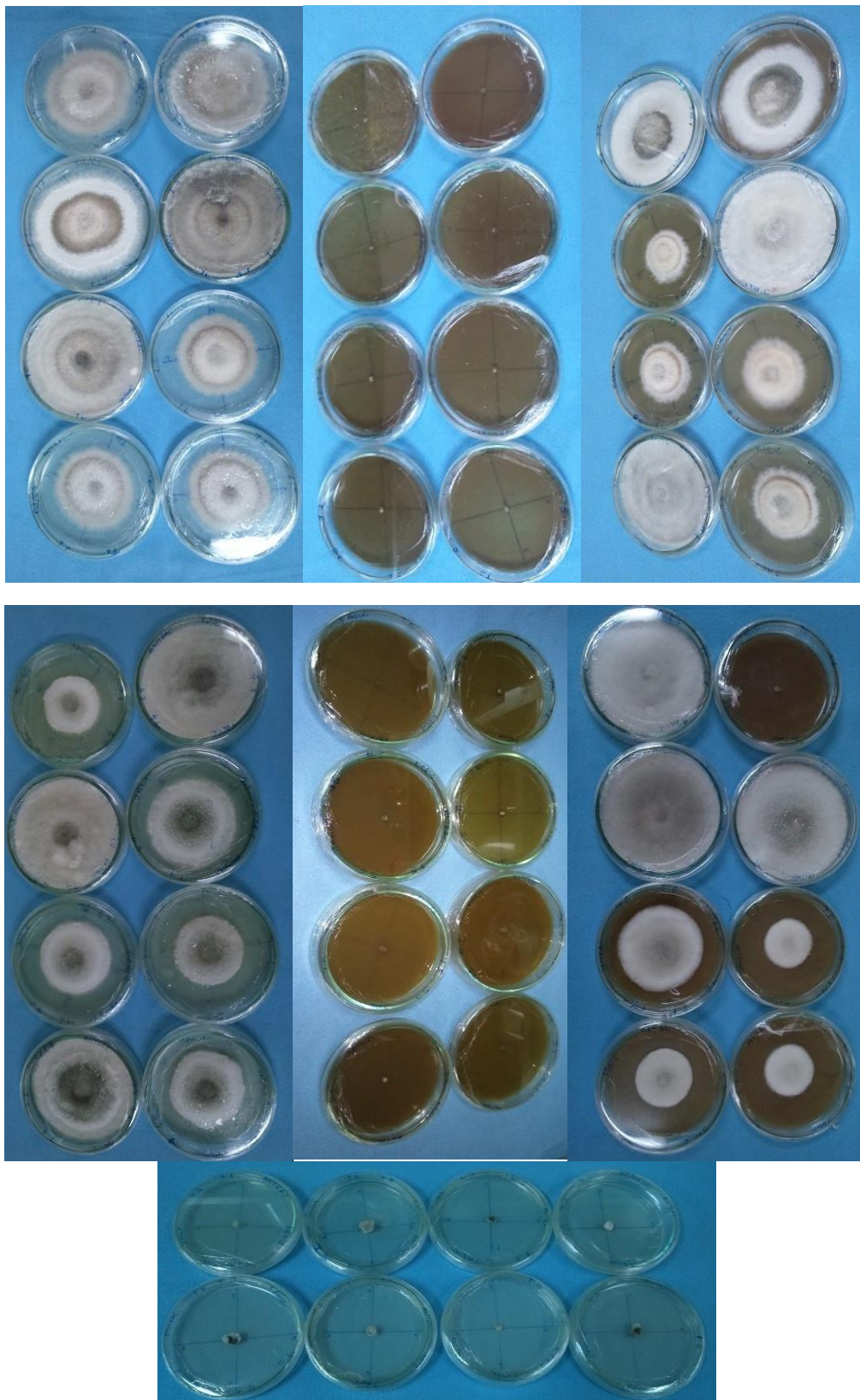


FIGURA 5. Colônias de *C. gloeosporioides* Penz ao 12º dia de avaliação conforme os tratamentos: A - Test; B – Cravo 15%; C- Canela 15%; D – Quitosana 4%; E – Cravo 15% + Quitosana 4%; F – Canela 15% + Quitosana 4%; G – Fungicida Procloraz 100ppm. Dourados - MS, 2015.

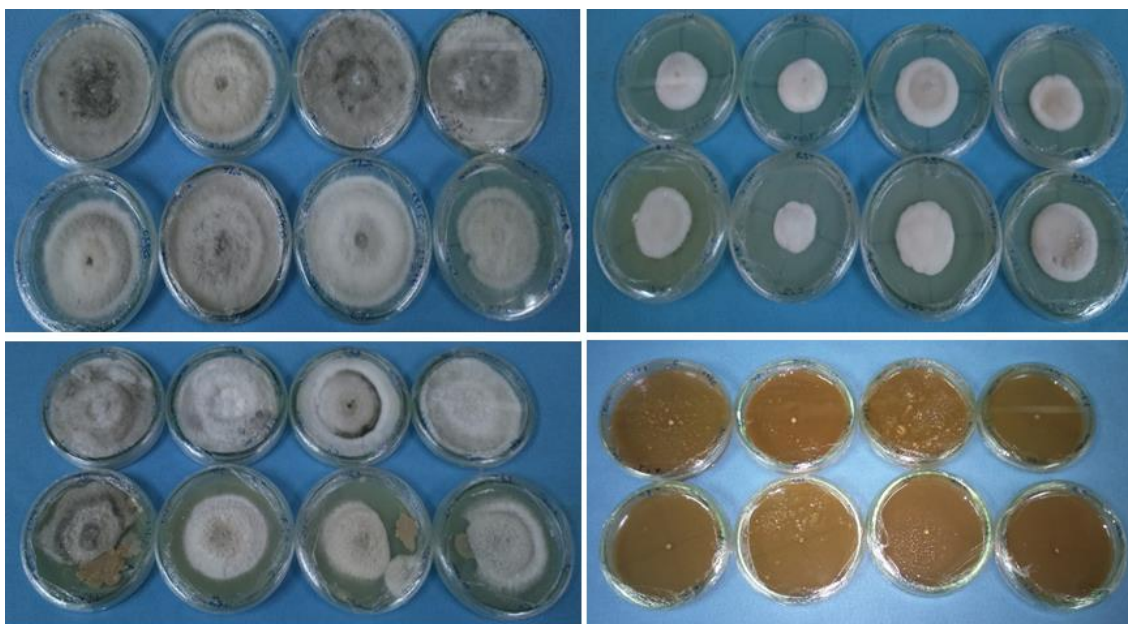


FIGURA 6. Colônias de *C. gloeosporioides* Penz ao 10º dia de avaliação, conforme os tratamentos: A – Testemunha; B – Alho 20%; C – Gengibre 30%; D – Canela 30%. Dourados – MS, 2015.

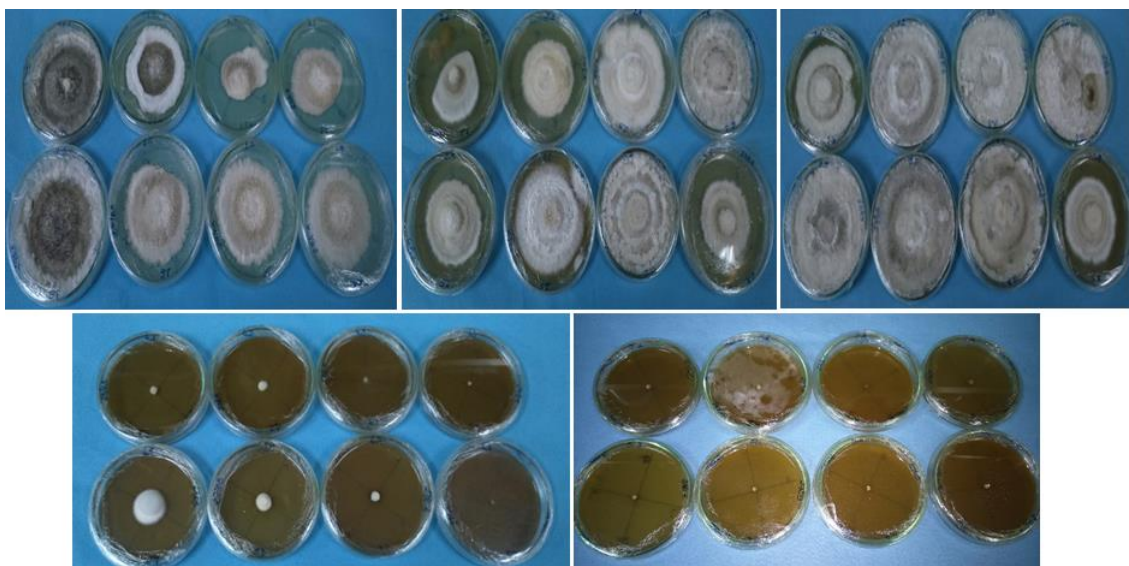


FIGURA 7. Colônias de *C. gloeosporioides* Penz ao 20º dia de avaliação, conforme os tratamentos: A- Testemunha; B- Cravo 2,5%; C- Cravo 5%; D- Cravo 10%; E – Cravo 15%. Dourados – MS 2015.



FIGURA 8. Preparo da solução de quitosana a 4%. A - Quitosana comercial; B - Pesagem da quitosana; C - Dissolução em água destilada, em agitação constante e fervura; D – Detalhe da aferição do pH a 5,5. Dourados – MS. 2015.



FIGURA 9. Preparo do extrato vegetal de canela. A - Pesagem da casca de canela. B - casca de canela e água destilada para trituração por 1 min em liquidificador; C – Detalhe da solução de canela sendo peneirada; D - Extrato de Canela coado em gaze, algodão e peneira. Dourados – MS. 2015.



FIGURA 10. Detalhe do processo de esterilização dos extratos, banho-maria a 65°C durante 1 hora. A- Extrato aquoso de cravo-da-índia; B - Extrato aquoso de canela. Dourados - MS. 2015.



FIGURA 11. Detalhe dos frutos de mamão higienizados, previamente separados, antes de receber os tratamentos com os extratos, a quitosana e o fungicida. Dourados - MS. 2015.



FIGURA 12. Detalhe do tratamento dos frutos. A - Testemunha; B - Quitosana 4%; C - Canela a 30%; D - Cravo-da-índia a 10%; Dourados - MS. 2015.



FIGURA 13. Detalhe do tratamento dos frutos. A - Cravo-da-índia a 10% + quitosana 4%; B - Canela a 30% + quitosana 4%; C - Fungicida Procloraz. Dourados - MS. 2015.



FIGURA 14. Detalhe da câmara úmida feita nos frutos após os tratamentos, permanecendo por 24h. Dourados - MS. 2015.



FIGURA 15. Detalhes da inoculação do *C. gloeosporioides* Penz nos frutos de mamão, 24 horas após os tratamentos dos frutos. A - placa de Petri com micélios de *C. gloeosporioides* Penz utilizado para o preparo da solução; B - Inoculação da solução em quatro pontos equidistantes na região ao redor do pedúnculo dos frutos, com auxílio de uma seringa; C - Câmara úmida sobre a região da inoculação do fungo, permanecendo por 48h. Dourados - MS. 2015.



FIGURA 16. Detalhes dos frutos armazenados em fotoperíodo de 12h, a temperatura de 25° C, durante todo período de avaliação. Dourados - MS. 2015.

APÊNDICE II

QUADRO 1. Resumo do quadro da análise de variância para o experimento que avaliou o diâmetro médio de colônias (cm) de *C. gloeosporioides* Penz, *in vitro*, sob diferentes tratamentos: extrato aquoso de cravo-da-índia a 15%, extrato aquoso de canela a 15%, quitosana a 4%, extrato aquoso de cravo-da-índia a 15% + quitosana a 4%, extrato aquoso de canela a 15% + quitosana a 4%, fungicida Procloraz e testemunha, dos fatores dias, tratamentos, dias x tratamentos. Dourados – MS, 2015.

QUADRADOS MÉDIOS	
F.V.	Q.M.
DIAS	77,0103 **
TRAT	225,1202 **
DIAS * TRAT	10,2462 **
CV %	43,115
MÉDIA GERAL	2,526

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

QUADRO 2. Resumo do quadro de análise de variância para o experimento que avaliou o diâmetro médio de colônias (cm) de *C. gloeosporioides* Penz, *in vitro*, sob diferentes tratamentos: extrato aquoso de canela a 30%, extrato aquoso de gengibre a 20%, extrato aquoso de alho a 20% e testemunha. Dourados – MS, 2015.

QUADRADO MÉDIO	
F.V.	Q.M.
DIAS	132,865
TRAT	544,301
DIA * TRAT	17,4172
CV%	3,773
MÉDIA GERAL	1552,119

QUADRO 3. Resumo do quadro de análise de variância para o experimento que avaliou o diâmetro médio de colônias (cm) de *C. gloeosporioides* Penz, *in vitro*, sob diferentes concentrações de extrato aquoso de cravo-da-índia: 0%, 2,5%, 5,0%, 10%, 15%. Dourados – MS, 2015.

QUADRADOS MÉDIOS	
F.V.	Q.M.
DIAS	51,297 **
CONC	717,83 **
DIA * CONC	11,6602 **
CV%	30,48
MÉDIA GERAL	3,368

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

QUADRO 4. Resumo do quadro de análise de variância para o experimento que avaliou a incidência e severidade da antracnose em frutos de mamão Formosa tratados com: extrato aquoso de cravo-da-índia a 10%, extrato aquoso de canela a 30%, quitosana a 4%, extrato aquoso de cravo-da-índia a 10% + quitosana a 4%, extrato aquoso de canela a 30% + quitosana a 4%, fungicida Procloraz e testemunha. Dourados – MS, 2015.

QUADRADOS MÉDIOS				
F.V.	Q.M.			
	2º DIA	4º DIA	6º DIA	AACPD
TRAT	0,333	1,071	2,238	16,404**
CV%	30,28	30,83	22,05	24,28
MÉDIA GERAL	1,5	2,14	2,85	8,64

** significativo ao nível de 1% de probabilidade